



HAL
open science

Synthèse d'un podocarpane fonctionnalisé et préparation d'hétéroquinones pour l'inhibition de phosphatases et de réductases

Tatiana Besset

► To cite this version:

Tatiana Besset. Synthèse d'un podocarpane fonctionnalisé et préparation d'hétéroquinones pour l'inhibition de phosphatases et de réductases. Chimie. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2009. Français. NNT: . tel-00426773

HAL Id: tel-00426773

<https://theses.hal.science/tel-00426773>

Submitted on 27 Oct 2009

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

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

Université Joseph Fourier - Grenoble 1

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement par

Tatiana BESSET

pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER
GRENOBLE 1**

Spécialité : CHIMIE ORGANIQUE

**SYNTHÈSE D'UN PODOCARPANE FONCTIONNALISÉ
ET PRÉPARATION D'HÉTÉROQUINONES
POUR L'INHIBITION DE PHOSPHATASES
ET DE RÉDUCTASES**

Soutenue le 14 Octobre 2009 devant la commission d'examen composée de

Dr. Philippe BELMONT
Pr. Pascal NEBOIS
Pr. Julian GARCIA
Dr. Christophe MORIN

Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Directeur de thèse

Thèse préparée au sein du DCM
Département de Chimie Moléculaire- Équipe SERCO

Remerciements

Tout d'abord, je souhaiterais remercier chaleureusement les membres du jury, le Dr. Philippe Belmont et les Pr. Pascal Nebois et Julian Garcia pour avoir accepté de juger mon travail de thèse.

Je tiens également à remercier mon directeur de thèse, le Dr. Christophe Morin, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire et pour m'avoir encadrée lors de ces trois années.

Je remercie sincèrement le Dr. Andrew E. Greene, directeur de l'équipe SERCO, pour m'avoir donné l'opportunité de travailler dans son laboratoire. Je le remercie pour tout le soutien, la disponibilité et l'écoute dont il a fait preuve à mon égard ainsi que pour nos nombreuses discussions.

Je poursuivrais par remercier les personnes avec qui j'ai travaillé au cours de ces trois ans dans une bonne ambiance et qui sont devenues de véritables amis. Je pense tout d'abord à Léo X. Alvarez-Galan, qui a joué le rôle de mentor, d'ami et qui m'a soutenu lors des épreuves que j'ai rencontrées. Je n'oublie pas Pierre-Marc qui a été une oreille attentive et d'un grand réconfort ainsi que Martine avec qui j'ai supporté la coupe du monde de rugby et qui m'a également soutenue et en particulier qui a toujours fait preuve d'une grande solidarité féminine !

Je tiens à remercier tous les membres de l'équipe MHUST, BIATOS et SERCO en particulier Bernardo, Jean-François, Fréd, Didier, Damien, Anne, Jean-Noël, Cathy, Jacques, Hélène, Marie-Louise, Carlos, Marie-Jeanne, Eliane, Jean-Pierre, Michel pour leur soutien d'un point de vue scientifique et humain et sans qui cette aventure n'aurait pas été la même.

Je n'oublie pas Emilie, Jérôme et Julie qui ont été de véritables compagnons de route tout au long de ces trois ans et aussi Marie-Laure, Olga et Pierre pour leur soutien et pour les moments que l'on a partagé. Enfin, je tiens à remercier tous les autres thésards et post-docs de l'équipe SERCO, tout particulièrement Anu, les Julien, Maryse et nos docteurs Darses et Berini...

Avant de finir je voudrais aussi remercier Marie qui, bien plus qu'un binôme (fête de la science), est une véritable amie qui a su répondre présent dans les moments difficiles mais

aussi de joie. Nos discussions dans les couloirs vont me manquer...Je n'oublie pas Bibi qui a su répondre présent et être là pour moi. Merci également à notre nouveau MdC, Sébastien, mon fournisseur officiel de publis (62 !), pour ton aide, ton écoute et les moments sympas que l'on a partagé.

Enfin, je souhaiterais remercier ma famille et mes amis pour le réconfort qu'ils m'ont apporté et pour m'avoir supportée...

Merci à tous !!!

TABLE DES MATIERES

Abréviations	i
Avant-propos	v

CHAPITRE 1 : Rappels bibliographiques sur les quinones

I. Les Quinones

I.1 Généralités	3
I.2 Propriétés	5

II. Synthèse des quinones

II.1 Biosynthèse	7
II.2 Synthèse	8
II.2.a Méthodes d'oxydation	8
II.2.b Méthodes par cyclisation	12

III. Réactivité des quinones

III.1 Agents d'oxydation	16
III.2 Réactions d'addition	17
III.3 Réactions de substitution	24

IV. Activités biologiques

IV.1 Modes d'action	26
IV.1.a Réactions rédox	27
IV.1.b Accepteurs de Michaël	28
IV.2 Activités biologiques : quelques exemples	28
IV.2.a Les quinones	29
IV.2.b Les terpénylquinones	30
IV.2.c Les hétéroquinones	31

V. Objectifs	32
---------------------	-----------

CHAPITRE 2 : Synthèse d'un podocarpane fonctionnalisé, vers la synthèse du célyphanol A.

I. Introduction sur les quinones terpéniques

I.1 Généralités	37
I.2 Présentation du célyphanol A	39
I.2.a Le célyphanol A	39
I.2.b Les podocarpanes	41
I.2.c Synthèse du célyphanol A	45

II. Travaux réalisés

II.1 Larixol : généralités et travaux antérieurs	48
--	----

II.2 Rétrosynthèse	51
II.3 Construction du cycle C par aldolisation	52
II.3.a Première approche	52
II.3.b Modification de la stratégie de synthèse	61
II.4 Construction du cycle C par métathèse	68
II.4.a Préparation de l'intermédiaire tricyclique 17a	69
II.4.b Optimisation de l'accès au podocarpane	77
II.4.c Fonctionnalisation du dérivé tricyclique 17a	81
III. Conclusions et perspectives	86

CHAPITRE 3 : Préparation d'hétéroquinones pour l'inhibition de phosphatases et de réductases.

I. Les hétéroquinones

I.1 Généralités	91
I.2 Activités biologiques	92

II. Synthèse d'hétéroquinones inhibitrices des phosphatases CDC25

II.1 Généralités sur les phosphatases CDC25	94
II.2 Les inhibiteurs des phosphatases CDC25	95
II.3 Travaux préliminaires : choix du substituant thioalkylé	101
II.3.a Rappels bibliographiques sur la thioalkylation des quinones	102
II.3.b Préparation des 5,8-quinolinequinones dithioalkylées	103
II.4 Préparation de bis-(1-méthoxycarbonylméthylthio)hétéroquinones	110
II.4.a Préparation de la 6,7-bis(1-méthoxycarbonylméthylthio)-5,8-quinoléinequinone 93	111
II.4.b Préparation de la 6,7-bis(1-méthoxycarbonylméthylthio)-5,8-phthalazinequinone 98	113
II.4.c Préparation de la 5,6-bis(1-méthoxycarbonylméthylthio)-4,7-benzoxazolequinone 101	116
II.4.d Préparation de la 6,7-bis(1-méthoxycarbonylméthylthio)-5,8-quinoxalinequinone 107	118
II.4.e Préparation de la 5,6-bis(1-méthoxycarbonylméthylthio)-4,7-benzo[b]thiophènequinone 118	125
II.4.f Préparation de la 6,7-bis(1-méthoxycarbonylméthylthio)-5,8-quinazolinequinone 121	128
II.4.g Préparation de la 5,6-bis(1-méthoxycarbonylméthylthio)-4,7-indolequinone 128 et de la <i>N</i> -méthyl-5,6-bis(1-méthoxycarbonylméthylthio)-4,7-indolequinone 129	132
II.4.g Préparation de la 5,6-bis(1-méthoxycarbonylméthylthio)-4,7-benzothiazolequinone 131	136
II.5 Conclusion	139

III. Synthèse d'hétéroquinones inhibitrices des glutathiones réductases et de thiorédoxines réductases

III.1 Généralités sur les glutathiones réductases et thiorédoxines réductases	140
III.2 Les inhibiteurs des glutathiones réductases et thiorédoxines réductases	141
III.3 Travaux préliminaires	
III.3.a Préparation des dérivés en série quinoléinequinone	143
III.3.b Préparation des dérivés en série quinoxalinequinone	147
III.3.c Evaluation biologique : choix de la molécule cible	148
III.4 Vers une terpénylquinoxalinequinone	149
III.4.a Préparation de l'aminométhylquinoxaline 149	151
III.4.b Etape de couplage	154
III.5 Conclusion	155

Conclusions et Perspectives.

I. En série terpénique	159
II. En série hétéroquinone	160

Experimental Section.

I. General Remarks	165
II. Synthesis of compounds described in chapter 2	166
III. Synthesis of compounds described in chapter 3	178

Annexes.

Structures des molécules du chapitre 2	208
Structures des molécules du chapitre 3	210
Publications	215

Abréviations

Ac	acétyle
APP	acide polyphosphorique
APTS	acide <i>para</i> -toluènesulfonique
aq.	aqueuse
Ar	aryle
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyle
Bn	benzyle
Bu	butyle
Bz	benzoyle
CAN	nitrate d'ammonium et de cérium
cat.	catalytique
CCM	chromatographie sur couche mince
CDC25	cell division cycle 25
CH ₂ Cl ₂	dichlorométhane
coll.	collaborateurs
Cys	cystéine
d	doublet
Δ	chauffage
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène
DCC	dicyclohexylcarbodiimide
DCI	ionisation par désorption chimique
DCI	diisopropylcarbodiimide
dd	doublet de doublet
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone
DMAP	4-diméthylaminopyridine
DMDO	diméthylldioxirane
DMF	diméthylformamide
DMSO	diméthylsulfoxyde
ED50	dose efficace nécessaire pour produire un effet thérapeutique de 50% sur l'échantillon testé
EDAC	chlorhydrate du <i>N</i> -(3-Diméthylaminopropyl)- <i>N'</i> -éthylcarbodiimide
éq. ou eq.	équivalents
ESH	électrode standard à hydrogène
ESI	ionisation par electrospray
Et	éthyle
g	grammes
GR	glutathione réductase

h	heure
h ν	irradiation lumineuse
HMPT	hexaméthylphosphoramide (HMPA engl.)
HRMS	spectrométrie de masse haute résolution
Hz	hertz
IBX	acide <i>o</i> -iodosobenzoïque
IR	infra-rouge
IC50	concentration pour 50% d'inhibition
<i>J</i>	constante de couplage en Hertz (Hz)
jrs	jours
LDA	diisopropylamidure de lithium
m	multiplet ou massif
<i>m</i>	méta
M	molarité
m-CPBA	acide <i>méta</i> -chloroperbenzoïque
Me	méthyle
MIC50	concentration inhibitrice minimale pour inhiber la croissance des organismes de 50%
min	minutes
m.p.	melting point
N	normalité
NaHMDS	hexaméthylidisilazidure de sodium
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
NMO	<i>N</i> -méthylmorpholine <i>N</i> -oxyde
NOESY	nuclear overhauser effect spectroscopy
Nu	nucléophile
<i>o</i>	<i>ortho</i>
<i>p</i>	<i>para</i>
PCC	pyridinium chlorochromate
Ph	phényle
PIFA	iodosobenzène bis(trifluoroacétate)
PPh ₃	triphényle phosphine
ppm	partie par million
Pr	propyle
Py	pyridine
q	quadruplet
Rdt.	rendement
RMN	résonance magnétique nucléaire
ROS	espèces oxygénées réactives
r.t.	room temperature
t	triplet
t.a.	température ambiante

TBAF	fluorure de tétrabutylammonium
TBAT	difluorotriphénylsilicate de tétrabutylammonium
TBHP	hydroperoxyde de <i>tert</i> -butyle
td	triplet dédoublé
TEA	triéthylamine
Temp.	température
TES	triéthylsilyle
TFA	acide trifluoroacétique
THF	tétrahydrofurane
TLC	thin layer chromatography
TMEDA	tétraméthyléthylènediamine
TMS	tétraméthylsilane
TR	thiorédoxine réductase
Ts	tosyle
δ	déplacement chimique en ppm

Avant-propos

Depuis longtemps, l'Homme a su trouver dans la nature, et en particulier dans les plantes, un moyen de lutter contre les maladies. Même si cette pratique fait encore partie des traditions dans certaines cultures, ce savoir-faire, qui revêtait au départ un caractère plutôt mystique a, petit à petit, été rationalisé au gré de l'avancement de la Science. De nos jours, nous savons que les propriétés médicinales des plantes sont essentiellement dues à la présence de certaines molécules bioactives produites par leur métabolisme. Généralement, elles sont isolées de plantes ou de microorganismes comme les champignons ou les bactéries. Par ailleurs, il est possible de les identifier et de les caractériser par des techniques considérées aujourd'hui comme courantes (RMN, spectrométrie de masse, rayons X, etc...). Toutefois, bien que la nature puisse être considérée comme une source diversifiée de molécules, la biodisponibilité de ces composés ainsi que les faibles rendements d'extraction généralement observés constituent d'importantes limitations. C'est pourquoi il peut être intéressant de les obtenir par synthèse chimique. Néanmoins, certains composés ont une complexité structurale qui représente un véritable défi synthétique et nécessite parfois des années de travail. A titre d'exemple, on peut citer la Vancomycine, un puissant antibiotique isolé de *Streptomyces orientallis* en 1956, pour lequel il a fallu attendre 44 ans avant que la première synthèse totale ne soit rapportée.

Les produits naturels présentent une grande variété structurale et ont également des activités très diverses. Parmi les différentes classes de composés, on trouve les quinones. Ces dernières se sont révélées avoir un large panel d'activités pharmacologiques et nous avons choisi de nous intéresser en particulier à leurs propriétés anticancéreuses et antibactériennes. Ce choix se justifie par le nombre important de souches bactériennes présentant des résistances aux médicaments existants.

Dans cette famille de composés, nous nous sommes focalisés spécialement sur les terpénylquinones et les hétéroquinones. Parmi les quinones terpéniques, on peut trouver des terpènes naturels possédant une quinone au sein même de leur squelette et

des dérivés substitués par une quinone. Notre laboratoire ayant une certaine expérience dans la chimie des terpènes, nous avons étudié la synthèse d'une terpénylquinone naturelle, le célyphanol A. Nous avons aussi envisagé le couplage entre un terpène et une hétéroquinone possédant une activité antipaludique. Parallèlement, nous nous sommes penchés sur la préparation de différentes familles d'hétéroquinones, substituées par une chaîne thioalkyle, afin d'évaluer leur activité en tant qu'agents anticancéreux.

Avant d'exposer les résultats obtenus, une introduction bibliographique sur les quinones sera présentée. Puis les travaux relatifs à la préparation du célyphanol A seront rapportés. Enfin, le dernier chapitre sera consacré à la synthèse des hétéroquinones et au couplage de l'une d'entre elles avec un dérivé terpénique.

Chapitre 1

Rappels bibliographiques

sur les quinones

I. Les Quinones

Les quinones constituent une classe chimique à part entière en raison de leurs propriétés physiques, chimiques et pharmacologiques. Elles sont décrites dans de nombreux ouvrages et cette introduction a pour but de les présenter succinctement. Après avoir précisé quelques-unes de leurs propriétés, les principales méthodes de synthèse des quinones et des données concernant leur réactivité seront exposées. Puis leurs activités biologiques seront soulignées au travers de quelques exemples représentatifs.

I.1. Généralités

Les quinones se caractérisent structuralement par la présence de deux groupements carbonyles faisant partie d'un système conjugué cyclique. On peut distinguer deux structures de base : les *para*-benzoquinones et les *ortho*-benzoquinones (Figure 1-1) qui peuvent également se trouver au sein de systèmes polycycliques (naphtoquinones, anthraquinones, phénanthrènequinones, etc...).

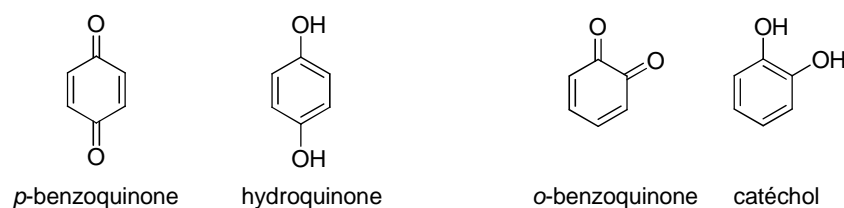


Figure 1-1: Structure de quinones et d'hydroquinones de base

Il existe aussi des quinones qui possèdent une structure cyclique non benzénique comme la fulvamixène-1,4-quinone, dérivé de type cyclopentènequinone (Figure 1-2).¹

¹ Turney, T. A. Non-benzenoid quinones. In *The chemistry of the quinonoid compounds*, part 2; Patai S., Ed.; VCH-Wiley: London, 1974; 758-859, 868.

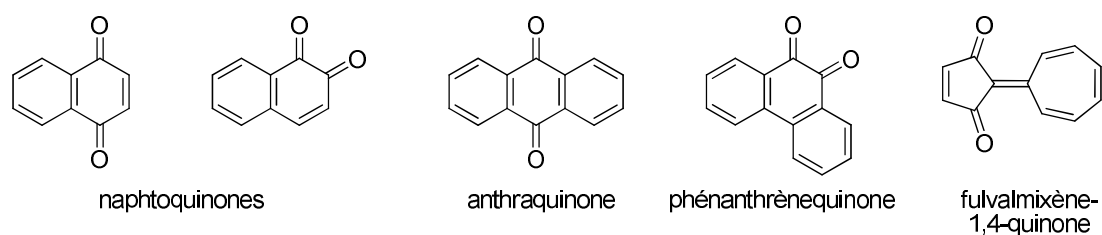


Figure 1-2 : Structures de quinones plus complexes

De façon générale, ces quinones (ou leurs formes réduites appelées hydroquinones) sont largement distribuées dans la nature et sont isolées d'organismes très variés (plantes, bactéries, champignons, insectes, organismes marins, etc...).

L'ubiquinone (coenzyme Q) et les vitamines K, dont la ménaquinone (vitamine K₂), sont deux exemples de quinones représentatives qui jouent un rôle majeur : acteur dans le transport d'électrons au sein des mitochondries^{2,3} pour la première et agent de coagulation⁴ pour la seconde (Figure 1-3).

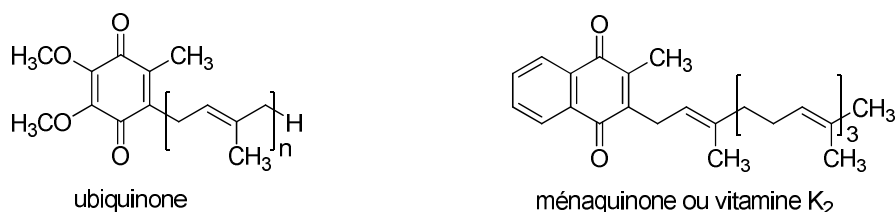


Figure 1-3: Structures de la coenzyme Q et de la ménaquinone

D'autres exemples illustrant la diversité structurale de quinones isolées de sources naturelles sont montrés dans la Figure 1-4.

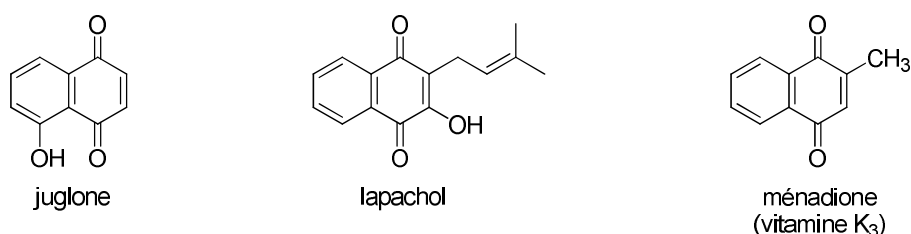


Figure 1-4 : Quelques exemples de quinones naturelles

² Trumpower, B. L. *J. Bioenerg. Biomembr.* **1981**, *13*, 1-24.

³ Bentley, R.; Campbell, I. M. Biological reactions of quinones. In *The chemistry of the quinonoid compounds*, part 2; Patai S., Ed.; VCH-Wiley: London, **1974**; 716-730.

⁴ Merli, G. J.; Fink, J. *Vitamins and Hormones* **2008**, *78*, 265-279.

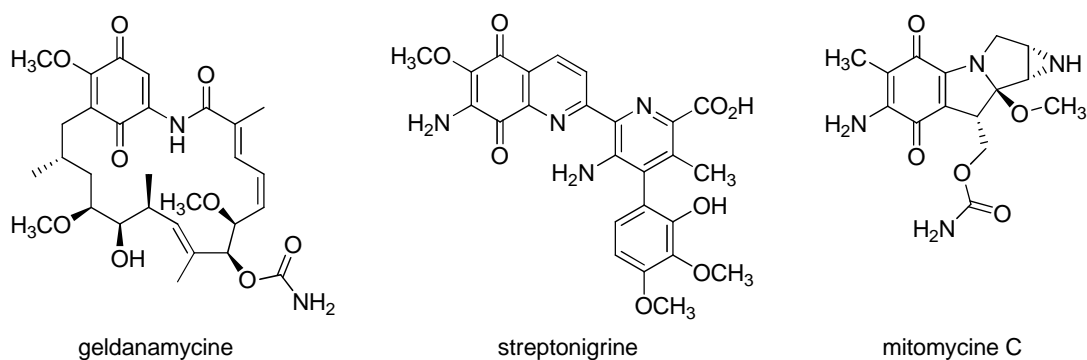


Figure 1-4 (continuation) : Quelques exemples de quinones naturelles

Au sein de cette diversité, on trouve deux classes particulières: les quinones terpéniques, comme la vitamine K₁ ou l'avarone, et les hétéroquinones caractérisées par une quinone accolée à un squelette hétéroaromatique, telle que l'indoloquinone (Figure 1-5). Ces familles seront présentées dans les chapitres 2 et 3 respectivement.

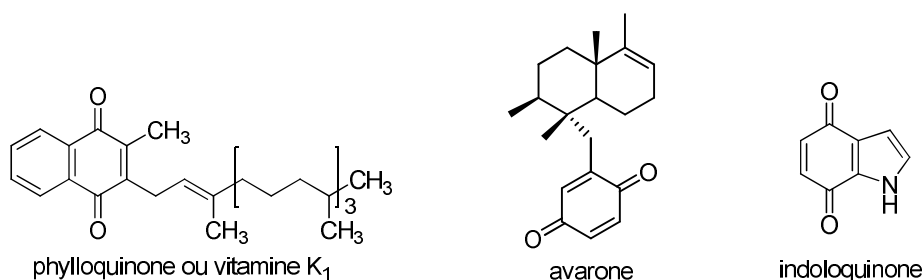


Figure 1-5 : Exemples de structures de quinones terpéniques et d'hétéroquinone

I.2. Propriétés

Les quinones sont caractérisées par un potentiel rédox qui traduit leur aptitude à être réduites en hydroquinones correspondantes (Figure 1-6).

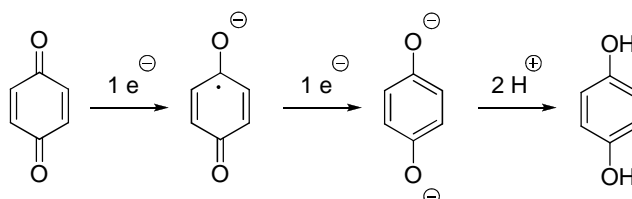


Figure 1-6 : Réduction des *p*-quinones⁵

⁵ Morton, R. A. Introductory Account of Quinones. In *Biochemistry of quinones*; Morton R. A.; Academic Press: London, 1965; 1-21.

Les quinones présentent des potentiels rédox de valeurs variées.⁶ Par exemple, la benz[*a*]anthracène-7,12-dione a un potentiel rédox de 228 mV alors que celui de la diphénoquinone est de 954 mV (valeurs données par rapport à l'électrode standard à hydrogène ou ESH)⁷ (Figure 1-7).

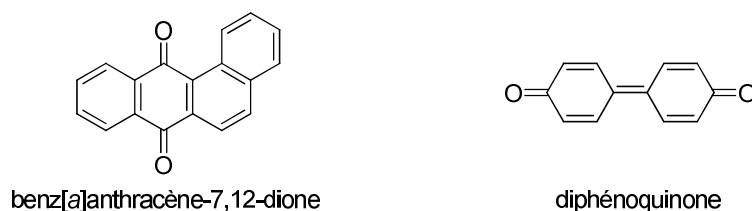


Figure 1-7 : Structures de la benz[*a*]anthracène-7,12-dione et de la diphénoquinone

Ces potentiels rédox leur confèrent une activité en tant qu'agent d'oxydation, comme c'est le cas pour la 1,4-benzoquinone dont le potentiel rédox est de 715 mV (vs ESH). De plus, la réaction rédox quinone/hydroquinone constitue un des éléments de la chaîne de transport des électrons dans la photosynthèse des cellules eucaryotes et procaryotes ainsi que dans la respiration de ces dernières.³

La structure des quinones, et notamment la présence d'un système π conjugué, induit une distribution des charges sur le système quinonique, comme indiqué dans la Figure 1-8.⁸

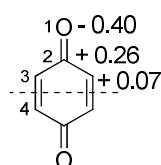


Figure 1-8 : Distribution des charges effectives sur la *p*-benzoquinone

Les quinones peuvent subir une attaque nucléophile en 1,2 ou en 1,4, une espèce nucléophile dure s'additionnant préférentiellement en position 2 et un

⁶ Gleicher, G. J. Theoretical and general aspects. In *The chemistry of the quinonoid compounds*, part 1; Patai S., Ed.; VCH-Wiley: London, **1974**; 17-21.

⁷ Fieser, L. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1930**, 52, 4915-4940.

⁸ Wagner, H.-U.; Gompper, R. Quinone methides. In *The chemistry of the quinonoid compounds*, part 2; Patai S., Ed.; VCH-Wiley: London, **1974**; 1148-1149.

nucléophile mou s'additionnant plutôt en position 4. Ce point sera repris dans la section III.2.

II. Synthèse des quinones

II.1. Biosynthèse

La biosynthèse des quinones a fait l'objet de nombreux travaux.⁹ A titre d'exemple, une voie de biosynthèse a été proposée pour expliquer la formation de la benzo[*b*]thiophène-4,7-dione, intermédiaire de la biosynthèse de la caldariellaquinone à partir de la tyrosine (Schéma 1-1).¹⁰

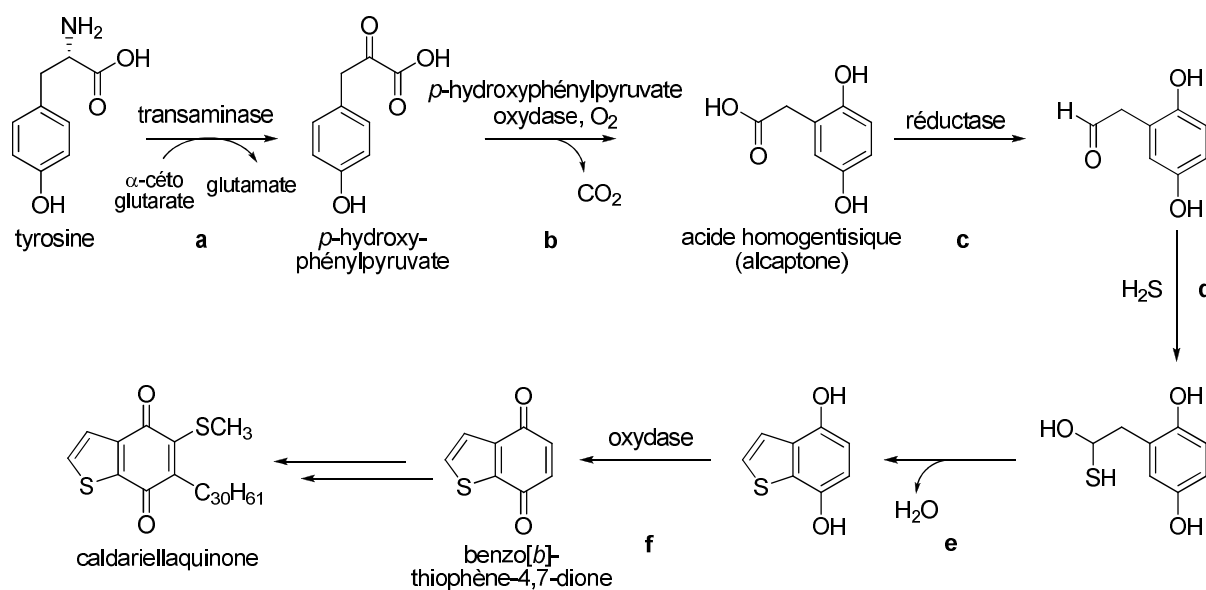


Schéma 1-1

Après transamination¹¹ de la tyrosine (Schéma 1-1, étape a), l'hydroxyphénylpyruvate résultant est métabolisé en acide homogentisique par action de la

⁹ Pour quelques exemples, regarder: a) Snyder, C. D.; Rapoport, H. *Biochemistry* **1970**, *9*, 2033-2038. b) Bentley, R.; Meganathan, R. *Microbiol. Rev.* **1982**, *46*, 241-280. c) Olson, R. E.; Rudney, H. *Vitamins and Hormones* **1983**, *40*, 1-43. d) Van den Berg, A. J. *J. Pharm. World Sci.* **1991**, *13*, 74-77.

¹⁰ Zhou, D.; White, R. H. *J. Bacteriol.* **1989**, *171*, 6610-6616.

¹¹ Pour un mécanisme de cette transformation, voir: Balibar, C. J.; Howard-Jones, A. R.; Walsh, C. T. *Nat. Chem. Biol.* **2007**, *3*, 584-592.

p-hydroxyphénylpyruvate oxydase en présence d'oxygène moléculaire (étape b). L'acide est alors transformé en aldéhyde par action d'une réductase (étape c), puis en thioacétal après addition d'acide sulfhydrique (étape d). Cet intermédiaire est ensuite cyclisé pour conduire, après déshydratation, au benzo[*b*]thiophène-4,7-hydroquinone (étape e) qui est alors oxydée en la quinone correspondante¹² (étape f).

II.2. Synthèse

La synthèse des quinones a été largement étudiée.^{13,14,15,16} Il existe de manière générale diverses méthodes telles que l'oxydation de phénols ou d'amines aromatiques, des déalkylations oxydantes de dérivés de type 1,4-diméthoxybenzènes et des méthodes de cyclisation comme la condensation benzoïne, la cycloaddition [4+2] ou la cyclotrimérisation [2+2+2] de cétones propargyliques avec des alcynes.

II.2.a. Méthodes d'oxydation¹⁷

Les quinones peuvent être préparées à partir de composés aromatiques hydrocarbonés, de phénols, d'amines aromatiques ou de systèmes aromatiques disubstitués (diphénols, diamines, aminophénols et dialkoxybenzènes). Le choix de la méthode utilisée repose en tout premier lieu sur la nature des précurseurs disponibles (Schéma 1-2).

¹² Cette hétéroquinone a d'ailleurs été utilisée pour les travaux qui seront exposés en rapport avec l'inhibition des phosphatases (voir chapitre III).

¹³ Owton, W. M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **1999**, 2409-2420.

¹⁴ Tsizin, Y. S. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1978**, *14*, 925-940.

¹⁵ Baxter, I.; Davis, B. A. *Quart. Rev.* **1971**, *2*, 239-263.

¹⁶ Gallagher, P. T. *Contemp. Org. Synth.* **1996**, *3*, 433-446.

¹⁷ Thomson, R. H. *Synthesis*. In *The chemistry of the quinonoid compounds*, part 1; Patai S., Ed.; VCH-Wiley: London, **1974**; 112-135.

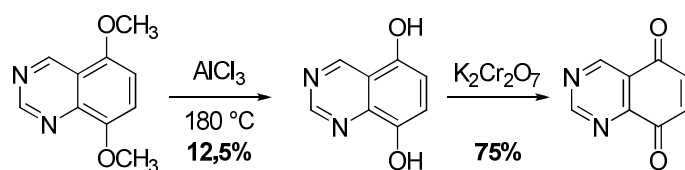


Schéma 1-4

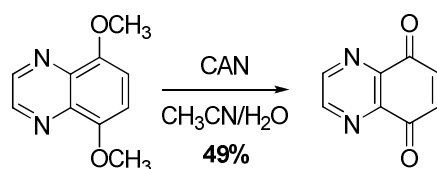


Schéma 1-5

Les phénols (Schéma 1-6) ou hydroquinones (Schéma 1-7) peuvent être oxydés par le tétraacétate de plomb (Pb(OAc)₄), l'acide chromique, l'iodosobenzène bis(trifluoroacétate) (PIFA)²⁸ ou plus couramment par le nitrosodisulfonate de potassium (sel de Frémy).^{15, 29,30}

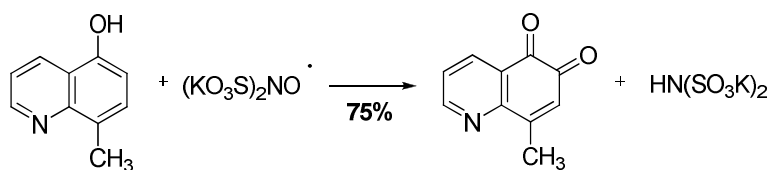


Schéma 1-6

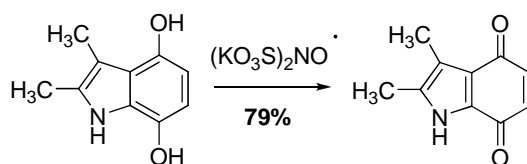


Schéma 1-7

En outre, il est possible d'oxyder les phénols par l'oxygène moléculaire en présence d'un catalyseur de type complexe Co-salen,^{31,32} ou par un mélange de sels de manganèse et de cobalt de l'acide *p*-aminobenzoïque, adsorbé sur gel de silice.³³

²⁸ Barret, R.; Daudon, M. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 4871-4872.

²⁹ Pour une revue sur le sel de Frémy : Zimmer, H.; Lankin, D. C.; Horgan, S. W. *Chem. Rev.* **1971**, 71, 229-246.

³⁰ Blackhall, A.; Thomson, R. H. *J. Chem. Soc.* **1954**, 3916-3919.

³¹ Uliana, M. P.; Vieira, Y. W.; Donatoni, M. C.; Corrêa, A. G.; Brocksom, U.; Brocksom, T. J. *J. Braz. Chem. Soc.* **2008**, 19, 1484-1489.

³² Bovicelli, P.; Antonioletti, R.; Barontini, M.; Borioni, G.; Bernini, R.; Mincione, E. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 1255-1257.

³³ Hashemi, M. M.; Beni, Y. A. *J. Chem. Res. (S)* **1998**, 138-139.

Les phénols peuvent également être oxydés par le chlorate de sodium (NaClO_3) dans l'acide chlorhydrique concentré ce qui conduit, dans ce cas, à des dichloroquinones. Ces conditions ont aussi permis la préparation de quinones dichlorées à partir d'anilines (Schéma 1-8 et Schéma 1-9).^{34,35}

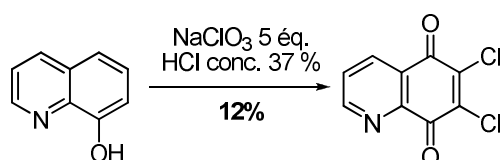


Schéma 1-8

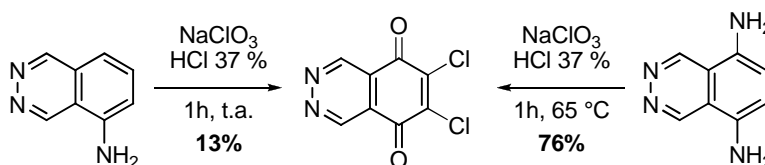


Schéma 1-9

La préparation de quinones peut aussi être effectuée à partir de phénols avec le système peroxyde d'hydrogène/méthyltrioxorhénium (CH_3ReO_3) dans un liquide ionique³⁶ ou encore à l'aide d'hydroperoxyde de *tert*-butyle (TBHP) en présence d'un complexe de ruthénium. Cette oxydation conduit d'abord à une semiquinone qui, après traitement par un acide de Lewis comme le tétrachlorure de titane, est à nouveau oxydée, la quinone formée résultant de la migration du groupement R (Schéma 1-10).³⁷ Cette oxydation de phénols par le TBHP peut aussi être catalysée par des complexes de vanadium supportés sur polymères³⁸ ou réalisée sous irradiation micro-ondes.³⁹

³⁴ Shaikh, I. A.; Johnson, F.; Grollman, A. P. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 1329-1340.

³⁵ Ryu, C.-K.; Park, R.-E.; Ma, M.-Y.; Nho, J.-H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2577-2580.

³⁶ Bernini, R.; Mincione, E.; Barontini, M.; Fabrizi, G.; Pasqualetti, M.; Tempesta, S. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 7733-7737.

³⁷ Murahashi, S.-I.; Naota, T.; Miyaguchi, N.; Noda, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2509-2510.

³⁸ Suresh, S.; Skaria, S.; Ponrathnam, S. *Synth. Commun.* **1996**, *26*, 2113-2117.

³⁹ Jacob, A. M.; Moody, C. J. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 8823-8825.

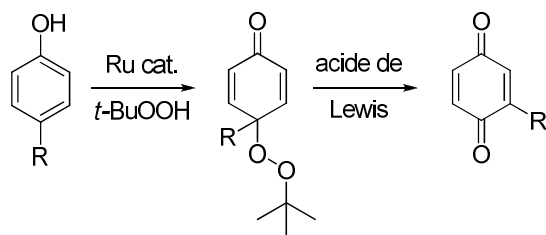


Schéma 1-10

Par ailleurs, certains hydrocarbures aromatiques peuvent être directement convertis en quinones par traitement avec un oxydant fort tel que l'acide nitrique (HNO_3), l'acide periodique (HIO_4), le chlorate de sodium (NaClO_3), l'oxyde argentique (AgO), le permanganate de bis(pyridine)argent (I) adsorbé sur silice ($\text{SiO}_2/\text{Ag(Py)}_2\text{MnO}_4$)⁴⁰ ou encore l'anhydride chromique (Schéma 1-11).⁴¹

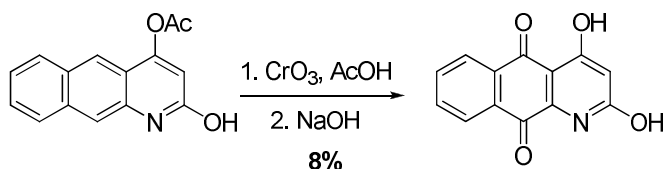


Schéma 1-11

II.2.b. Méthodes par cyclisation⁴²

Une autre approche pour la synthèse de quinones consiste en la cyclisation inter ou intramoléculaire de précurseurs appropriés. Par exemple, les anthraquinones peuvent être préparées par réaction de type Friedel-Crafts intramoléculaire d'un acide *ortho*-benzoylbenzoïque (Schéma 1-12).

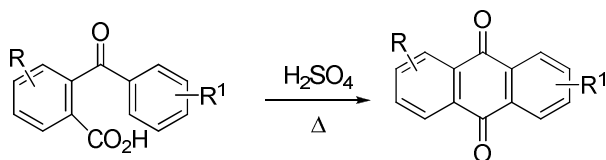


Schéma 1-12

⁴⁰ Kesenheimer, C.; Groth, U. *Org. Lett.* **2006**, 8, 2507-2510.

⁴¹ Schofield, K.; Wright, D. E. *J. Chem. Soc.* **1965**, 6074-6076.

⁴² Thomson, R. H. Synthesis. In *The chemistry of the quinonoid compounds*, part 1; Patai S., Ed.; VCH-Wiley: London, **1974**; 136-161.

Une autre méthodologie repose sur l'utilisation d'*o*-benzoylphénylacétonitriles portant un groupement méthoxyle adjacent au carbonyle, approche qui présente l'avantage d'éviter de travailler en milieu acide fort. La réaction est en effet menée en milieu basique et conduit à un dérivé anthranol qui est ensuite oxydé en anthraquinone (Schéma 1-13).

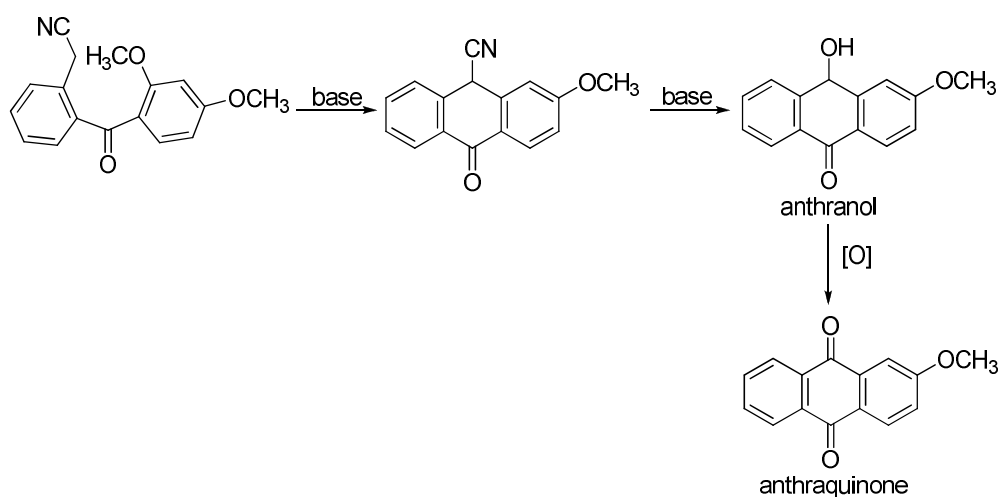


Schéma 1-13

La construction de quinones polycycliques peut également résulter d'une réaction de Scholl (Schéma 1-14) ou d'une condensation entre l'anhydride phthalique ou l'un de ses dérivés⁴³ avec une pyranone (Schéma 1-15). Une limitation de cette dernière méthode est l'obtention de plusieurs régioisomères dans le cas où les deux partenaires sont dissymétriques.

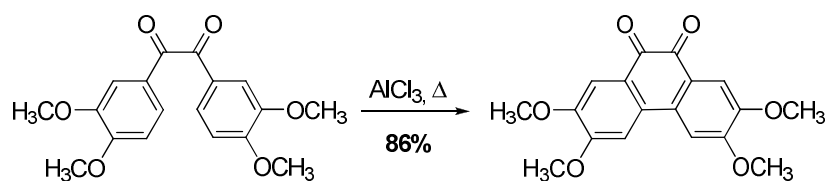
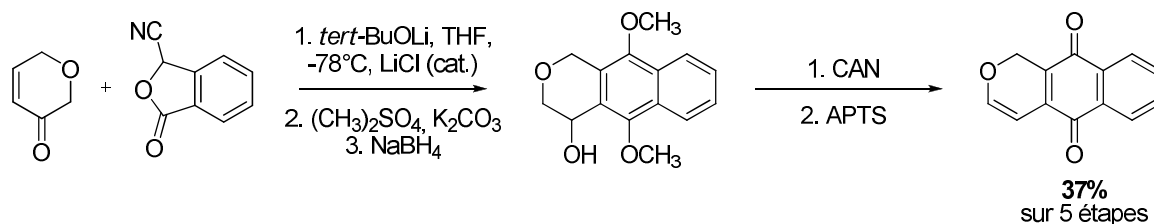


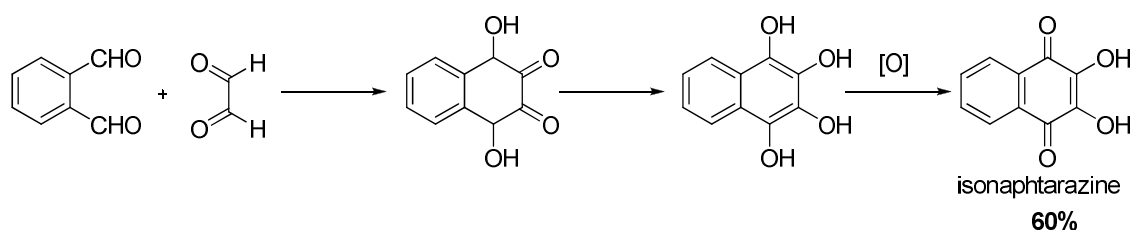
Schéma 1-14

⁴³ Mal, D.; Pahari, P. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 1892-1918.

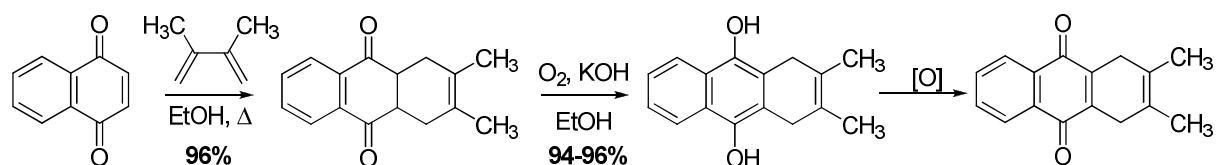
Synthèse des quinones



Une alternative à la préparation de ce type de quinones consiste en une condensation benzoïne entre deux dialdéhydes. Par exemple, l'isonaphtarazine peut être préparée avec un rendement global de 60% par réaction du phthalaldéhyde avec le glyoxal (Schéma 1-16).



Les cycloadditions [4+2] constituent aussi une voie importante pour la préparation de 1,4-naphtoquinones et d'antraquinones.⁴⁴ Cette approche permet de fixer un cycle benzénique sur une quinone déjà existante. Trois étapes sont généralement nécessaires : addition d'un diène conjugué, aromatisation de l'adduit et oxydation finale (Schéma 1-17).⁴⁵



⁴⁴ González-López, M.; Shaw, J. T. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 164-189.

⁴⁵ Allen, C. F. H.; Bell, A. *Org. Syn.* **1955**, *Coll. Vol. 3*, 310-312.

Il est également possible d'effectuer des réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire ce qui conduit alors à des hétéroquinones en série triazole par exemple (Schéma 1-18).⁴⁶

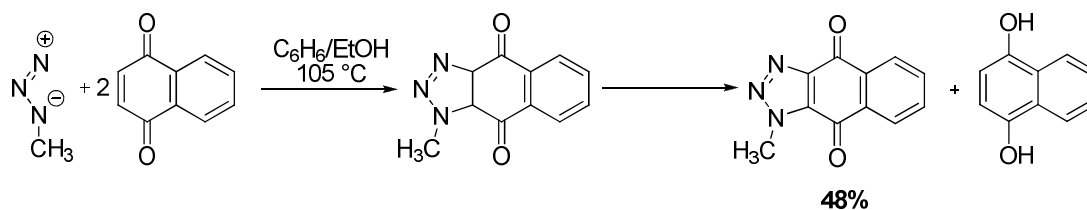


Schéma 1-18

Les anthraquinones et les naphthoquinones⁴⁷ peuvent être préparées par cyclotrimérisation, catalysée au rhodium, de cétones propargyliques avec des alcynes. Ainsi, en présence du catalyseur de Wilkinson ($\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3$), la dicétone conduit à un intermédiaire à cinq chaînons qui, chauffé en présence d'un alcyne, donne une anthraquinone avec un rendement compris entre 30 et 90% (Schéma 1-19).⁴⁸

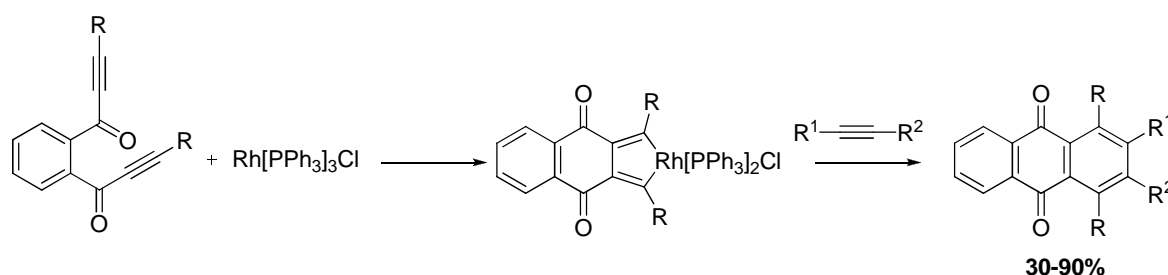


Schéma 1-19

⁴⁶ Fieser, L. F.; Hartwell, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1935**, *57*, 1479-1482.

⁴⁷ Sokolyuk, N. T.; Romanov, V. V.; Pisulina, L. P. *Russ. Chem. Rev.* **1993**, *62*, 1005-1024.

⁴⁸ a) McDonald, F. E.; Zhu, H. Y. H.; Holmquist, C. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 6605-6606. b) Yamamoto, Y.; Hata, K.; Arakawa, T.; Itoh, K. *Chem. Commun.* **2003**, 1290-1291. c) Yamamoto, Y.; Takuma, R.; Hotta, T.; Yamashita, K. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 4324-4328.

III. Réactivité des quinones

En conséquence directe de leur structure et des propriétés qui en découlent, les quinones peuvent être impliquées dans des réactions très différentes. En effet, outre les réactions d'oxydo-réduction, les quinones se prêtent également à des additions et à des substitutions nucléophiles.

III.1. Agents d'oxydation⁴⁹

L'action oxydante des quinones peut être représentée de manière générale par l'équation rédox suivante (Schéma 1-20).

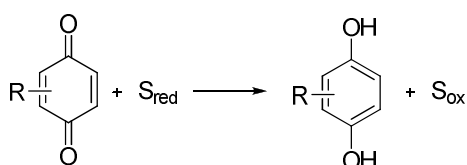


Schéma 1-20

La 1,4-benzoquinone, le chloranile et la 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ) sont les dérivés quinoniques les plus utilisés en synthèse organique en tant qu'agents d'oxydation ou de déshydrogénation (Figure 1-9).

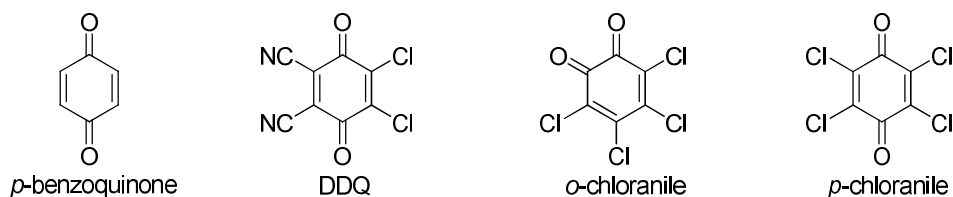


Figure 1-9 : Principaux agents d'oxydation et de déshydrogénation

En effet, ils ont permis l'oxydation d'alcools allyliques ou propargyliques (Schéma 1-21) et la déshydrogénation de composés carbonylés : énones (Schéma 1-22a), dicétones, lactones (Schéma 1-22b), lactames, énols, éthers ou encore esters d'énol.

⁴⁹ Becker, H.-D. Quinones as oxidants and dehydrogenating agents. In *The chemistry of the quinonoid compounds*, part 1; Patai S., Ed.; VCH-Wiley: London, **1974**; 335-423.

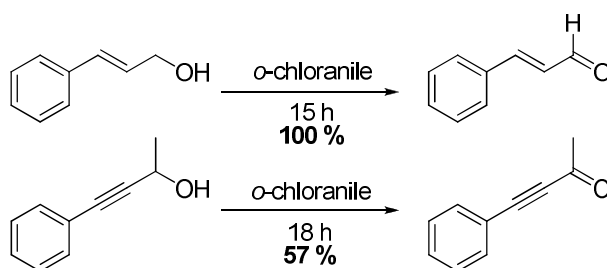


Schéma 1-21

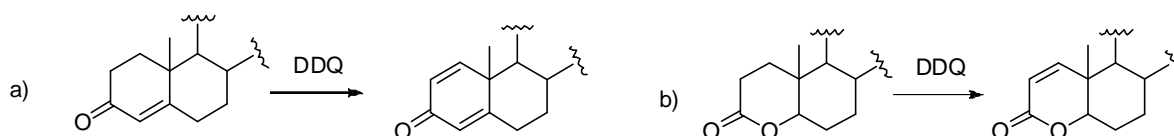


Schéma 1-22

De manière semblable, les 1,4-benzoquinones et les 1,4-naphtoquinones peuvent être utilisées en tant qu'accepteurs d'hydrure dans des oxydations de type Wettstein-Oppenauer.⁵⁰ La quinone et l'alcool à oxyder forment un complexe d'aluminium intermédiaire qui favorise le transfert d'hydrure (Schéma 1-23).

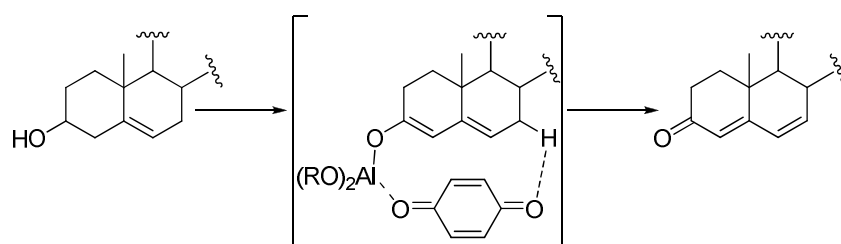


Schéma 1-23

III.2. Réactions d'addition^{51,52}

Un autre aspect de la réactivité des quinones repose sur leur capacité à subir des additions de nucléophiles soufrés comme des acides sulfiniques (RSO_2H) ou des thiols (RSH), aminés ou oxygénés. L'addition-1,4 d'un nucléophile conduit le plus souvent à une hydroquinone. Cette dernière peut ensuite être oxydée par l'air, ou par un oxydant

⁵⁰ Mandell, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 3199-3201.

⁵¹ Finley, K. T. The addition and substitution chemistry of quinones. In *The chemistry of the quinonoid compounds*, part 2; Patai S., Ed.; VCH-Wiley: London, **1974**; 878-1072.

⁵² Kuttyrev, A. A. *Tetrahedron* **1991**, 38, 8043-8065.

qui peut d'ailleurs être la quinone initiale, ce qui mène alors à une quinone substituée (Schéma 1-24).

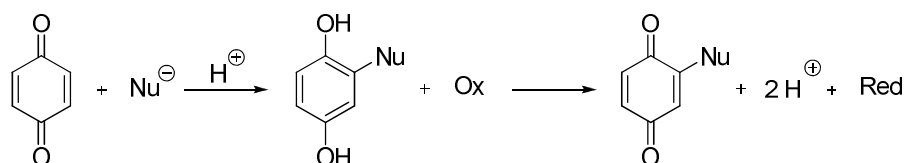


Schéma 1-24

Il est important de remarquer que la stœchiométrie de la quinone de départ et de l'agent nucléophile peut orienter la réaction vers l'obtention de la quinone ou de l'hydroquinone intermédiaire. Par exemple, lorsque la benzoquinone est mise à réagir avec l'acide thiolacétique dans un rapport 1:1 (quinone/nucléophile), seule l'hydroquinone monothioalkylée est obtenue (Figure 1-10a). Par contre, lorsque deux équivalents de quinone sont engagés, le produit obtenu est la quinone monoalkylée, le second équivalent ayant agi comme oxydant (Figure 1-10b).

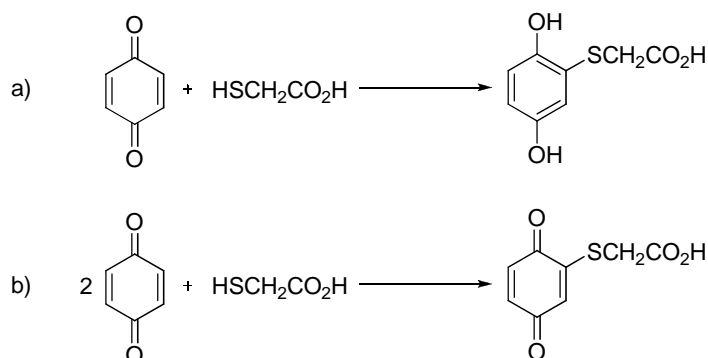


Figure 1-10 : Influence de la stœchiométrie sur la nature du produit final

Cette réactivité particulière rend difficile l'obtention des quinones dialkylés en une seule étape et les produits intermédiaires doivent parfois être réengagés pour obtenir une transformation complète. Ainsi, dans le cadre d'une étude sur la gonyleptidine (secrétion glandulaire d'une araignée ayant une activité antibiotique),⁵³ Fieser et Ardao se sont intéressés à l'addition de l'acide β -thiopropionique sur la 2,3-diméthyl-1,4-benzoquinone.⁵⁴ Il s'avère qu'une addition/oxydation séquentielle a

⁵³ Eisner, T.; Jones, T. H.; Hicks, K.; Silberglied, R. E.; Meinwald, J. J. *Chem. Ecol.* **1977**, 3, 321-329.

⁵⁴ Fieser, L. F.; Ardao, M. I. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 774-781.

été nécessaire pour obtenir la quinone complètement substituée, et ce, avec un faible rendement (Schéma 1-25).

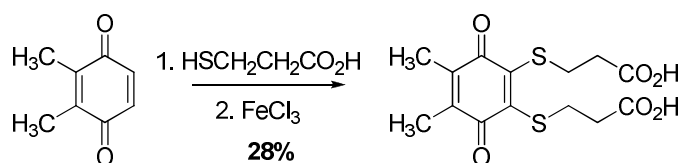


Schéma 1-25

L'addition d'un agent d'oxydation comme le chlorure de fer (III) (FeCl_3) dès le début de la réaction conduit à la formation d'une quinone monothioalkylée (Schéma 1-26).⁵⁵

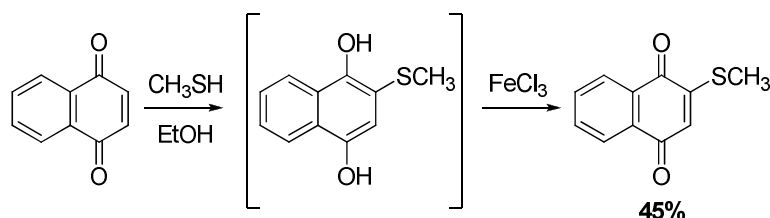


Schéma 1-26

L'ajout de chlorure de cérium (III) (CeCl_3) a permis d'augmenter les rendements ainsi que la régiosélectivité lors de l'addition d'une aniline substituée sur la 5,8-quinoléinequinone (Schéma 1-27a). Dans ce cas, le dérivé aminé en position 6 a été obtenu de façon majoritaire. En effet l'activation de cette position, induite par la présence de l'azote de la quinoléine, est accrue par la chélation du cérium avec les deux hétéroatomes (Schéma 1-27b).

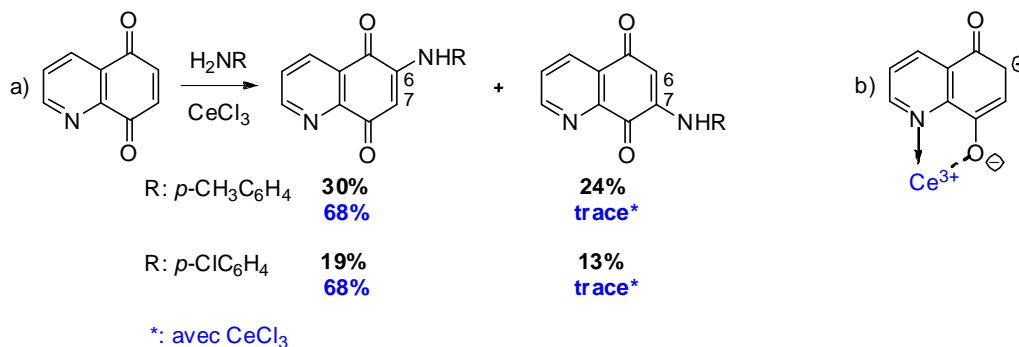


Schéma 1-27

⁵⁵ Little, J. E.; Sproston, T. J.; Foote, M. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, 71, 1124.

Les quinones peuvent être également alkylées (Schéma 1-28a).^{13,56} Dans cet exemple d'allylation, le mécanisme proposé par les auteurs est explicité dans le Schéma 1-28b. Ainsi, l'addition d'un allylsilane conduit à un intermédiaire *O*-silylé qui, après avoir subi un réarrangement sigmatropique [3,3] puis une oxydation *in situ* par FeCl₃, mène à la quinone alkylée.

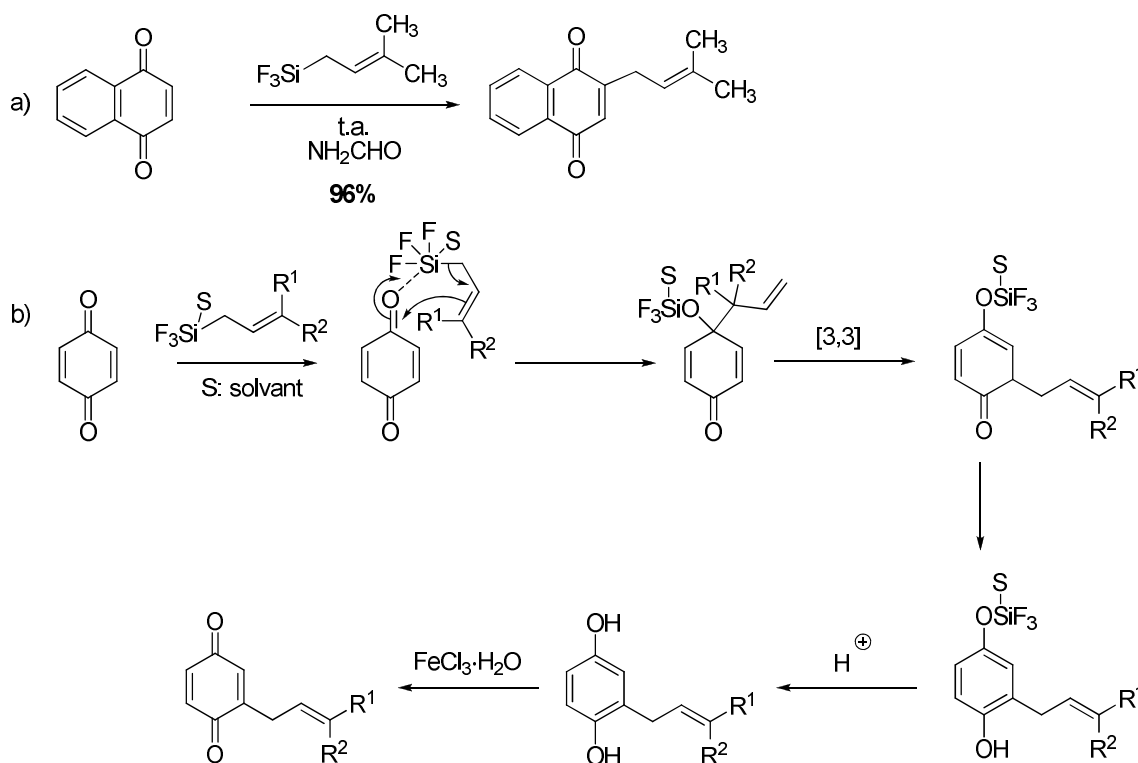
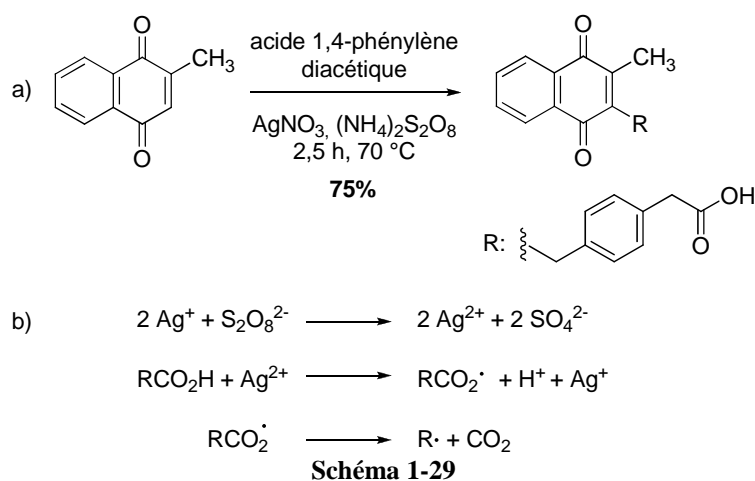


Schéma 1-28

Les quinones peuvent aussi être alkylées (Schéma 1-29a) lors d'une réaction de décarboxylation radicalaire induite par de l'argent (II) préparé *in situ* qui permet de former une espèce radicalaire R· pouvant alors s'ajouter sur la quinone (Schéma 1-29b).⁵⁷

⁵⁶ Hagiwara, E.; Hatanaka, Y.; Gohda, K.-I.; Hiyama, T. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 2773-2776.

⁵⁷ Bauer, H.; Fritz-Wolf, K.; Winzer, A.; Kühner, S.; Little, S.; Yardley, V.; Vezin, H.; Palfey, B.; Schirmer, R. H.; Davioud-Charvet, E. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 10784-10794.



En outre, elles peuvent être chlorées¹³ ou bromées⁵⁸ (Schéma 1-30).

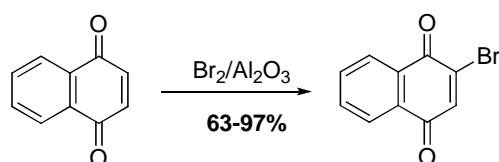


Schéma 1-30

Des additions nucléophiles 1,2 sur les quinones peuvent être aussi observées. Par exemple, elles forment des oximes ou des hydrazones (Schéma 1-31), ou subissent l'addition de phosphines tertiaires en milieu anhydre pour conduire après hydrolyse à un monoalkyléther de l'hydroquinone (Schéma 1-32).⁵⁹ Elles peuvent être également alkylées par action d'un organocadmien (Schéma 1-33).⁶⁰

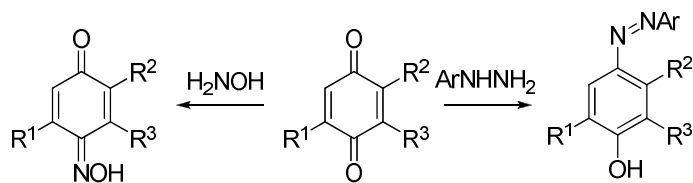


Schéma 1-31

⁵⁸ Bansal, V.; Kanodia, S.; Thapliyal, P. C.; Khanna, R. J. *Synth. Commun.* **1996**, 26, 887-892.

⁵⁹ Ramirez, F.; Dershowitz, S. *J. Org. Chem.* **1958**, 23, 778-779.

⁶⁰ Aponick, A.; McKinley, J. D.; Raber, J. C.; Wigal, C. T. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 2676-2678.

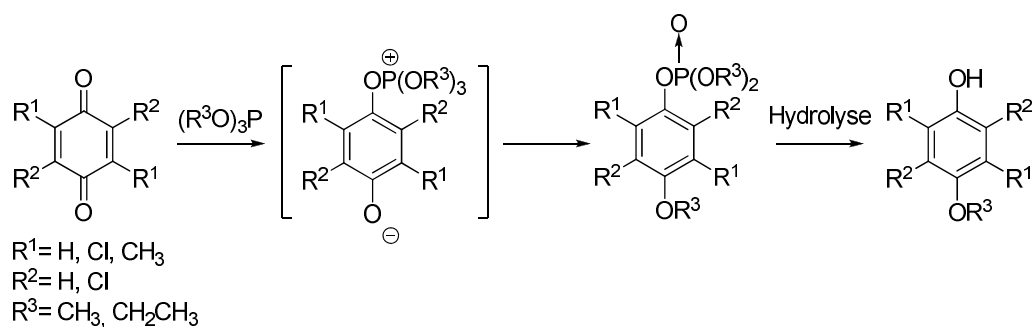


Schéma 1-32

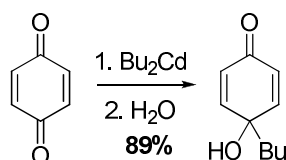


Schéma 1-33

Les quinones peuvent également réagir avec des énamines (condensation de Nenitzescu) ou avec des phénylhydrazones (réaction d'aza-Nenitzescu) ce qui donne accès à des quinones hétérocycliques de type indole et indazole (Schéma 1-34).⁶¹

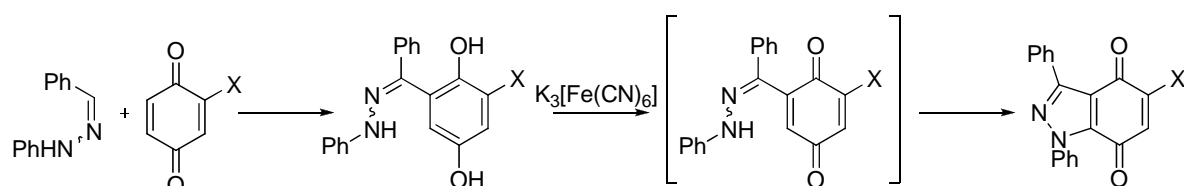


Schéma 1-34

Les quinones peuvent aussi piéger des radicaux (Schéma 1-35), ce qui peut être appliqué à la construction de systèmes bicycliques (Schéma 1-36),⁶² ou à l'introduction de substituants (Schéma 1-37).⁶³

⁶¹ Lyubchanskaya, V. M.; Alekseeva, L. M.; Granik, V. G. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 15005-15010.

⁶² Melville, H. W.; Watson, W. F. *Trans. Faraday Soc.* **1948**, *44*, 886-905.

⁶³ Commandeur, C.; Chalumeau, C.; Dessolin, J.; Laguerre, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 3045-3052.

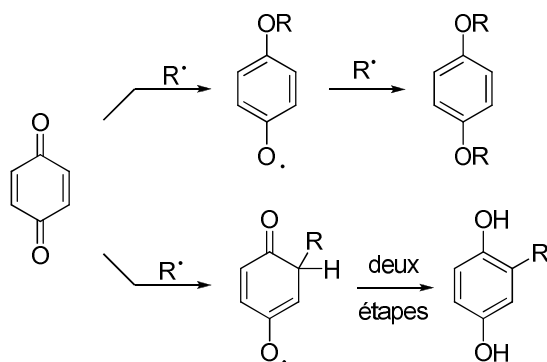


Schéma 1-35

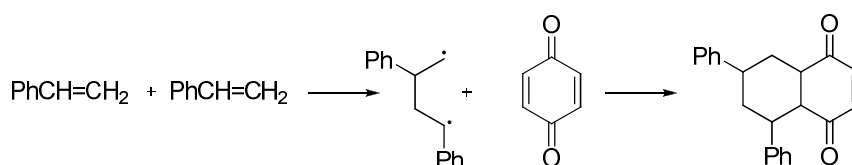


Schéma 1-36

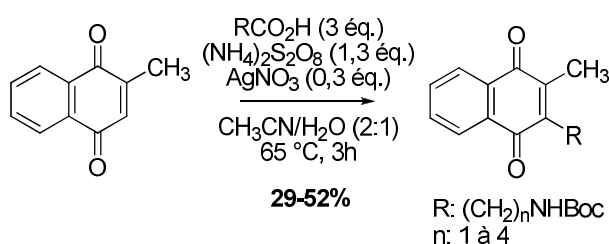


Schéma 1-37

Enfin, une des principales réactions mettant en jeu des quinones concerne les cycloadditions [4+2] où elles jouent le rôle de diénophiles pour donner accès à des naphthoquinones (Schéma 1-38),⁶⁴ et en particulier à des terpénylnaphthoquinones.⁶⁵

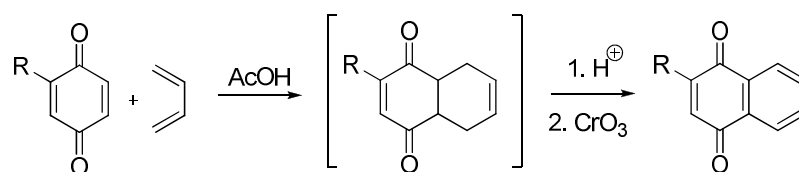


Schéma 1-38

Dans ce type de réaction, il convient de souligner que la présence d'hétéroatomes augmente le caractère diénophile comme c'est le cas des cycloadditions de la quinoxalinequinone (Schéma 1-39).⁶⁶

⁶⁴ Fieser, L. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 3165-3174.

⁶⁵ Del Corral, J. M. M.; Castro, M. A.; Oliveira, A. B.; Gualberto, S. A.; Cuevas, C.; San Feliciano A. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 7231-7240.

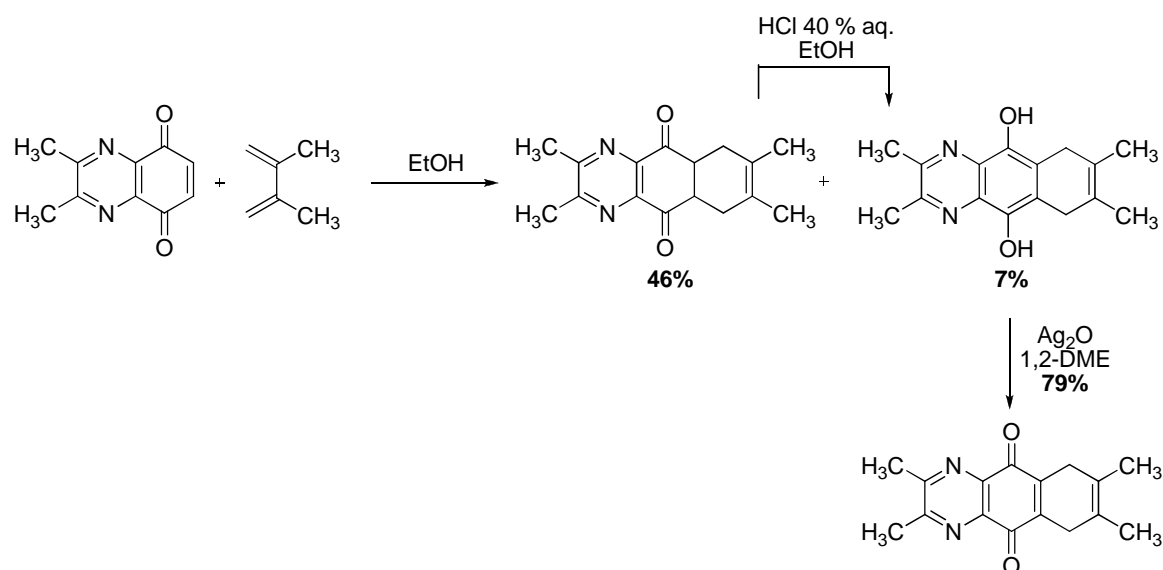


Schéma 1-39

III.3. Réactions de substitution⁶⁷

Des quinones substituées peuvent être préparées par action d'un nucléophile (azoté, oxygéné ou soufré) sur des quinones portant des groupements partants (X,Y). Deux réactions consécutives ont alors lieu : addition du nucléophile suivie de l'élimination du groupement partant (Schéma 1-40).

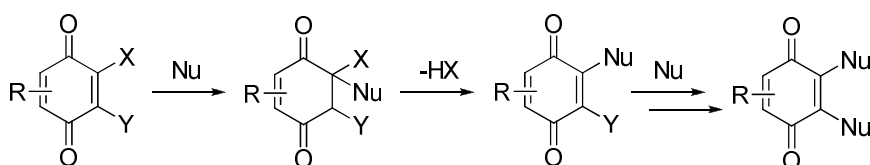


Schéma 1-40

Par exemple, la 2,3-dichloro-1,4-naphtoquinone, aisément obtenue par chloration de la 1,4-naphtoquinone,⁶⁸ donne accès à diverses hétéroquinones (Schéma 1-41).⁶⁹

⁶⁶ Gum, W. F. Jr; Jouillié, M. M. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 2583-2588.

⁶⁷ Finley, K. T. The addition and substitution chemistry of quinones. In *The chemistry of the quinonoid compounds*, part 2; Patai S., Ed.; VCH-Wiley: London, **1974**; 1072-1144.

⁶⁸ Shi, S.; Katz, T. J.; Yang, B. V.; Liu, L. *J. Org. Chem.* **1996**, *60*, 1285-1297.

⁶⁹ Sartori, M. F. *Chem. Rev.* **1963**, *63*, 279-296.

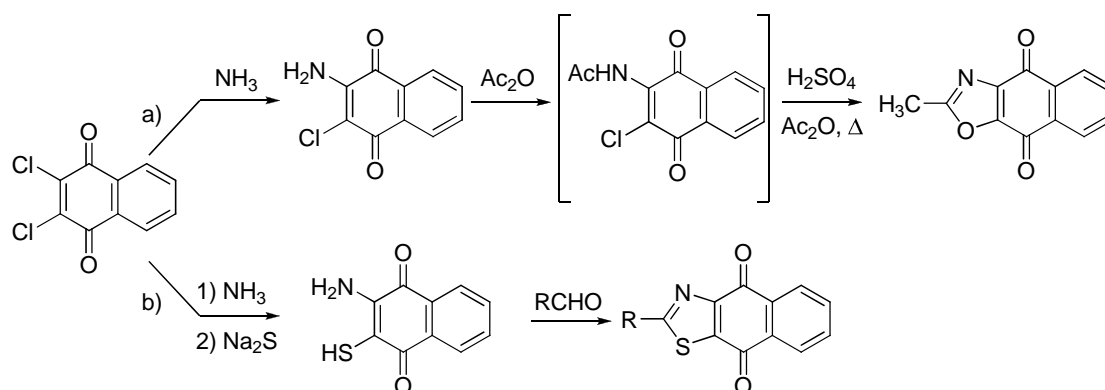


Schéma 1-41

Ainsi, la 2-amino-3-chloro-1,4-naphthoquinone (Schéma 1-41a) est obtenue après déplacement d'un des deux atomes de chlore, pour être ensuite acétylée puis cyclisée en oxazole.⁶⁹ La 2-amino-3-mercapto-1,4-naphthoquinone peut être préparée par deux réactions successives avec des nucléophiles différents, sa condensation avec un aldéhyde conduisant ensuite au dérivé thiazole (Schéma 1-41b).⁶⁹

L'introduction successive de deux nucléophiles azotés permet la préparation de dérivés de type triazole^{70,71} ou imidazole⁷¹ (Schéma 1-42).

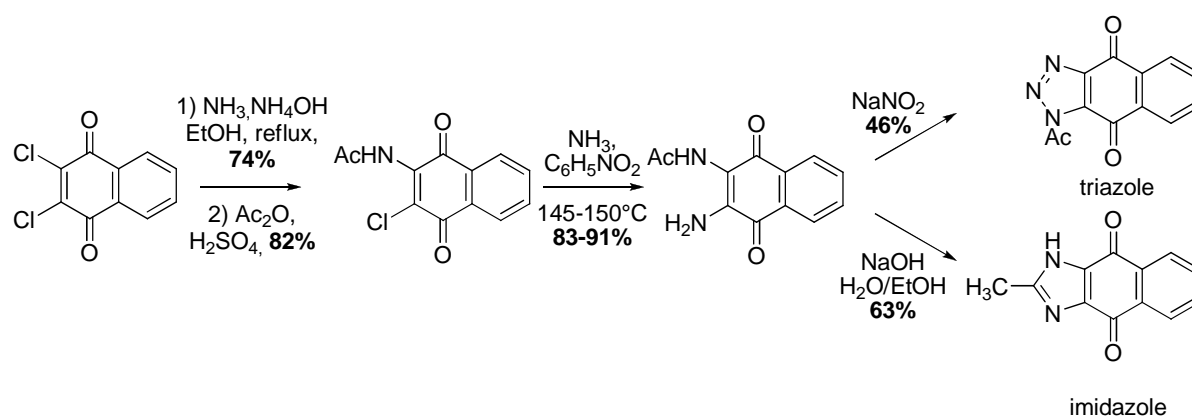


Schéma 1-42

Néanmoins, il faut remarquer que les conditions expérimentales lors de telles substitutions peuvent se révéler déterminantes puisque lors de la réaction du

⁷⁰ Fieser, L. F.; Martin, E. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1935**, 57, 1844-1849.

⁷¹ Hoover, J. R.; Day, A. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76, 4148-4152.

p-chloranile avec le thioéthylate de sodium, c'est une tétrasubstitution qui est observée en milieu aqueux, alors que dans l'éther, la quinone est simplement réduite en hydroquinone (Schéma 1-43).⁷²

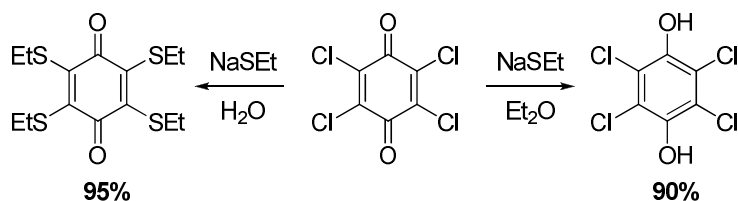


Schéma 1-43

Des résultats différents (dérivés mono- ou disubstitués) peuvent également être obtenus selon la nature de l'agent de thioalkylation (Schéma 1-44).⁷³

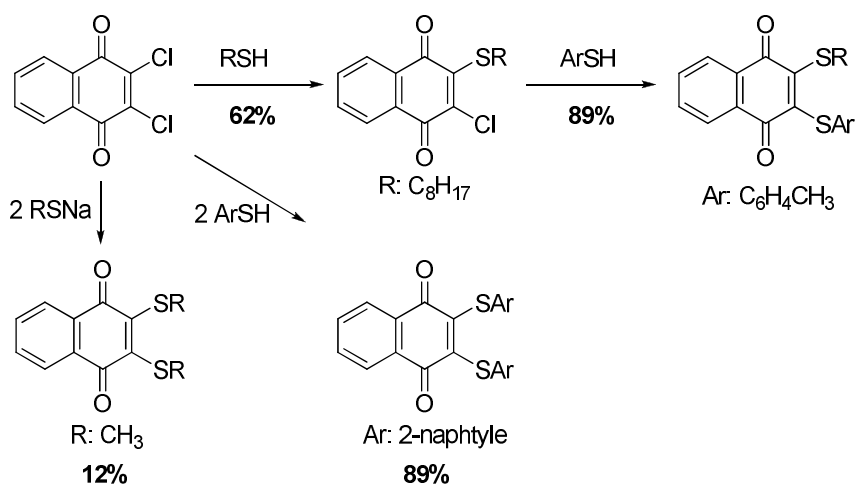


Schéma 1-44

IV. Activités biologiques

IV.1. Modes d'action

La réactivité des quinones conduit à deux modes d'action distincts qui peuvent être liés soit à des réactions rédox, soit à des réactions d'addition-élimination de type

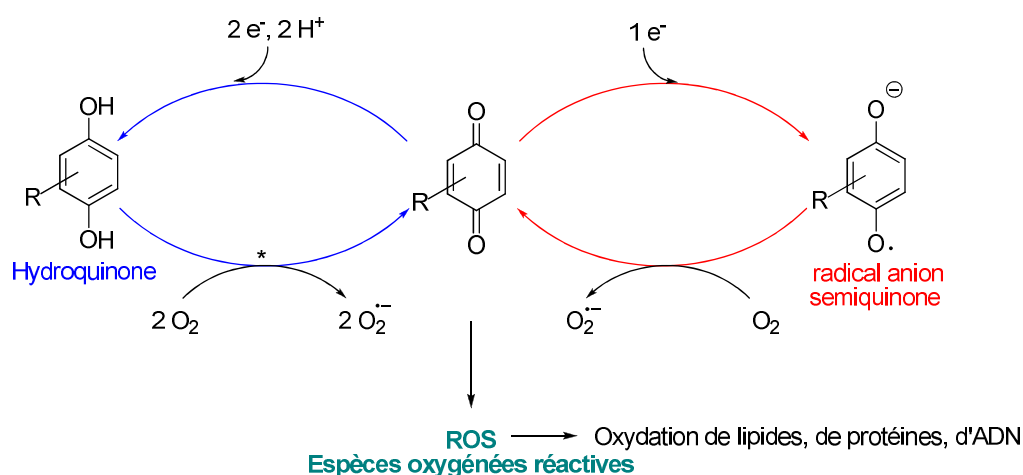
⁷² Sammis, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1905**, 27, 1120-1127.

⁷³ Fieser, L. F.; Brown, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, 71, 3609-3614.

Michaël, processus qui sont souvent à l'origine des mécanismes d'action intervenant dans l'activité biologique de ces composés. En effet, les quinones peuvent agir en tant qu'agents intercalants de l'ADN (π -stacking, liaisons hydrogène) ou provoquer l'apoptose, c'est-à-dire la mort programmée des cellules. Elles peuvent aussi se comporter comme inhibiteurs des topoisomérases I et II ou de phosphatases CDC25.⁷⁴ Pour ces raisons, les quinones sont considérées comme des pharmacophores.

IV.1.a. Réactions rédox

La bioréduction des quinones (Figure 1-11) peut être réalisée de deux manières selon qu'un ou deux électrons interviennent dans le processus de réduction.



*réaction ayant lieu uniquement pour les quinones pouvant s'autoxygéner

Figure 1-11 : Bioréduction des quinones⁷⁵

Le processus mettant en jeu un électron, réduction qui peut être catalysée par des oxydoréductases cellulaires, conduit à la formation d'une espèce semiquinone radical anion. L'oxydation de cette semiquinone en quinone peut ensuite être effectuée selon un cycle rédox non enzymatique faisant intervenir l'oxygène. Ce cycle permet de produire des espèces oxygénées réactives (ROS), comme le radical anion superoxyde O₂⁻ ou d'autres espèces plus agressives qui en dérivent telles que l'anion peroxonitrite (ONOO⁻) issu de la réaction de O₂⁻ avec l'oxyde d'azote (NO) ou des radicaux hydroxyles comme HO[·].

⁷⁴ Garuti, L.; Roberti, M.; Pizzirani, D. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2007**, *7*, 481-489.

⁷⁵ Bolton, J. L.; Trush, M. A.; Penning, T. M.; Dryhurst, G.; Monks, T. J. *Chem. Res. Toxicol.* **2000**, *13*, 135-160.

D'autre part, la réduction de la quinone peut aussi conduire directement à la formation de l'hydroquinone correspondante par transfert de deux électrons. Cette réaction est souvent catalysée par la NADPH:Quinone oxydoréductase (NQO1). Ici également, il y aura production de ROS,^{74,76} qui peuvent ensuite conduire à l'oxydation de macromolécules telles que l'ADN, des lipides ou des protéines.⁷⁵

IV.1.b. Accepteurs de Michaël

Les quinones peuvent causer des dysfonctionnements cellulaires par réaction avec des sites nucléophiles présents dans la cellule conduisant à des liaisons covalentes (Schéma 1-45). Ainsi, elles peuvent par exemple réagir avec des nucléophiles soufrés présents sur les protéines ou encore avec des groupes aminés des protéines ou de l'ADN.⁷⁵

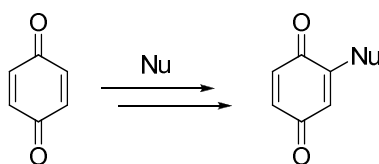


Schéma 1-45

IV.2. Activités biologiques : quelques exemples

Les quinones présentent des activités pharmacologiques variées, en particulier des propriétés antibactériennes,⁷⁷ antivirales,^{77,78} trypanocides,⁷⁹ anticancéreuses,⁸⁰ antipaludiques^{81,82} et antifongiques.⁸³

⁷⁶ Afonso, V.; Champy, R.; Mitrovic, D.; Collin, P.; Lomri, A. *Joint Bone Spine* **2007**, *74*, 324-329.

⁷⁷ Koyama, J. *Recent Pat. Anti-Infect. Drug Discovery* **2006**, *1*, 113-125.

⁷⁸ Brinkworth, R. I.; Fairlie, D. P. *Biochim. Biophys. Acta* **1995**, *1253*, 5-8.

⁷⁹ Salmon-Chemin, L.; Buisine, E.; Yardley, V.; Kohler, S.; Marie-Ange Debreu, M.-A.; Landry, V.; Sergheraert, C.; Croft, S. L.; Krauth-Siegel, R. L.; Davioud-Charvet, E. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 548-565.

⁸⁰ Martínez, M. J. A.; Benito, P. B. *Stud. Nat. Prod. Chem.* **2005**, *30*, 303-366.

⁸¹ Bullock, F. J.; Tweedie, J. F.; McRitchie, D. D.; Tucker, M. A. *J. Med. Chem.* **1970**, *13*, 550-552.

⁸² Laurent, D.; Jullian, V.; Parenty, A.; Knibiehler, M.; Dorin, D.; Schmitt, S.; Lozach, O.; Lebouvier, N.; Frostin, M.; Alby, F.; Maurel, S.; Doerig, C.; Meijer, L.; Sauvain, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 4477-4482.

⁸³ Perry, N. B.; Blunt, J. W. *J. Nat. Prod.* **1991**, *54*, 978-985.

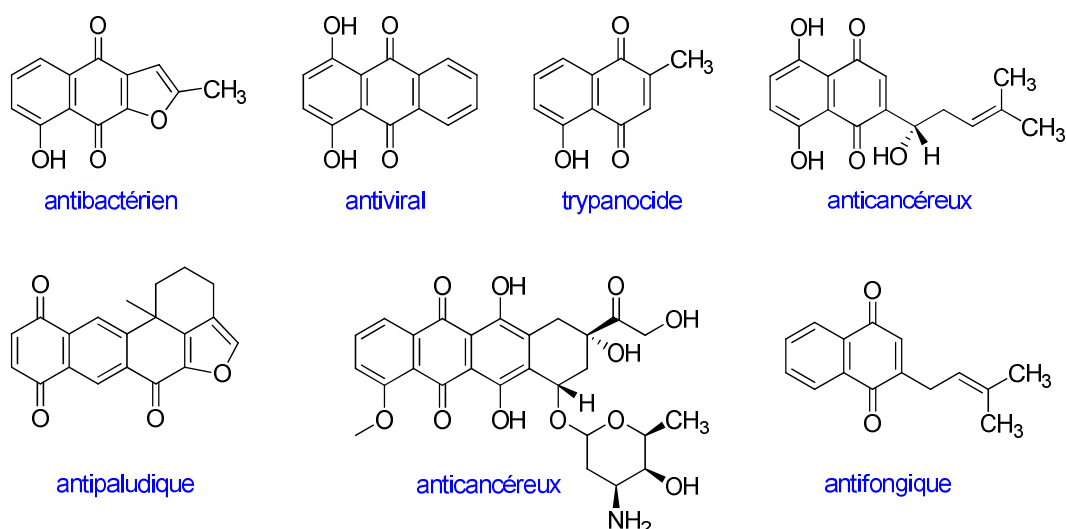


Figure 1-12 : Quelques activités biologiques des quinones

IV.2.a. Les quinones

A titre d'exemple, la 7-méthyljuglone, s'est avérée avoir une activité antibactérienne contre l'agent pathogène de la tuberculose *Mycobacterium tuberculosis*, ($MIC_{50}(\mu\text{g/mL}) : 0,5$ vs $5,0$ pour la ménadione de référence et $IC_{50}(\mu\text{g/mL}) : 15,1$ vs $6,5$ (ménadione)) (Figure 1-13).⁸⁴ L'aloé-émodine s'est révélée être un agent anticancéreux sélectif envers les tumeurs neuroectodermales. En effet, la croissance des lignées cellulaires des tumeurs neuroectodermales est inhibée avec des ED_{50} (dose efficace à 50 %) de $1 \mu\text{M}$ pour les neuroblastomes ou de $13 \mu\text{M}$ pour les sarcomes d'Ewing (cancer des os) (Figure 1-13).⁸⁵

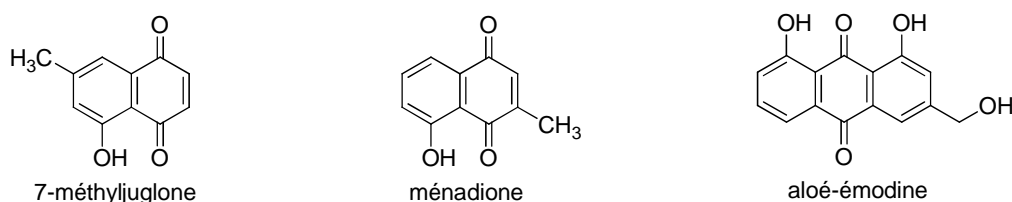


Figure 1-13 : Structure de quelques quinones bioactives

⁸⁴ Mahapatra, A.; Mativandela, S. P. N.; Binneman, B.; Fourie, P. B.; Hamilton, C. J.; Meyer, J. J. M.; van der Kooy, F.; Houghton, P.; Lall, N. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 7638-7646.

⁸⁵ Pecere, T.; Gazzola, M. V.; Mucignat, C.; Parolin, C.; Dalla Vecchia, F.; Cavaggioni, A.; Basso, G.; Diaspro, A.; Salvato, B.; Carli, M.; Palù, G. *Cancer Res.* **2000**, *60*, 2800-2804.

IV.2.b. Les terpénylquinones

Les terpénylquinones, c'est-à-dire des quinones faisant partie intégrante de squelettes terpéniques (royléanone^{86a}) ou reliées à des terpènes (avarone/avarol), présentent également des activités biologiques (Figure 1-14). Par exemple, la royléanone s'avère avoir une activité en tant qu'agent anticancéreux.^{86b} Par ailleurs, l'avarone et sa forme réduite l'avarol, couple quinone/hydroquinone, possèdent une activité pour le traitement local de l'œdème de l'oreille chez la souris avec une ED₅₀ de 397 µg/oreille pour l'avarone et de 97 µg/oreille pour l'avarol à comparer avec l'ED₅₀ de l'indométhacine (ED₅₀=168 µg/oreille).⁸⁷ On peut remarquer que c'est la forme réduite, l'avarol, qui a la meilleure activité.

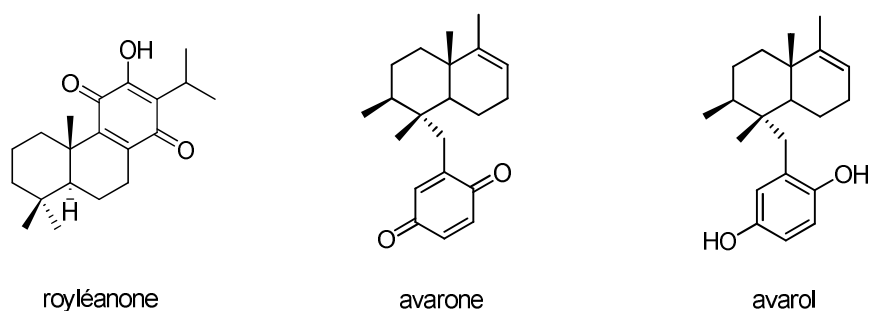


Figure 1-14 : Quelques exemples de terpénylquinones

On peut également citer l'illimaquinone qui est active contre le VIH en inhibant sélectivement la ribonucléase H (RNase H) de la transcriptase inverse du VIH-1 avec une IC₅₀ de 5,4 µg/mL (Figure 1-15).⁸⁸

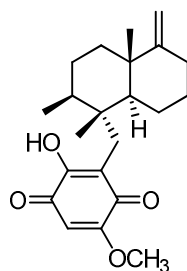


Figure 1-15 : Structure de l'illimaquinone

⁸⁶ a) Edwards, O. E.; Feniak, G.; Los, M. *Can. J. Chem.* **1962**, *40*, 1540-1946. b) Il présente une ED₅₀ de 80 µg/mL contre le cancer nasopharyngé : Kupchan, S. M.; Karim, A.; Marcks, C. *J. Org. Chem.* **1969**, *34*, 3912-3918.

⁸⁷ Ferrándiz, M. L.; Sanz, M. J.; Bustos, G.; Payá, M.; Alcaraz, M. J.; De Rosa, S. *Eur. J. Pharmacol.* **1994**, *253*, 75-82.

⁸⁸ Loya, S.; Tal, R.; Kashman, Y.; Hizi, A. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1990**, *34*, 2009-2012.

IV.2.c. Les hétéroquinones

Les hétéroquinones (Figure 1-16) présentent également des activités biologiques pouvant être liées au nombre et à la position des hétéroatomes dans l'hétérocycle comme cela sera exposé au chapitre 3.⁷⁴

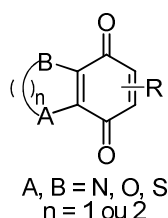


Figure 1-16 : Représentation générale des hétéroquinones

Parmi les activités mises en évidence, une imidazophthalazoquinone anti-tumorale (Figure 1-17), notamment du fait de sa capacité à agir en tant qu'intercalant de l'ADN, a montré une forte cytotoxicité *in vivo* contre les lignées cellulaires de tumeurs humaines ($IC_{50} = 1$ nM sur des cellules tumorales de l'estomac humain SNU-638).⁸⁹

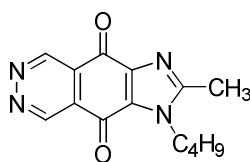


Figure 1-17 : Quinone intercalant de l'ADN

Par ailleurs, une indolonaphtoquinone (Figure 1-18) s'est révélée induire l'apoptose, mécanisme physiologique qui conduit au « suicide » des cellules endommagées ou nuisibles, avec une IC_{50} de 0,3 à 1,5 μ M sur des lignées de cellules cancéreuses humaines telles que A-549 (cancer du poumon), Co12 (cancer du colon) et SNU-638 (cancer de l'estomac).^{74,90}

⁸⁹ Kim, J. S.; Lee, H.-J.; Suh, M.-E.; Choo, H.-Y. P.; Lee, S. K.; Park, H. J.; Kim, C.; Park, S. W.; Lee, C.-O. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 3683-3686.

⁹⁰ Lee, E.-J.; Lee, H.-J.; Park, H. J.; Min, H.-Y.; Suh, M.-E.; Chung, H.-J.; Lee, S. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 5175-5178.

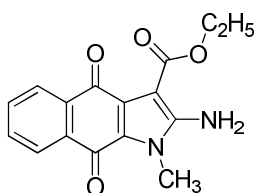


Figure 1-18 : 2-amino-3-éthoxycarbonyl-*N*-méthylbenz[f]indole-4,9-dione

V. Objectifs

Le travail, présenté par la suite, s'articule autour de deux axes indépendants concernant d'une part, la synthèse du célyphanol A et d'autre part, la préparation d'hétéroquinones pour lesquelles des évaluations biologiques seront effectuées.

Le célyphanol A (Figure 1-19) est une terpénylhydroquinone polyoxygénée, qui présente une activité anti-cancéreuse.⁹¹ Naturellement peu disponible et synthétisé jusqu'alors en série racémique, une approche énantiosélective de sa préparation a été envisagée à partir du pool chiral. Ce travail sera présenté au chapitre 2. De plus, par analogie avec le couple avarol/avarone (Figure 1-14) pour lequel chaque entité possède une activité biologique, il est raisonnable de s'interroger sur l'activité potentielle de la forme oxydée du célyphanol A, ce qui invite à sa préparation.

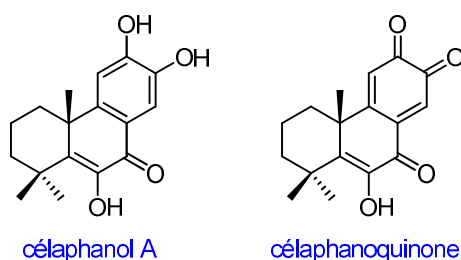


Figure 1-19 : Structures du célyphanol A et de sa forme oxydée

Le second axe concerne la préparation d'hétéroquinones, analogues de naphtoquinones (Schéma 1-46) et l'évaluation de leurs activités biologiques en tant qu'inhibiteurs de phosphatases et de réductases. En fonction des résultats obtenus, il

⁹¹ a) Jin, H. Z.; Hwang, B. Y.; Kim, H. S.; Lee, J. H.; Kim, Y. H.; Lee, J. J. *J. Nat. Prod.* **2002**, 65, 89-91. b) Xiong, Y.; Wang, K.; Pan, Y.; Sun, H.; Tu, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 786-789.

sera possible d'envisager le couplage entre une hétéroquinone biologiquement active et un terpène. Les tests biologiques ont été réalisés en collaboration avec l'équipe de C. Garbay (Université Paris Descartes) et celle d'E. Davioud-Charvet (Université d'Heidelberg). Cette étude fera l'objet du chapitre 3.

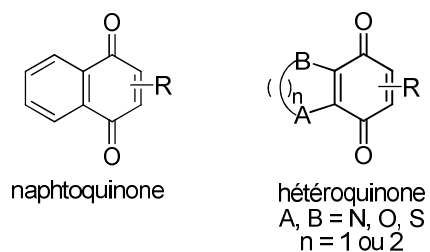


Schéma 1-46

Chapitre 2

**Synthèse d'un podocarpane fonctionnalisé,
vers la synthèse du célaphanol A**

I. Introduction sur les quinones terpéniques

I.1. Généralités

La recherche de produits naturels biologiquement actifs suscite un vif intérêt puisqu'elle peut notamment conduire à l'identification de nouveaux produits d'intérêt pharmaceutique. Parmi les différents composés naturels isolés à ce jour, nous nous sommes intéressés à une famille particulière, les terpénylquinones (Figure 2-1a) qui sont des dérivés comprenant une partie terpénique et une partie quinone (ou sa forme réduite hydroquinone). Cette dernière peut se trouver, soit au sein du squelette (Figure 2-1b), soit en tant que substituant (Figure 2-1c).

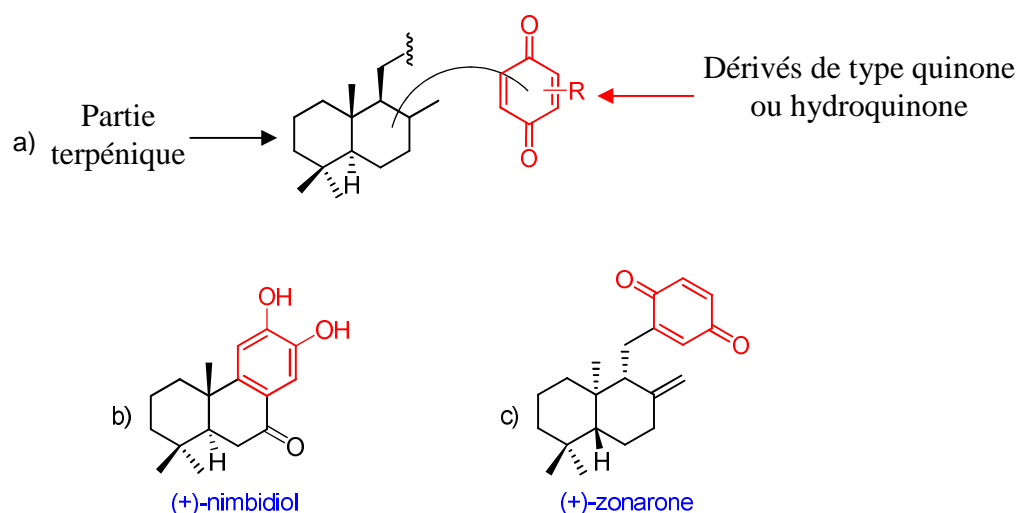


Figure 2-1 : Représentation des terpényl(hydro)quinones

Ce type de composés constitue une famille de produits naturels d'une grande diversité structurale (Figure 2-2). En effet, le squelette terpénique peut être acyclique,¹ ou il peut s'agir d'un système monocyclique,² ou encore polycyclique (bicyclique³ par exemple).

¹ Tian, L.; DellaPenna, D.; Dixon, R. A. *Planta* **2007**, *226*, 1067-1073.

² a) Ishibashi, M.; Ohizumi, Y.; Cheng, J.-F.; Nakamura, H.; Hirata, Y.; Sasaki, T.; Kobayashi, J. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2855-2858. b) Takahashi, Y.; Kubota, T.; Fromont, J.; Kobayashi, J. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 8770-8773.

³ Minale, L.; Riccio, R.; Sodano, G. *Tetrahedron Lett.* **1974**, *15*, 3401-3404.

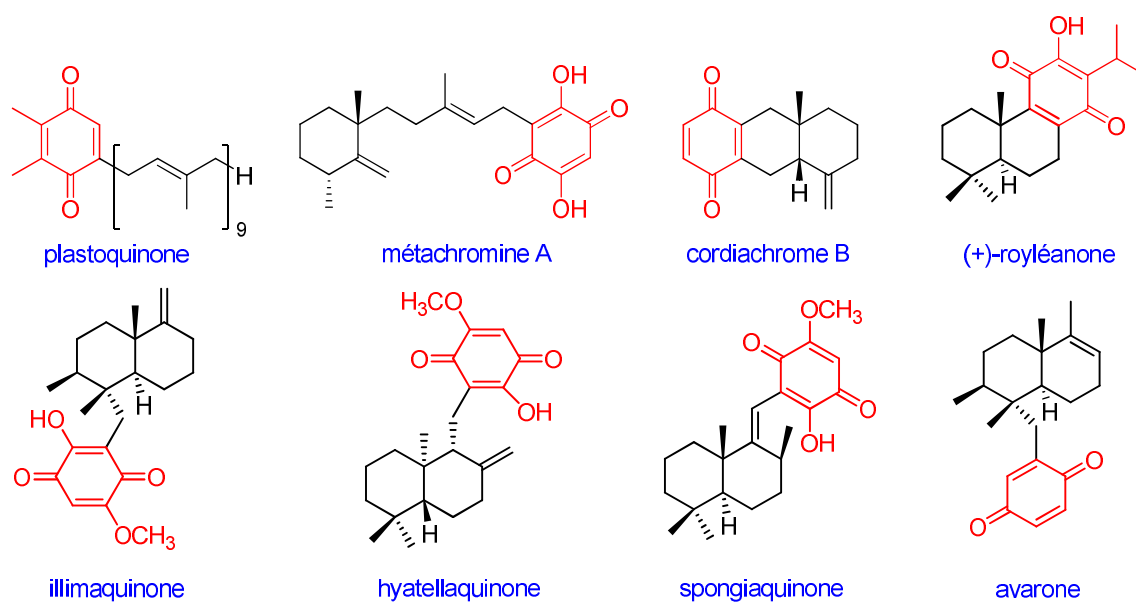


Figure 2-2 : Exemples de terpénylquinones

De façon générale, ces quinones terpéniques sont des métabolites d'origine marine:⁴ elles ont été isolées d'éponges,^{2,3,5,6,7} et d'algues.⁶ Toutefois, elles ont aussi été isolées de plantes.⁸

Par ailleurs, cette famille de composés a déjà fait l'objet de nombreuses études du fait de propriétés pharmacologiques intéressantes.^{9,10,11} En effet, ces dérivés peuvent avoir des activités anticancéreuses,^{12,13,14,15} anti-inflammatoires,¹⁶ ou encore antivirales.⁷ La recherche de nouvelles terpénylquinones et l'évaluation de leur activité biologique sont donc toujours d'actualité comme le montrent les études sur

⁴ Capon, R. J. *Stud. Nat. Prod. Chem.* **1995**, *15*, 289-326.

⁵ a) Kazlauskas, R.; Murphy, P. T.; Warren, R. G.; Wells, R. J.; Blount, J. F. *Aust. J. Chem.* **1978**, *31*, 2685-2697. b) Capon, R. J.; Groves, D. R.; Urban, S.; Watson, R. G. *Aust. J. Chem.* **1993**, *46*, 1245-1253.

⁶ Talpir, R.; Rudi, A.; Kashman, Y. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 4179-4184.

⁷ Loya, S.; Tal, R.; Kashman, Y.; Hizi, A. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1990**, *34*, 2009-2012.

⁸ a) Carreño, M. C.; García Ruano, J. L. G.; Toledo, M. A. *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 288-291. b) Watabe, T.; Hosoda, Y.; Okada, K.; Oda, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1987**, *60*, 3801-3802.

⁹ Sladić, D.; Gašić, M. *J. Molecules* **2006**, *11*, 1-33.

¹⁰ Motti, C. A.; Bourguet-Kondracki, M.-L.; Longeon, A.; Doyle, J. R.; Llewellyn, L. E.; Tapiolas, D. M.; Yin, P. *Molecules* **2007**, *12*, 1376-1388.

¹¹ Laube, T.; Bernet, A.; Dahse, H.-M.; Jacobsen, I. D.; Seifert, K. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 1422-1427.

¹² La hyatellaquinone présente une $GI_{50} = 2,4 \mu\text{g/mL}$ (cancer du sein) : Laube, T.; Beil, W.; Seifert, K. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 1141-1148.

¹³ La spongiaquinone a une $IC_{50} = 3,24 \mu\text{g/mL}$ (cancer du sein) : Jankam, A.; Somerville, M. J.; Hooper, J. N. A.; Brecknell, D. J.; Suksamrarn, A.; Garson, M. J. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 1577-1582.

¹⁴ L'avarone montre une $ED_{50} = 0,62 \mu\text{M}$ (leucémie) : Müller, W. E. G.; Maidhof, A.; Zahn, R. K.; Schröder, H. C.; Gasić, M. J.; Heidemann, D.; Bernd, A.; Kurelec, B.; Eich, E.; Seibert, G. *Cancer Res.* **1985**, *45*, 4822-4826.

¹⁵ La métachromine A présente une $IC_{50} = 0,10 \mu\text{g/mL}$ (cancer du colon) par rapport à la mitomycine prise comme référence $IC_{50} = 0,05 \mu\text{g/mL}$: Shen, Y.-C.; Chen, C.-Y.; Kuo, Y.-H. *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 801-803.

¹⁶ Ferrándiz, M. L.; Sanz, M. J.; Bustos, G.; Payá, M.; Alcaraz, M. J.; De Rosa, S. *Eur. J. Pharmacol.* **1994**, *253*, 75-82.

l'avinosol,¹⁷ la pycnanthuquinone C,¹⁸ les thiaplidiaquinones A et B¹⁹ (Figure 2-3) et l'avarone (Figure 2-2).²⁰

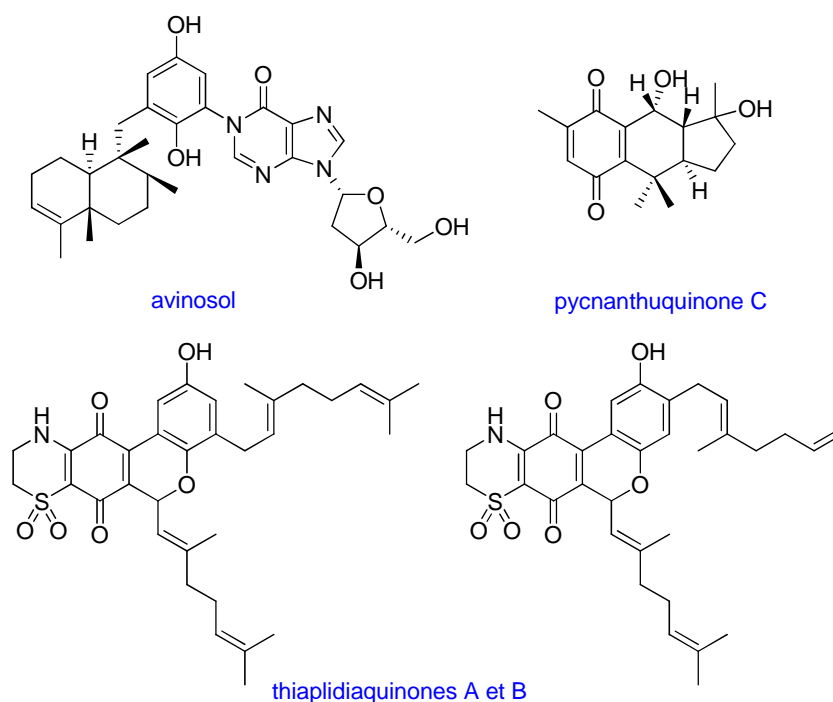


Figure 2-3 : Quelques exemples de terpénylquinones récemment isolées

I.2. Présentation du célyphanol A

I.2.a. Le célyphanol A

Le célyphanol A (**1**) (Figure 2-4) est un terpène tricyclique caractérisé par la présence d'un cycle de type hydroquinone qui a été extrait des tiges de l'arbuste *Celastrus stephanotifolius*,²¹ et des racines de la plante grimpante *Celastrus orbiculatus*²² avec des rendements d'extraction faibles de 4×10^{-4} % et 5×10^{-3} % respectivement.

¹⁷ Diaz-Marrero, A. R.; Austin, P.; Van Soest, R.; Matainaho, T.; Roskelley, C. D.; Roberge, M.; Andersen, R. J. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3749-3752.

¹⁸ Wabo, H. K.; Tatsimo, S. N.; Tane, P.; Connolly, J. D. *Planta Medica* **2007**, *73*, 187-189.

¹⁹ Aiello, A.; Fattorusso, E.; Luciano, P.; Macho, A.; Menna, M.; Munõz, E. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3410-3416.

²⁰ Sakurai, J.; Oguchi, T.; Watanabe, K.; Abe, H.; Kanno, S.-I.; Ishikawa, M.; Katoh, T. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 829-837.

²¹ Chen, B.; Duan, H.; Takaishi, Y. *Phytochemistry* **1999**, *51*, 683-687.

²² Jin, H. Z.; Hwang, B. Y.; Kim, H. S.; Lee, J. H.; Kim, Y. H.; Lee, J. J. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 89-91.

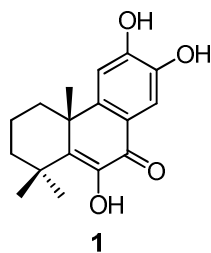


Figure 2-4 : Structure du cèlaphanol A

Ce composé présente des activités biologiques diverses. En effet, il a montré une activité modérée en tant qu'anti-inflammatoire²² mais une activité anti-cancéreuse plus significative en particulier contre les cancers du col de l'utérus, du sein et le cancer nasopharyngé.²³

En fait, il est possible que la forme active corresponde à la structure quinone, en l'occurrence la cèlaphanoquinone. En effet, comme introduit dans le chapitre 1 (paragraphe IV.2.b), ces deux dérivés constituent un exemple de terpénylquinones pour lequel chacun des composés possède une activité biologique. L'avarol et l'avarone sont en effet deux partenaires d'une même réaction rédox mais il est difficile d'attribuer une activité biologique particulière à la seule forme hydroquinone (avarol), ce qui a été souligné par Gašić:²⁴

« It must be emphasized that in any biological assay the presence of both compounds in some ratio (time- and medium- dependent) must be taken into account, in view of the pH dependence of their half-wave potentials and ease of interconversion. »

Aussi, il est raisonnable de s'interroger sur l'activité potentielle de la forme oxydée du cèlaphanol A (Figure 2-5). Bien que la cèlaphanoquinone n'ait pas été isolée à ce jour, elle devrait être obtenue par oxydation du cèlaphanol. Ce dernier n'a été préparé qu'en série racémique (paragraphe I.2.c) et c'est la raison pour laquelle sa synthèse énantiosélective a été envisagée.

²³ En effet, le composé **1** présente une IC₅₀ de 18,0 µg/mL (cancer du col de l'utérus) par rapport au cis-platine pris comme référence (IC₅₀ de 5,89 µg/mL), une IC₅₀ de 24,8 µg/mL (cancer du sein, IC₅₀ (cis-platine) = 6,53 µg/mL) et une IC₅₀ de 9,1 µg/mL (cancer nasopharyngé, IC₅₀ (cis-platine) = 2,34 µg/mL). Xiong, Y.; Wang, K.; Pan, Y.; Sun, H.; Tu, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 786-789.

²⁴ Gašić, M. I. *J. Serb. Chem. Soc.* **1988**, *53*, 229-249.

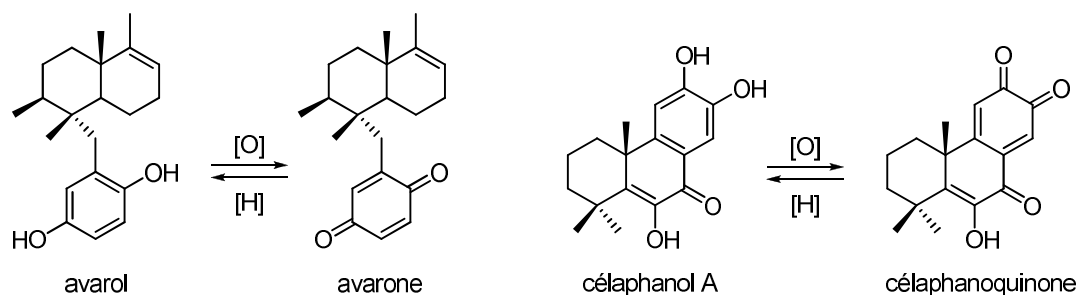


Figure 2-5 : Représentation des deux couples rédox considérés

1.2.b. Les podocarpanes

Si l'on considère sa structure, le céléphanol A est un terpène provenant de la famille des podocarpanes. En effet, les dérivés de cette famille possèdent deux jonctions de cycle *trans*, un groupement *gem*-diméthyle en position 4 et un groupement méthyle axial en position 10 (Figure 2-6). On peut également trouver des podocarpanes comportant un cycle aromatique comme c'est le cas pour le céléphanol A.

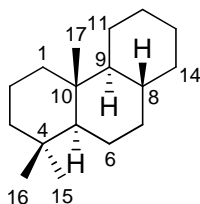


Figure 2-6 : Nomenclature IUPAC des podocarpanes

Ces produits naturels sont peu représentés²⁵ et parmi eux, on trouve des dérivés oxydés dont le cycle C est aromatique comme le (+)-totarol **2**,²⁶ le (+)-sempervirol **3**,²⁷ et le (+)-nimbidiol **4**²⁸ (Figure 2-7).²⁹

²⁵ Alvarez-Manzaneda, E.; Chahboun, R.; Cabrera, E.; Alvarez, E.; Alvarez-Manzaneda, R.; Hmamouchi, M.; Es-Samti, H. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 8930-8934.

²⁶ Bendall, J. G.; Cambie, R. C. *Aust. J. Chem.* **1995**, *48*, 883-917.

²⁷ Mangoni, L.; Caputo, R. *Tetrahedron Lett.* **1967**, 673-675.

²⁸ Majumder, P. L.; Maiti, D. C.; Kraus, W.; Bokel, M. *Phytochemistry* **1987**, *26*, 3021-3024.

²⁹ Par abus de langage, ces composés sont considérés comme des dérivés podocarpanes.

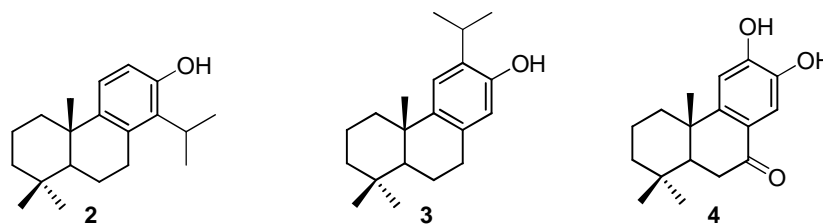


Figure 2-7 : Quelques exemples de podocarpanes²⁹

Pour obtenir le système tricyclique des podocarpanes, quatre voies d'accès ont été développées (Figure 2-8). La première repose sur la transformation d'un système tricyclique existant (Figure 2-8a). Une autre approche est fondée sur la formation concertée des cycles A et B à partir d'un cycle C fonctionnalisé (Figure 2-8b). Cependant, la stratégie la plus utilisée consiste à construire le système tricyclique à partir de deux cycles AC \rightarrow ABC ou AB \rightarrow ABC (Figure 2-8c et d).

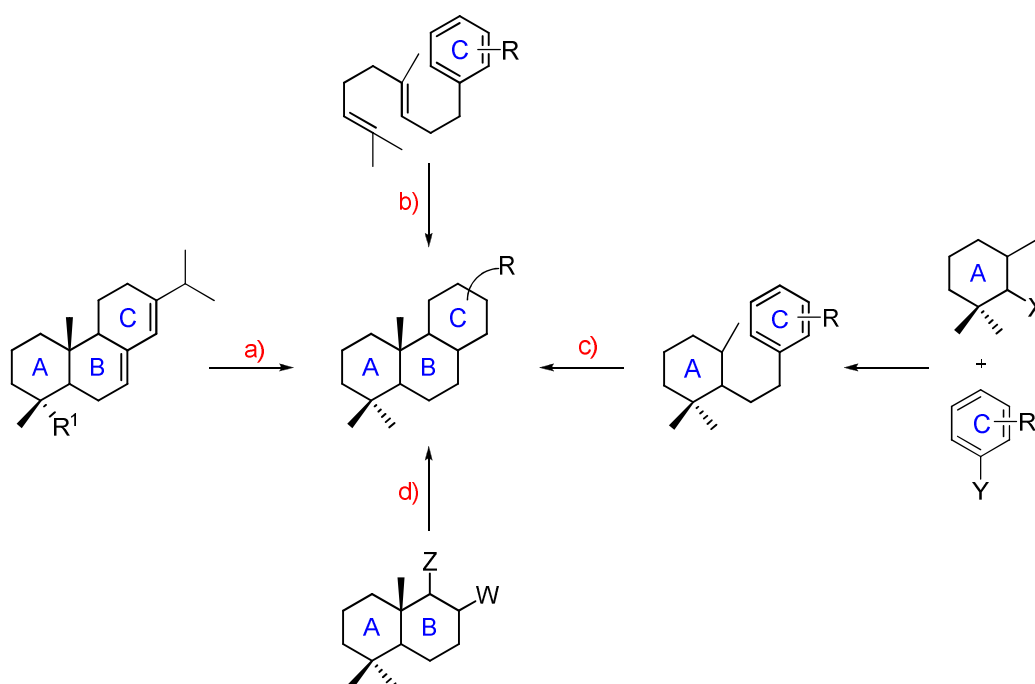
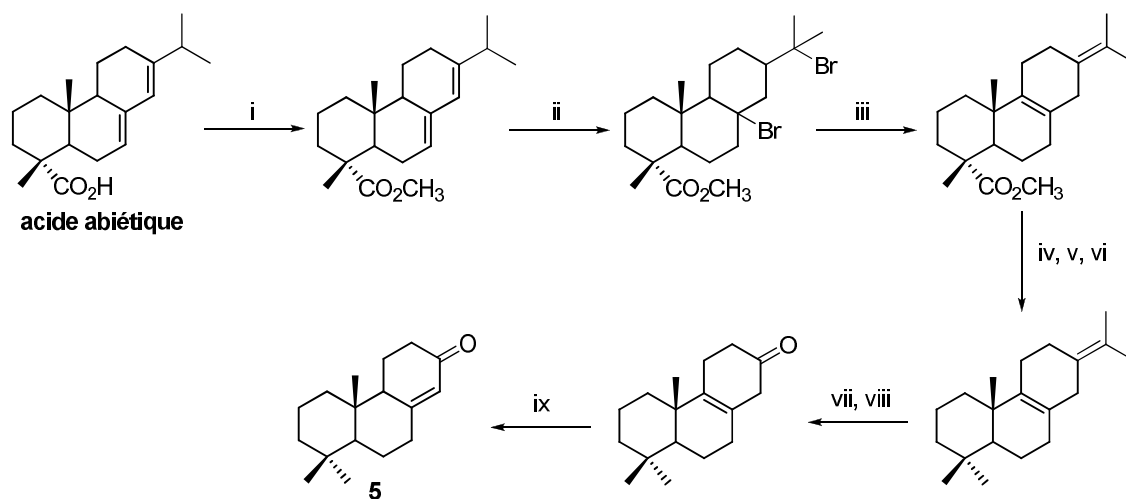


Figure 2-8 : Stratégies de synthèse pour la préparation des podocarpanes

La synthèse énantiosélective de la (+)-podocarp-8(14)-én-13-one **5**, préparée à partir d'un abiétane issu du pool chiral, constitue un exemple de la première approche (Schéma 2-1).³⁰

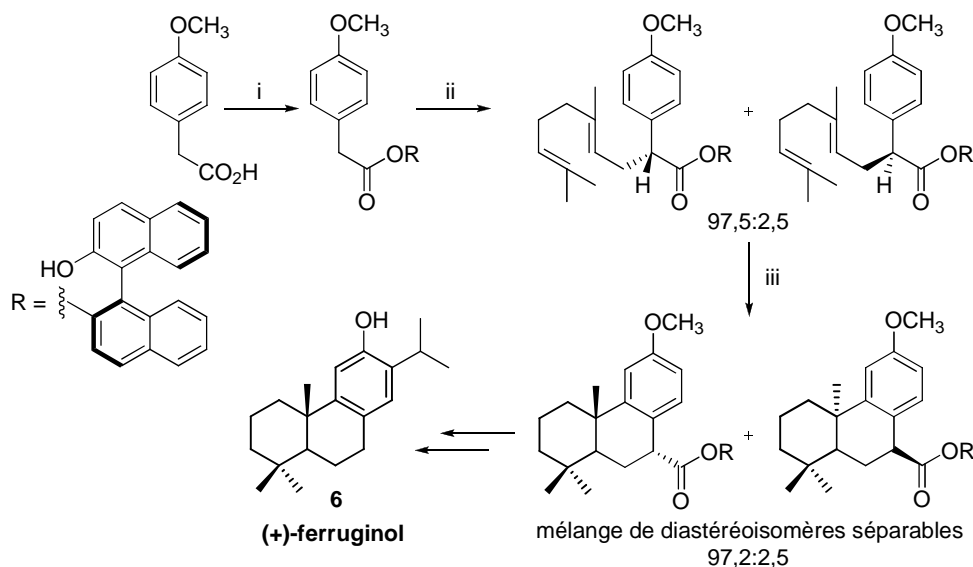
³⁰ Abad, A.; Arno, M.; Domingo, L. R.; Zaragoza, R. J. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 4937-4940.



Conditions et réactifs: i) LiOH, $(\text{CH}_3\text{O})_2\text{SO}_2$, DMF, t.a., 4 h, **98%**; ii) HBr, AcOH, t.a., 6 h, **42%**; iii) LiOH·2H₂O, DMF, 80 °C, 3,5 h, **71%**; iv) NaAlH₂(O(CH₂)₂OCH₃)₂, toluène, 0 °C, 1 h; v) TsCl, pyridine, 0 °C, 24 h; vi) NaI, Zn, HMPT, 105-110 °C, 20 h, **55%**; vii) O₃, CH₂Cl₂/EtOAc, -78 °C, 22 min; viii) Me₂S, 48 h, t.a., **79%**; ix) HCl conc., CH₃OH, reflux, 40 min, **80%**.

Schéma 2-1

La deuxième approche met en jeu une cyclisation en cascade d'un polyène porté par un composé aromatique sous l'action d'un acide de Lewis, ce qui permet la construction de manière énantiosélective du squelette podocarpane. Le Schéma 2-2 illustre la synthèse du (+)-ferruginol **6** à partir de l'acide 4-méthoxyphénylacétique, l'induction asymétrique étant apportée par un auxiliaire chiral avant l'étape de cyclisation.³¹

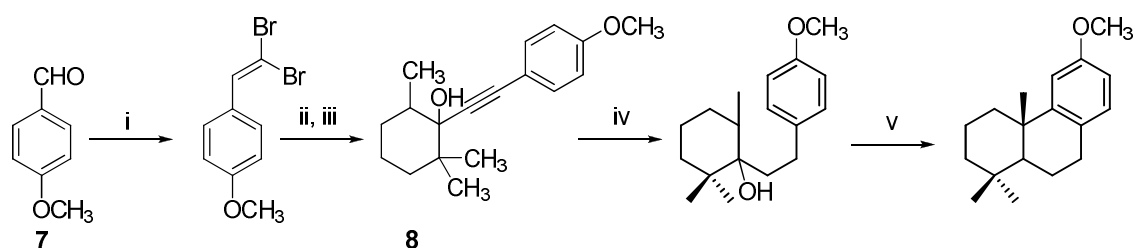


Conditions et réactifs: i) (*R*)-(+)-1,1'-bi-naphthol, CH₂Cl₂, DCC, DMAP, t.a., 15 h, **94%**; ii) LDA, chlorure de géranyle, THF, HMPA, -78 °C, 6,5 h, **38%**; iii) BF₃·Et₂O, CH₃NO₂, t.a., 12 h, **49%**.

Schéma 2-2

³¹ Tada, M.; Nishiiri, S.; Zhixiang, Y.; Imai, Y.; Tajima, S.; Okazaki, N.; Kitano, Y.; Chiba, K. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 2657-2664.

Toutefois, ce sont les deux dernières méthodes qui ont été le plus souvent appliquées à la préparation de podocarpanes. Dans le premier cas (stratégie AC→ABC), les cycles A et C sont tout d'abord assemblés puis l'intermédiaire formé est cyclisé par une réaction de Friedel-Crafts intramoléculaire.³² Ainsi, la réaction de l'acétylure de lithium formé en deux étapes à partir de l'anisaldéhyde **7** (cycle C) avec la 2,2,6-triméthylcyclohexanone (cycle A) mène à l'alcool propargylique **8** qui, après réduction de la triple liaison et traitement avec le réactif d'Eaton (P₂O₅, CH₃SO₃H), conduit au système tricyclique (Schéma 2-3).³³



Conditons et réactifs: i) CBr₄, PPh₃, 30 min, t.a., **99%**; ii) *n*-BuLi, -78 °C, 1h puis t.a., 1 h; iii) 2,2,6-triméthylcyclohexanone, -78 °C, 1 h, **68%**; iv) H₂, Pd/C, 6 h, t.a., **99%**; v) P₂O₅, CH₃SO₃H, t.a., 1 h, **90%**.

Schéma 2-3

Dans le deuxième cas (stratégie AB→ABC), le squelette podocarpane peut être préparé de manière énantiosélective à partir de labdanes naturels³⁴ comme le (-)-sclaréol (Schéma 2-4).^{25,35} Ce dernier est diacétylé puis l'acétate allylique subit un réarrangement catalysé au palladium, qui, après ozonolyse, conduit à **9**. Ce composé est transformé en **10** après un traitement basique à haute température et une réaction d'ozonolyse de la double liaison exocyclique formée précédemment. **10** conduit ensuite à l'énone tricyclique par une réaction d'aldolisation intramoléculaire sous l'action du carbonate de potassium (Schéma 2-4).^{35,36}

³² a) Matsumoto, T.; Usui, S.; Morimoto, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1977**, *50*, 1575-1579. b) Bhar, S. S.; Ramana, M. M. V. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 8935-8937. c) Yajima, A.; Yamaguchi, A.; Saitou, F.; Nukada, T.; Yabuta, G. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 1080-1084. d) Banerjee, A. K.; Laya, M. S.; Mora, H. R.; Cabrera, E. V. *Curr. Org. Chem.* **2008**, *12*, 1050-1070.

³³ Katoh, T.; Akagi, T.; Noguchi, C.; Kajimoto, T.; Node, M.; Tanaka, R.; Nishizawa, M.; Ohtsu, H.; Suzuki, N.; Saito, K. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 2736-2748.

³⁴ Zambrano, J. L.; Rosales, V.; Nakano, T. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 1859-1862.

³⁵ Alvarez-Manzaneda Roldán, E.; Romera Santiago, J. L.; Chahboun, R. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 563-566.

³⁶ Martres, P.; Perfetti, P.; Zahra, J.-P.; Waegell, B. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 97-98.

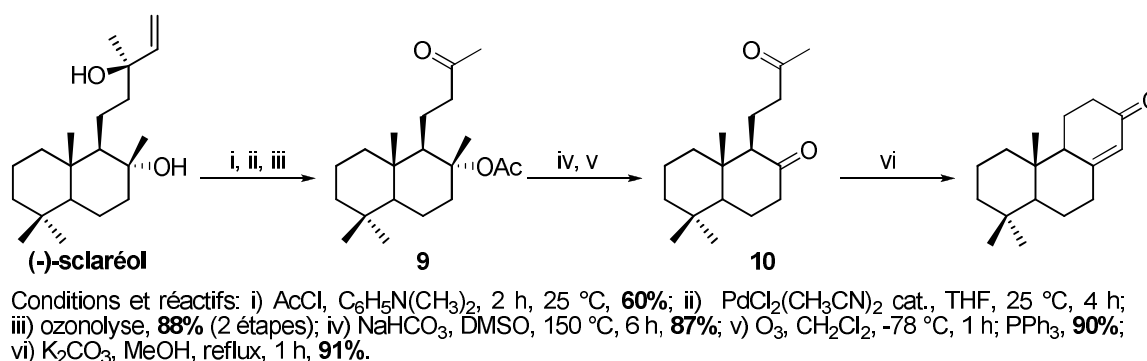
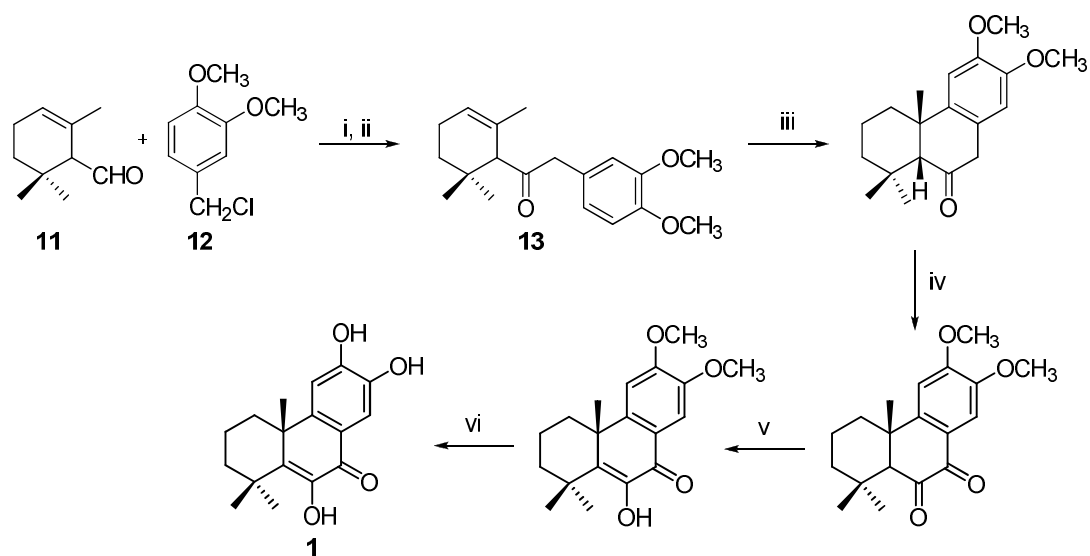


Schéma 2-4

I.2.c. Synthèse du célyphanol A

En ce qui concerne le célyphanol A, deux synthèses ont été décrites à ce jour. Elles ont été conduites selon la stratégie AC→ABC (Figure 2-8). La première d'entre elles a été effectuée en six étapes à partir de l' α -cyclocitral (**11**) et du chlorure de 3,4-diméthoxybenzyle (**12**). La formation du cycle B a été effectuée par une cyclisation intramoléculaire de la cétone **13** en présence de BF₃·Et₂O. Le composé tricyclique ainsi formé a été oxydé en position benzylique, puis placé en milieu basique. L'intermédiaire obtenu est alors déprotégé par BBr₃ pour conduire au célyphanol A sous la forme d'un mélange racémique avec un rendement global de 38% en six étapes à partir de l'aldéhyde **11** (Schéma 2-5).³⁷

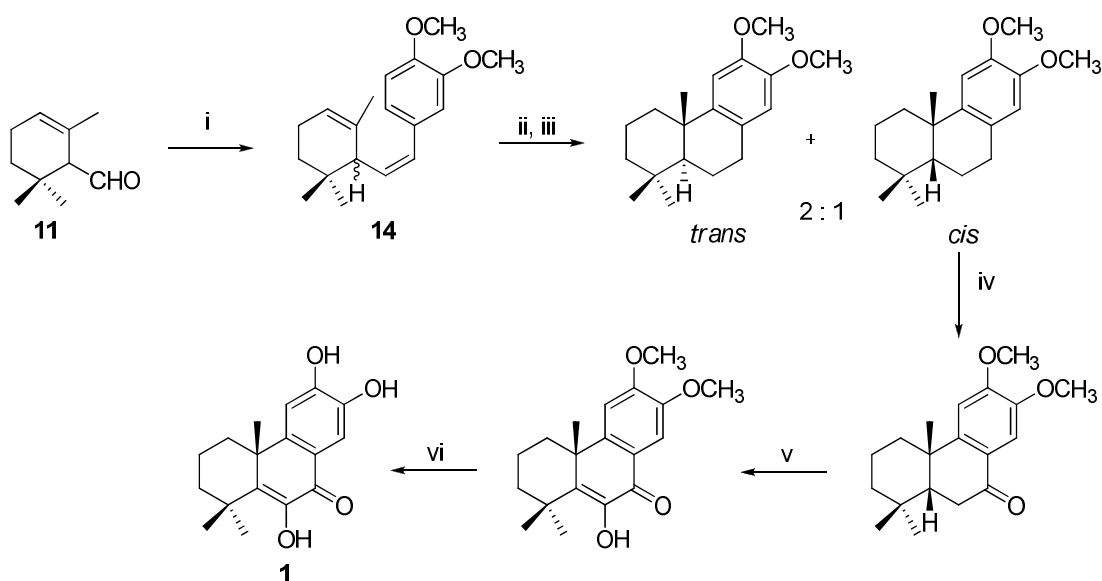
³⁷ Bie, P. Y.; Zhang, C. L.; Peng, X. J.; Pan, X. F. *Chin. Chem. Lett.* **2002**, *13*, 830-831.



Conditions et réactifs: (i) Mg, Et₂O, reflux, 2 h, **79%**; (ii) PCC, CH₂Cl₂, t.a., 2,5 h, **85%**; (iii) BF₃•Et₂O, CH₂Cl₂, t.a., **93%**; (iv) CrO₃/AcOH, t.a., 0,5 h, **90%**; (v) *t*-BuOK/*t*-BuOH, t.a., 2 h, **80%**; (vi) BBr₃, CH₂Cl₂, 0 °C, 0,5 h, **85%**.

Schéma 2-5

Plus récemment, une synthèse partant également de l'α-cyclocitral (**11**) a été décrite.²³ La réaction de Wittig entre **11** et le chlorure de 3,4-diméthoxybenzyltriphenylphosphonium conduit à l'alcène **14**, qui est alors hydrogéné, puis cyclisé par action d'un acide de Lewis, pour donner un mélange de diastéréoisomères qui sont séparés. L'isomère *cis* est ensuite engagé dans deux oxydations successives avec l'oxyde de chrome (VI) puis une déméthylation par action du tribromure de bore. **1** est ainsi obtenu avec un rendement de 16% en six étapes à partir de **11** (Schéma 2-6). Cette synthèse s'avère moins performante que la précédente à cause de la formation de diastéréoisomères qu'il a fallu séparer, seul l'isomère *cis* étant utilisable.



Conditions et réactifs: (i) *n*-BuLi, chlorure de 3,4-diméthoxybenzyltriphenylphosphonium, THF, t.a., 2 h, **75%**; (ii) H₂, Pd/C 10%, Et₂O, 30 min., **100%**; (iii) BF₃·Et₂O, CH₂Cl₂, 24 h, **84%**; (iv) CrO₃, CH₂Cl₂, t.a., 2 h, **82%**; (v) CrO₃, CH₂Cl₂, 50 °C, 2 h, **67%**; (vi) BBr₃, CH₂Cl₂, 0-5 °C, 2 h, **45%**.

Schéma 2-6

Bien que la première des deux synthèses fournisse le célyphanol A (**1**) avec un rendement global de 38% en 6 étapes, **1** a néanmoins été obtenu sous la forme d'un mélange racémique. C'est la raison pour laquelle nous avons entrepris une synthèse énantiosélective du célyphanol A.

II. Travaux réalisés

A cet effet, la construction du squelette podocarpane à partir d'un diterpène naturel de type labdane (Figure 2-9) selon une stratégie de type AB→ABC a été envisagée.

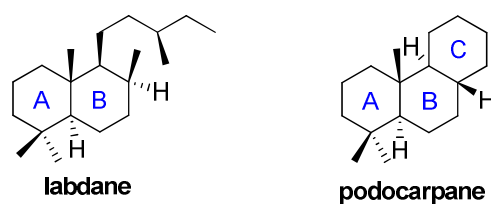


Figure 2-9 : Les squelettes labdane et podocarpane

Certains éléments présents dans la structure du podocarpane se trouvent dans le squelette des labdanes : le système *trans*-décadène, le groupement *gem*-diméthyle et le méthyle en position axiale en jonction de cycle C5-C10. Le squelette de type labdane comporte une chaîne fonctionnalisable et la coupure oxydante de cette dernière conduisant à une cétone méthylique a déjà été décrite (Schéma 2-4).³⁵ L'obtention du cycle a été effectuée par aldolisation intramoléculaire (Schéma 2-7).

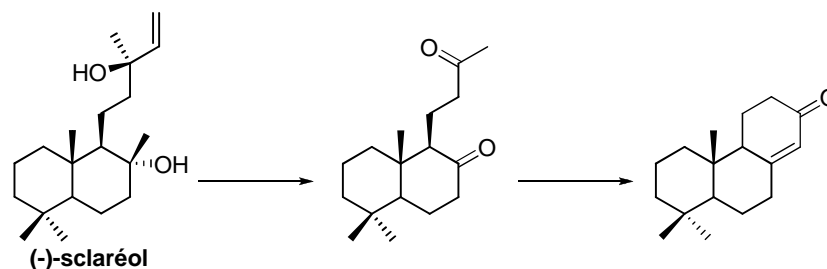


Schéma 2-7

Une telle approche a été envisagée à partir d'un labdane, issu du pool chiral, présentant une fonction oxygénée sur le cycle B que l'on retrouve dans le célaphanol A (**1**), en l'occurrence le larixol (**15**) (Schéma 2-8).

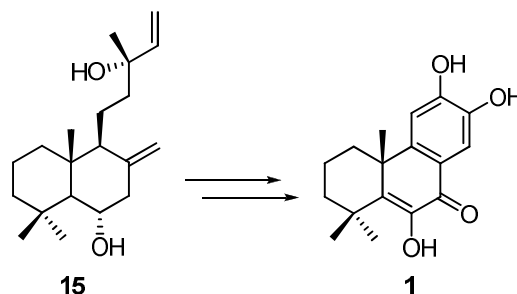


Schéma 2-8

II.1. Larixol : généralités et travaux antérieurs

Le larixol (**15**) est un labdane fonctionnalisé (Figure 2-10)³⁸ abondant (10-20 %) dans l'oléorésine de mélèze (*Larix europaea* D.C., *Larix decidua* Miller)³⁹ d'où il est facilement extrait selon le protocole de Haeuser,⁴⁰ utilisé dans notre laboratoire.

³⁸ Les labdanes sont une famille de diterpènes caractérisée par un système *trans*-décadène substituée par trois groupements méthyles en positions 4,4,10 et possédant une chaîne latérale β orientée en position 9.

³⁹ Mills, J. S. *Phytochemistry* **1973**, *12*, 2407-2412.

⁴⁰ Haeuser, J. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1965**, 2645-2648.

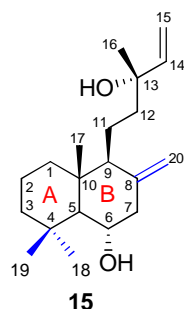


Figure 2-10 : Structure du larixol

Cette oléorésine contient, entre autres, le composé **15** et, de façon majoritaire, l'acétate de larixyle (**16**) (Figure 2-11). Afin de simplifier la purification, le brut d'extraction est soumis à un traitement basique pour saponifier l'acétate de larixyle en larixol. Ce dernier est ainsi obtenu pur par cristallisation dans le cyclohexane avec un rendement compris entre 10 et 20%.⁴¹ Ce procédé, facile à mettre en œuvre et de faible coût,⁴² permet d'avoir à disposition au laboratoire des centaines de grammes de ce labdane.

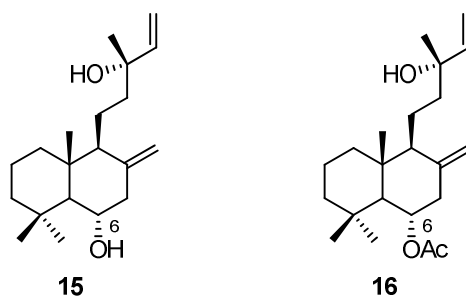


Figure 2-11 : Principaux composants de l'oléorésine de mélèze

Le larixol possède plusieurs sites susceptibles d'être fonctionnalisés (Figure 2-12) et a déjà fait l'objet de nombreux travaux.^{43,44,45,46}

⁴¹ Bolster, M.G.; Jansen, B. J. M.; de Groot, A. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 5663-5679.

⁴² L'oléorésine est commercialisée sous le nom de térébenthine de Venise.

⁴³ Lagnel, B., Thèse, Université Joseph Fourier, Grenoble, France, **2001**.

⁴⁴ Bolster, M. G., Ph. D. Thesis, Wageningen University, The Netherlands, **2002**.

⁴⁵ Aslaoui, J., Thèse, Université Joseph Fourier, Grenoble, France, **2004**.

⁴⁶ Herlem, D.; Khuong-Huu, F. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 673-680.

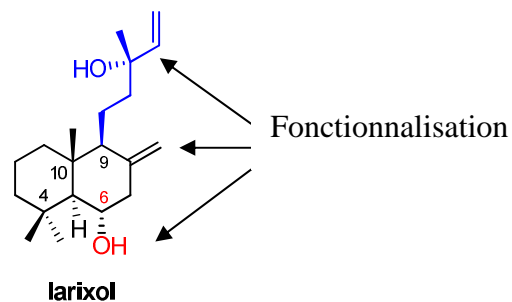


Figure 2-12 : Les différents sites fonctionnalisables du larixol

Ce labdane a été également utilisé en tant que matière première pour la préparation de produits naturels d'intérêt biologique (Figure 2-13).^{41,46,47}

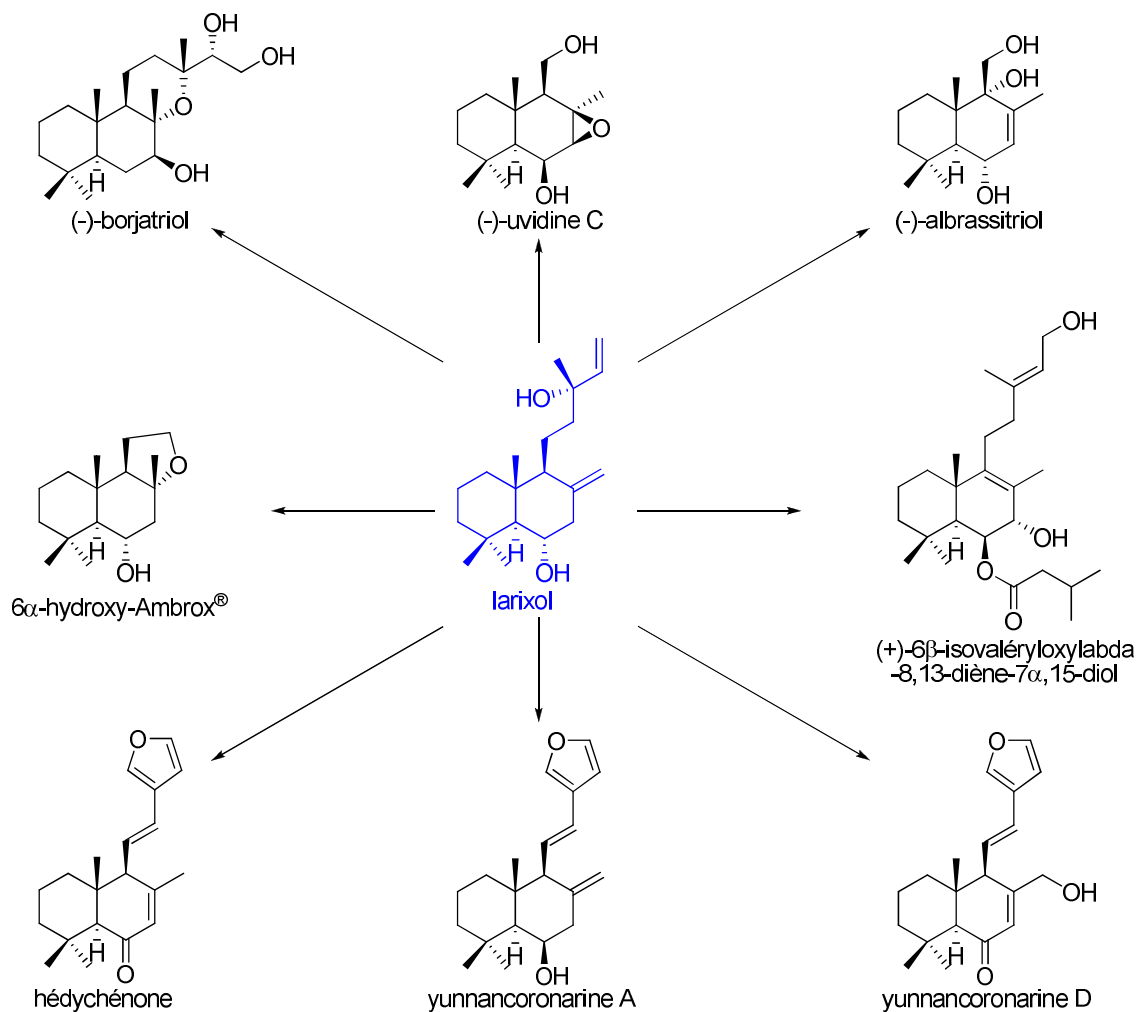


Figure 2-13 : Quelques exemples d'application du larixol en synthèse

⁴⁷ a) Lagnel, B. M. F.; Morin, C.; de Groot, A. *Synthesis* **2000**, 1907-1916. b) Pathak, A.; Aslaoui, J.; Morin, C. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4184-4187. c) Aslaoui, J.; Li, H.; Morin, C. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 1713-1716.

II.2. Rétrosynthèse

Afin de synthétiser le célyphanol A (**1**) à partir du larixol, deux voies, reposant sur un intermédiaire commun (**17**), ont été envisagées (Schéma 2-9).

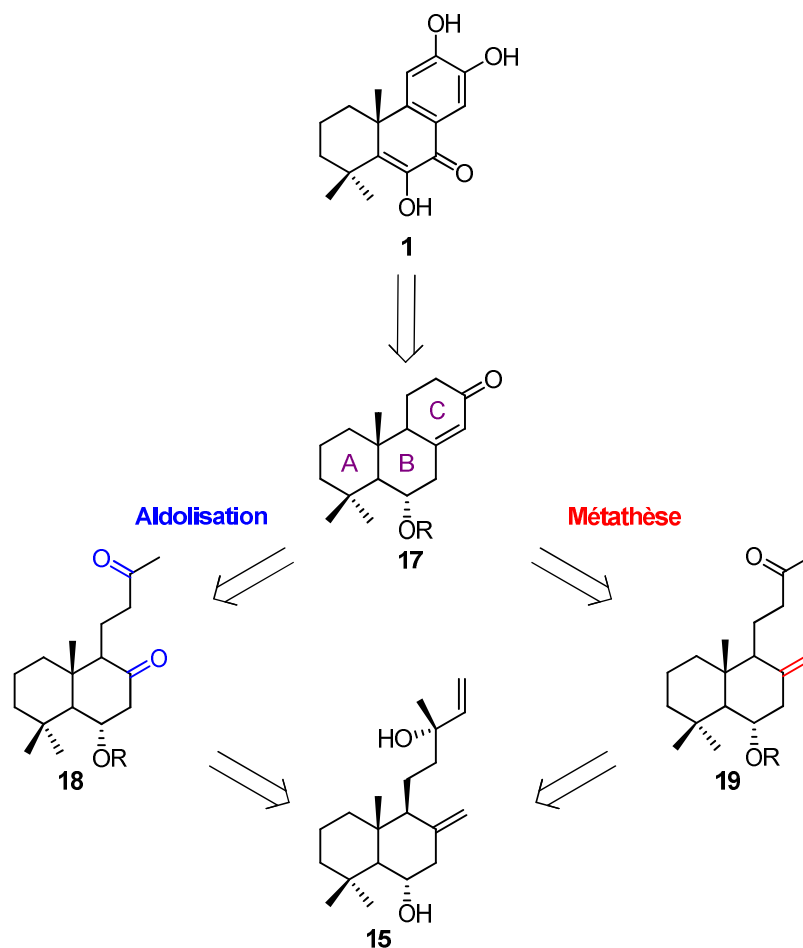


Schéma 2-9

La molécule cible **1** pourrait être obtenue après oxydation et aromatisation d'un intermédiaire clé commun **17**, qui serait synthétisé selon deux approches. En effet, la formation du cycle C pourrait résulter d'une condensation aldolique intramoléculaire de la dicétone **18** ou d'une réaction de métathèse cyclisante entre la double liaison exocyclique du cycle B et la cétone α,β -insaturée sur la chaîne de **19**. Les deux précurseurs **18** et **19** seraient préparés à partir du larixol **15**.

II.3. Construction du cycle C par aldolisation

Cette approche consiste à construire le cycle C par une réaction d'aldolisation intramoléculaire de la dicétone **18**. Pour accéder à cette dernière à partir du larixol, il est nécessaire de procéder à la protection de l'alcool secondaire, de réaliser la coupure oxydante de l'alcool allylique puis d'oxyder le méthylène exocyclique (Schéma 2-10).

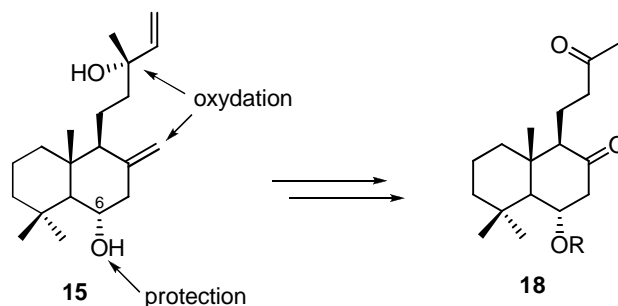


Schéma 2-10

II.3.a. Première approche

Nous avons réalisé l'acétylation sélective de l'alcool secondaire du larixol par action de l'anhydride acétique dans la pyridine. Le dérivé **16** a été obtenu avec un rendement de 89% (Schéma 2-11).⁴⁸

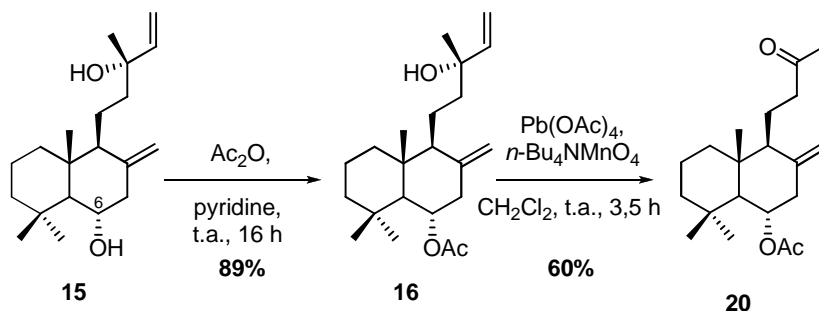


Schéma 2-11

La coupure oxydante de l'alcool allylique du dérivé **16** par action combinée du permanganate de tétra-*n*-butylammonium et du tétraacétate de plomb a permis l'obtention de la cétone **20** avec un rendement de 60% de façon reproductible à petite échelle. Pourtant, lorsque nous avons effectué cette réaction à plus grande échelle (6g),

⁴⁸ Wienhaus, H.; Pilz, W.; Seibt, H.; Dässler, H.-G. *Chem. Ber.* **1960**, *93*, 2625-2630.

nous avons remarqué une chute du rendement (35-40%), résultat qui s'explique par les difficultés expérimentales d'isolement du produit à cette échelle.

Cette transformation avait déjà été étudiée sur l'acétate de larixyle **16**. Des travaux antérieurs ont montré la possibilité d'utiliser du permanganate de potassium seul ou en présence d'un agent de transfert de phase (chlorure de triéthylbenzylammonium, sous sonication).⁴¹ Dans les deux cas, **20** a été obtenu avec de faibles rendements de 30 et 46% respectivement.^{41,43} De plus, il a été montré que l'utilisation du permanganate de tétra-*n*-butylammonium⁴⁹ et du tétraacétate de plomb a permis d'améliorer les rendements, le produit étant obtenu après simple filtration sur Célite.⁵⁰ Il est aussi connu que l'utilisation d'acide chromique dans l'acide acétique⁵¹ conduit à **20** avec un rendement de l'ordre de 60-65% mais cette réaction est difficile à conduire à grande échelle. Plus récemment, l'équipe d'Alvarez-Manzaneda a effectué cette coupure oxydante sur **16** par l'utilisation d'O₃/Pb(OAc)₄ avec un rendement de 81%,⁵² résultat que nous ne sommes cependant pas parvenus à reproduire.

La réaction ultérieure d'aldolisation de **18** se faisant généralement en milieu basique, il nous a semblé souhaitable de remplacer le groupement acétate de **20** par un groupement protecteur stable, le triéthylsilyle.

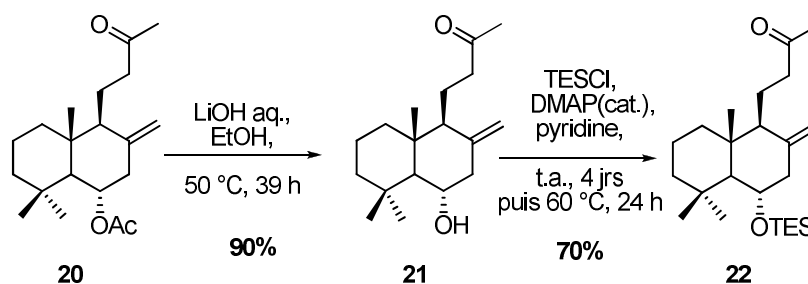
La saponification de l'acétate **20** a été évaluée en milieu acide (CF₃COOH, TsOH·H₂O) et basique (MeONa, MeOH 1 N ; NaOH aq. 1 N, 60 °C ; KOH aq. 0,1 N, EtOH, reflux) et c'est l'utilisation de la lithine dans l'éthanol qui a permis d'obtenir l'alcool **21** avec un rendement de 90% (Schéma 2-12).

⁴⁹ Il faut remarquer que l'agent de transfert de phase est dans ce cas directement porté par le réactif permettant ainsi une meilleure solubilité de l'agent d'oxydation.

⁵⁰ Dolecki, E., rapport de stage de Licence de Chimie, Université Joseph Fourier, Grenoble, France, **2002**.

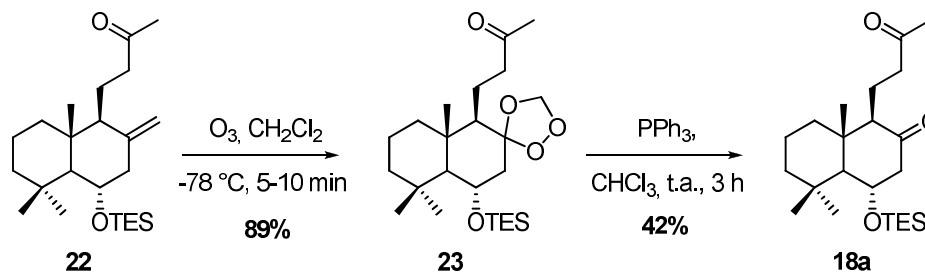
⁵¹ Morin, C.; Nedjar, N. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 4705-4706.

⁵² Alvarez-Manzaneda, E. J.; Chahboun, R.; Cano, M. J.; Cabrera Torres, E.; Alvarez, E.; Alvarez-Manzaneda, R.; Haidour, A.; Ramos López, J. M. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6619-6622.



Cette fonction alcool a été ensuite protégée par action du chlorure de triéthylsilyle dans la pyridine en présence de DMAP pour donner **22** avec un rendement de 70%.

L'obtention du dérivé dicétone **18a** a été réalisée par ozonolyse de la double liaison exocyclique de **22** (O_3 , -78 °C , CH_2Cl_2 puis Me_2S en excès, $-78\text{ °C} \rightarrow \text{t.a.}$) mais, contre toute attente, nous avons isolé l'ozonide **23** avec un rendement de 89% (Schéma 2-13).



Sa structure a été confirmée par la présence en RMN ^{13}C de signaux à 110,6 et 93,2 ppm caractéristiques des atomes de carbone du cycle 1,2,4-trioxolane (Figure 2-14).^{53,54} En RMN 1H , on remarque aussi l'apparition de deux singulets à 5,22 et 4,84 ppm correspondants aux deux hydrogènes non équivalents de l'ozonide, comme cela a déjà été observé dans des cas similaires.⁵⁵

⁵³ Les déplacements chimiques observés sont conformes à ceux attendus pour des carbones du cycle 1,2,4-trioxolane comme c'est le cas de l'ozonide du β -pinène⁵⁴ (δ : 113,8 et 92,9 ppm en RMN ^{13}C).

⁵⁴ Griesbaum, K.; Hilß, M.; Bosch, J. *Tetrahedron* **1996**, 52, 14813-14826.

⁵⁵ Schank, K.; Marson, C.; Heisel, T.; Martens, K.; Wagner, C. *Helv. Chim. Acta* **2000**, 83, 3312-3332.

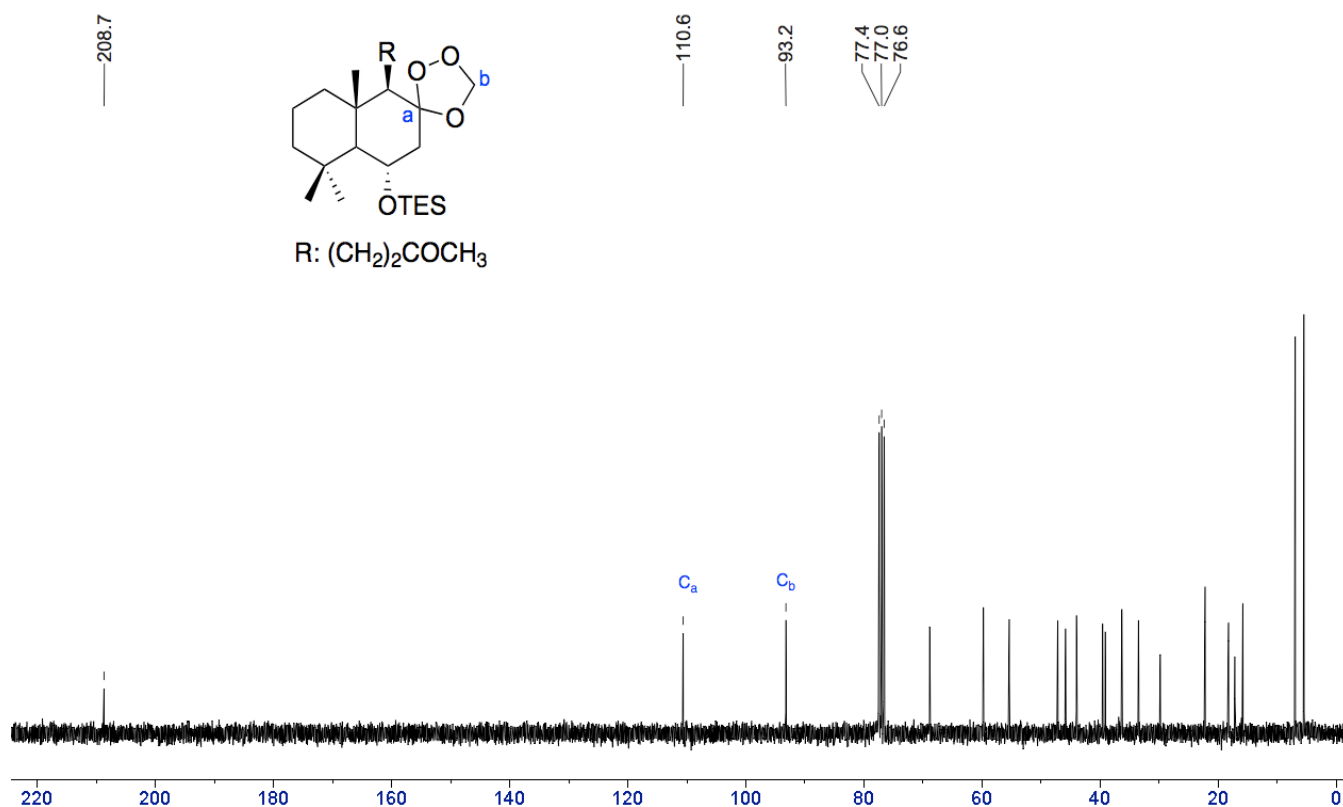
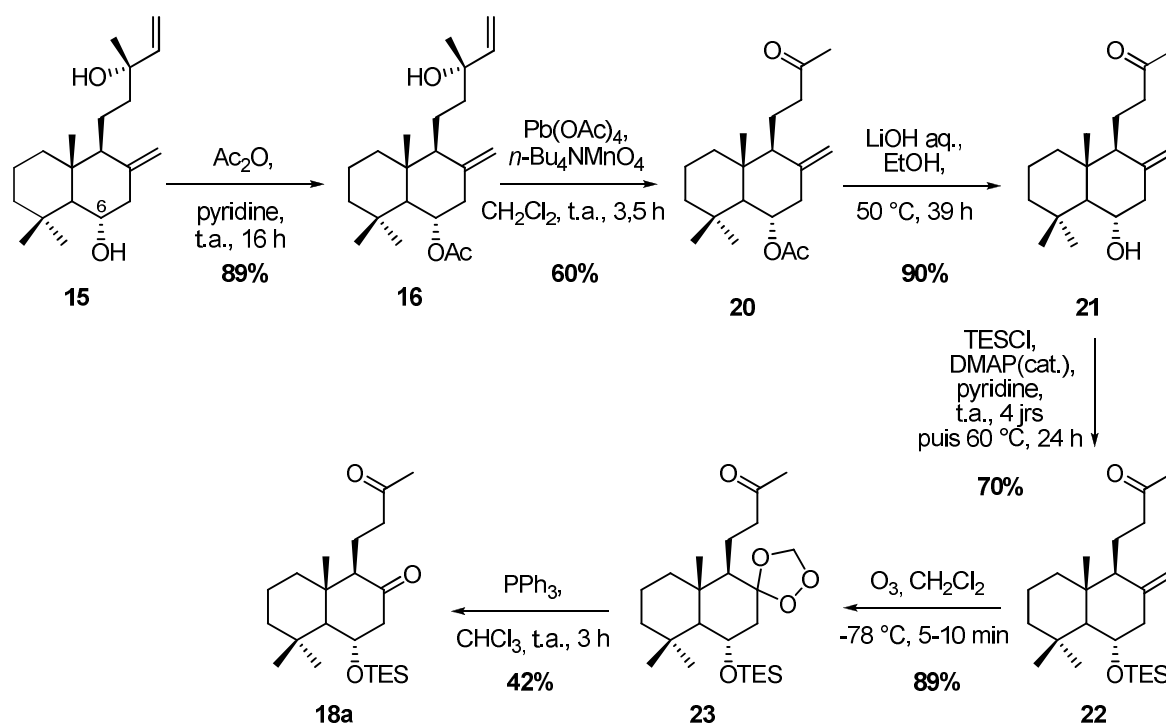


Figure 2-14 : Spectre RMN ^{13}C de l'ozonide isolé **22** (75,04 MHz, CDCl_3)

La réduction de l'ozonide **23** a été testée dans différentes conditions. Par exemple, la réduction par H_2 sur Pd/C ne conduit pas à **18a**, **23** restant inerte. Par contre, l'utilisation d'un très large excès de diméthylsulfure a permis d'obtenir la dicétone **18a** après 8 jours de réaction à température ambiante avec un rendement non optimisé de 64%. La réduction de **23** a également été conduite par action de la triphénylphosphine selon le protocole de Griesbaum et coll.⁵⁴ ce qui nous a permis d'obtenir **18a** avec un rendement de 42% en seulement 3 heures de réaction.

Le dérivé **18a** est ainsi obtenu en six étapes à partir du larixol avec un rendement de 13% comme cela est résumé dans le Schéma 2-14.



La dicétone **18a** a alors été placée dans des conditions d'aldolisation. Cette transformation pourrait sembler difficile en raison de la présence de quatre positions énolisables (Figure 2-15), mais il existe des précédents de ce type de cyclisation notamment sur un des dérivés du sclaréol (Schéma 2-4).³⁵

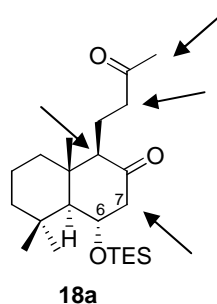
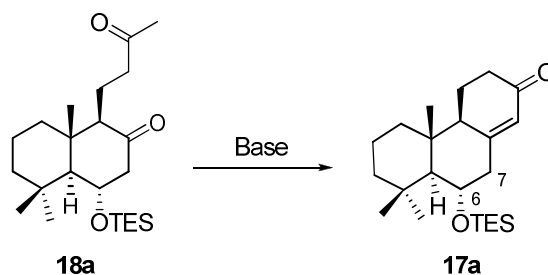


Figure 2-15 : Les différentes positions énolisables

Les essais menés en milieu basique sont rassemblés dans le Tableau 2-1.

Tableau 2-1 : Différents essais effectués pour la réaction d'aldolisation en milieu basique



Entrée	Conditions	Résultats et observations	Réf.
		Obtention d'un mélange complexe de produits : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Enone 24 (Figure 2-16) identifiable en RMN ¹H par : <ul style="list-style-type: none"> • deux doublets dédoublés caractéristiques des protons vinyliques H-6 et H-7 respectivement à 6,03 ppm ($J = 10,3$ et $3,4$ Hz) et à 6,91 ppm ($J = 10,3$ et $2,1$ Hz) • singulet à 2,12 ppm correspondant à la cétone méthylique. ▪ Produits non identifiés 	
1	5 éq. MeONa 1 M, toluène/MeOH 2:1, t.a., 5 h		56
2	5 éq. MeONa 0,95 M, MeOH, t.a., 2,5 h	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 24 ▪ Traces de 25 (Figure 2-16) 	57
3	5 éq. MeONa 0,95 M, MeOH, 5 éq. MgSO ₄ , t.a., 50 h	Dégradation de 18a	/
4	3,8 éq. KOH 1 M, MeOH, t.a., 1 h	Mélange complexe de produits: 24 + produits non identifiés	58
5	1,7 éq. KOH 3 M, EtOH, t.a., 15 h	Dégradation de 18a	59
6	2,8 éq. KOH fraîchement pulvérisé, toluène, Dean-Stark, 100 °C, 6 h	Dégradation de 18a	60
7	1 éq. LDA, THF, -78 °C, 2 h	Mélange complexe de composés contenant majoritairement 18a accompagné de l'énone 24	/

De façon générale, lorsque qu'un excès de méthylate de sodium ou d'hydroxyde de potassium est utilisé, la réaction conduit soit au produit d'élimination **24** (Figure 2-16) au sein d'un mélange complexe de produits (Tableau 2-1, entrées 1 et 4), soit à **24** accompagné de traces du dérivé tricyclique **25** (entrée 2). Ces deux produits sont des composés inattendus puisqu'ils résultent de l'élimination du groupe triéthylsilyloxy (Figure 2-16).

⁵⁶ Shi, B.; Hawryluk, N. A.; Snider, B. B. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 1030-1042.

⁵⁷ Snider, B. B.; Shi, B. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 9123-9126.

⁵⁸ Baranovsky, A. V.; Jansen, B. J. M.; Meulemans, T. M.; De Groot, A. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 5623-5634.

⁵⁹ Duhamel, P.; Hennequin, L.; Poirier, J. M.; Tavel, G.; Vottero, C. *Tetrahedron* **1986**, *42*, 4777-4786.

⁶⁰ McFadden, R. M.; Stoltz, B. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7738-7739.

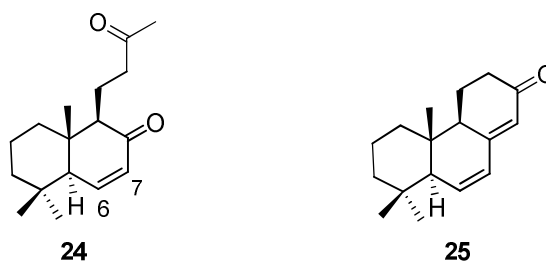


Figure 2-16 : Structures des produits **24** et **25** obtenus lors des essais de cyclisation de **18a** en milieu basique

Il faut remarquer que l'augmentation de la durée de la réaction s'accompagne de dégradation de **18a** (entrée 5). Au vu des difficultés rencontrées, il a alors été envisagé de faciliter la réaction de cyclisation en piégeant l'eau formée pour rendre la cyclisation irréversible (entrées 3 et 6) mais ceci n'a pas apporté d'améliorations.

Ces essais en milieu basique protique n'ont donc pas donné de résultats satisfaisants. Il faut remarquer que des cas similaires ont déjà été rapportés.⁵⁶ En effet, la dicétone **26** n'a conduit à la cyclisation ni en présence de pyrrolidine à 80 °C, ni en présence de KOH dans le méthanol. Par contre, lorsque **26** est traité par du LDA dans le THF à -78 °C, la cyclisation a lieu (Schéma 2-15).⁵⁶

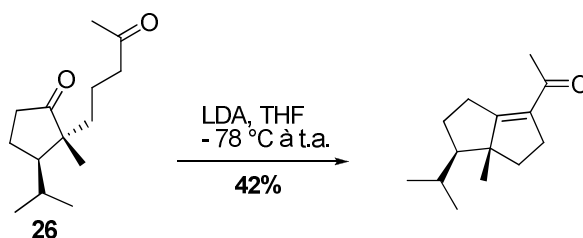


Schéma 2-15

Dans notre cas cependant, quand **18a** est mis à réagir avec du LDA (Tableau 2-1, entrée 7), le mélange obtenu est complexe.

En définitive, il s'avère que le groupement protecteur ne résiste pas aux conditions basiques puisqu'une réaction d'élimination est observée. Bien qu'il soit connu que le groupement triéthylsilyle soit labile en milieu acide, l'aldolisation a

néanmoins été évaluée dans ces conditions comme cela a été effectué dans d'autres cas (Schéma 2-16 et Schéma 2-17).^{61,62}

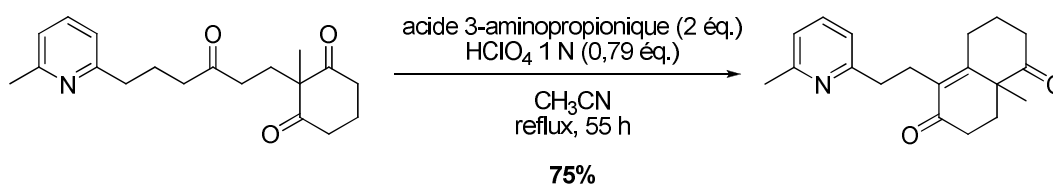


Schéma 2-16

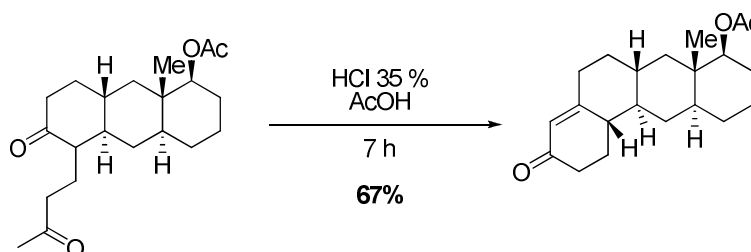
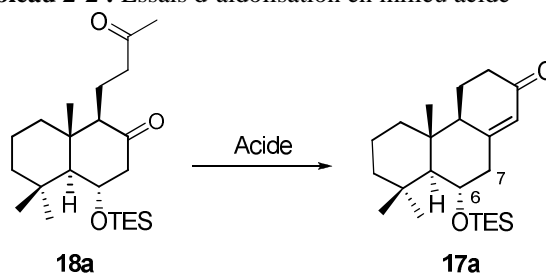


Schéma 2-17

Ces deux exemples, proches de notre cas, sont particulièrement significatifs en raison de la présence simultanée de plusieurs sites énolisables, ce qui ne défavorise pas pour autant la cyclisation.

Aussi, le dérivé silylé **18a** a été placé en milieu acide (Tableau 2-2).

Tableau 2-2 : Essais d'aldolisation en milieu acide



Entrée	Conditions	Résultats et observations	Réf.
1	9 équ. HCl 35%, AcOH, t.a., 21 h	Dégradation de 18a	62
2	1,4 équ. HCl 0,5 M, 1,4-dioxane, 60 °C, 5,5 h	24 (majoritaire)	59

Lorsque **18a** est placé en milieu acide fort (entrée 1), sa dégradation a été observée ce qui est vraisemblablement dû à des conditions trop dures. Dans des conditions plus douces (entrée 2),⁵⁹ le produit majoritaire est **24** et non pas **17a**.

⁶¹ Danishefsky, S.; Cain, P. J. *Org. Chem.* **1974**, *39*, 2925-2926.

⁶² Pitt, C. G.; Handy, R. W. *Tetrahedron* **1971**, *27*, 527-541.

Ainsi, quelles que soient les conditions utilisées (Tableau 2-1 et Tableau 2-2), l'élimination du groupement protecteur a été observée et la réaction a donc été conduite sur la dicétone **27** comportant la fonction alcool en C-6 libre ce qui n'a conduit qu'à des traces du produit cyclisé **28** (Schéma 2-18).

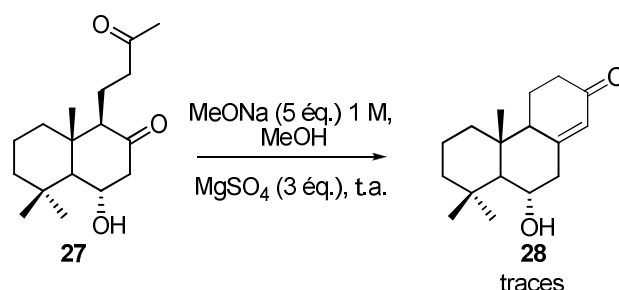


Schéma 2-18

A ce stade, en raison de la disponibilité de l'intermédiaire **20**, nous avons choisi de le transformer en la dicétone **18b** et d'évaluer la réaction d'aldolisation (Schéma 2-19).

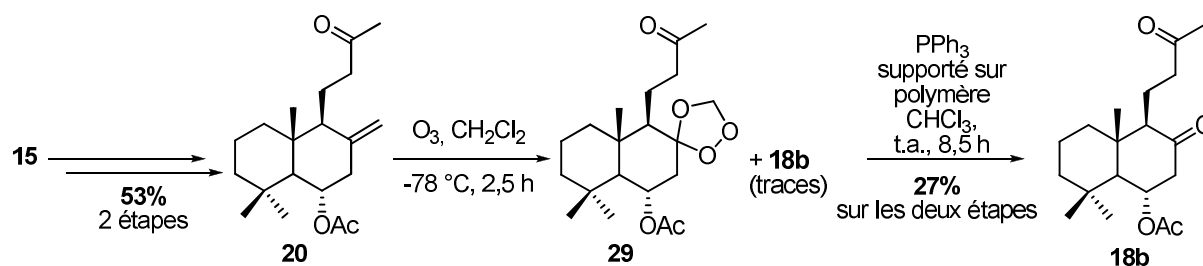


Schéma 2-19

La réaction d'ozonolyse a été effectuée sur **20** dans les conditions utilisées pour la préparation de **18a** (Schéma 2-13). Dans ce cas aussi, un ozonide **29**,⁶³ isolable mais moins stable que **23**, a été obtenu avec des traces de **18b**.

Afin de réduire l'ozonide **29**, nous avons utilisé la triphénylphosphine supportée sur polymère pour faciliter la purification.⁶⁴ Le dérivé **18b** a ainsi été préparé à partir de **20** avec un rendement de 27% sur les deux étapes. Ce faible rendement peut être expliqué par le fait que **18b** évolue sur colonne de gel de silice pour conduire au produit **24** et à des produits de dégradation, ce qui a également été observé sur colonne

⁶³ Le spectre RMN ¹³C montre la présence des signaux à 92,9 et 109,6 ppm caractéristiques de ce groupement fonctionnel.

⁶⁴ Bernard, M.; Ford, W. T. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 326-332.

d'alumine basique ou neutre. Le dérivé **18b** a été caractérisé en RMN ^{13}C par la présence d'un nouveau signal à 208 ppm, déplacement chimique caractéristique d'une cétone.

La dicétone **18b** a été engagée dans une réaction d'aldolisation en milieu basique (KOH 3 M dans l'éthanol).⁵⁹ Le brut réactionnel comporte, entre autres, l'énone **24** ainsi que le dérivé cyclique **25** (Figure 2-16). En milieu acide (HCl 0,5 M (1,5 éq.) dans le dioxane à 60 °C),⁵⁹ seul le produit d'élimination **24** et un dérivé non identifié ont été observés. Dans des conditions plus acides (9 éq. HCl 35% dans l'acide acétique à température ambiante),⁶² seule la dégradation de **18b** est observée.

Ces essais d'aldolisation effectués avec **18a**, **18b** ou **27** n'ont ainsi pas conduit aux dérivés tricycliques désirés (Schéma 2-20).

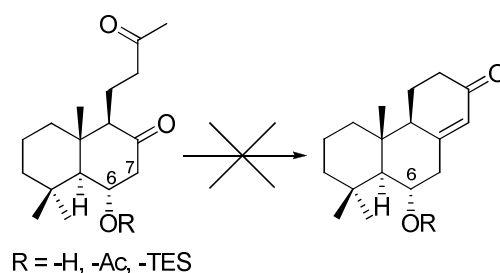


Schéma 2-20

A ce stade, le dérivé **24** (Figure 2-16) a été considéré comme un intermédiaire potentiel de synthèse même si son utilisation implique la perte de la fonction alcool initialement présente sur le larixol.

II.3.b. Modification de la stratégie de synthèse

La présence de la double liaison entre C-6 et C-7 sur le dérivé **24** peut se révéler être un avantage. En effet, dans le célyphanol A, deux fonctions oxygénées en positions 6 et 7 sont présentes et, conceptuellement, le cycle B peut être fonctionnalisé avant la formation du cycle C (Schéma 2-21).

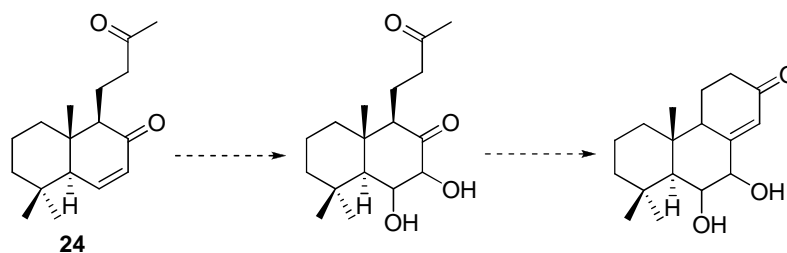
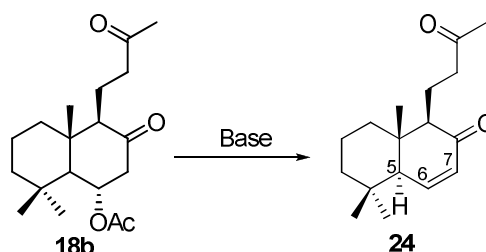


Schéma 2-21

Le composé **24** a été obtenu par élimination du groupement acétate de **18b** en milieu basique. Les différents essais qui ont été nécessaires afin de trouver les meilleures conditions sont donnés dans le Tableau 2-3.

Tableau 2-3 : Différents essais effectués pour préparer **24**

Entrée	Conditions	Résultats et observations
1	1,2 éq. DBU, THF, t.a., 16 h	Mélange 18b/24 (1:1)
2	2 éq. NEt ₃ 1M CH ₂ Cl ₂ , t.a., 26 h	Mélange 18b/24 (1:1)
3	5 éq. NEt ₃ 1M CH ₂ Cl ₂ , t.a., 87 h	Mélange 18b/24 (1:5) + impuretés
4	1 éq. MeONa 1 M MeOH, t.a., 16 h	24 et impuretés non séparables
5	Al ₂ O ₃ basique 10% en masse, CH ₂ Cl ₂ , t.a., 10 h	Mélange 18b/24 (1:1) + impuretés
6	Al ₂ O ₃ basique 10% en masse, THF, t.a., 8,5 h	Mélange 18b/24 (1:1) + impuretés
7	Al ₂ O ₃ basique 10% en masse, 1,4-dioxane, 60 °C, 17 h	Mélange 18b/24 et de nombreuses impuretés
8	Al ₂ O ₃ basique 10% en masse, 1,4-dioxane, reflux, 8 h	24 avec un rendement de 93%

L'utilisation d'un équivalent de DBU mène à un mélange de **18b** et **24** dans un rapport 1:1 (Tableau 2-3, entrée 1). Il en est de même pour l'utilisation d'un équivalent de triéthylamine dans le dichlorométhane (entrée 2). Par contre, quand un excès de triéthylamine (5 éq.) est utilisé, la proportion de **24** augmente (entrée 3).

L'utilisation d'un équivalent de MeONa dans le méthanol fraîchement préparé (entrée 4) a permis d'obtenir l'énone α,β -insaturée **24**, celle-ci étant toutefois accompagnée d'une impureté difficilement séparable.

Quand le composé **18b** est placé, en présence d'alumine basique, dans le dichlorométhane ou dans le THF⁶⁵ à température ambiante, **18b** et **24** sont obtenus dans un rapport 1:1 accompagnés de nombreuses impuretés (entrées 5 et 6). Un résultat similaire a été obtenu dans le 1,4-dioxane à 60 °C (entrée 7). Finalement, le dérivé **24** a pu être obtenu en présence d'alumine basique à reflux du 1,4-dioxane en diminuant le temps de réaction (entrée 8). Dans ces conditions, **24** a été isolé avec un rendement de 93%. La RMN ¹H a montré l'apparition de deux doublets dédoublés à 6,03 ppm ($J = 10,2$ et $2,1$ Hz) et 6,91 ppm ($J = 10,2$ et $3,3$ Hz) caractéristiques des protons H-6 et H-7.

Par la suite, nous avons testé la cyclisation de **24**. Le traitement de l'énone **24** avec 5 éq. de MeONa dans du toluène,⁵⁶ ou avec KOH, ou encore HCl dans un mélange 1:1 de 1,4-dioxane/H₂O,⁵⁹ n'ont pas conduit au résultat escompté. Par ailleurs, quand **24** est placé en présence de 5 éq. de MeONa et de 5 éq. de MgSO₄ dans du méthanol,⁵⁷ seul un produit a été observé. Différentes analyses spectrales ont été réalisées (RMN ¹H, ¹³C, Dept 135, Dept 90, masse) mais il n'a pas été possible de déterminer la structure de ce composé pour l'instant.

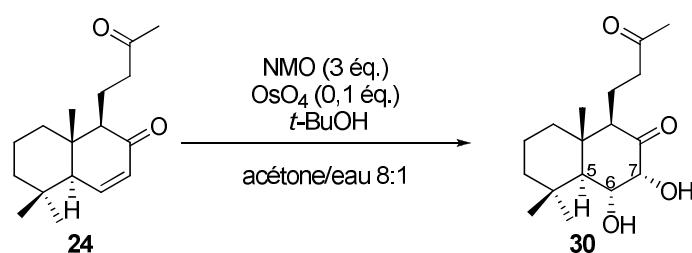
Il a alors été envisagé d'oxyder les positions 6 et 7 afin de favoriser la réaction de cyclisation attendue, selon deux approches différentes (dihydroxylation et époxydation), toutes deux basées sur la fonctionnalisation de la double liaison conjuguée. L'introduction d'un époxyde en positions 6/7 permettrait de s'affranchir de la formation de l'énolate en position 7. Le cas échéant, sa formation se traduirait par une double liaison en jonction de cycle, situation défavorisée selon la règle de Bredt.⁶⁶

Le composé **24** a donc été engagé dans une réaction de dihydroxylation de Upjohn⁶⁷ conduisant au dérivé **30**. Pour cela, les différentes variantes qui ont été testées sont résumées dans le Tableau 2-4.

⁶⁵ Hilpert, H.; Wirz, B. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 681- 694.

⁶⁶ Bredt, J. *Liebigs Ann.* **1924**, *437*, 1-13.

⁶⁷ VanRheenen, V.; Kelly, R. C.; Cha, D. Y. *Tetrahedron Lett.* **1976**, 1973-1976.

Tableau 2-4 : Essais de dihydroxylation de **24**

Entrée	Conditions	Résultats et observations	Réf.
1	1,1 éq. NMO, 0,001 éq. OsO ₄ 2,5% p/p dans <i>t</i> -BuOH, 0,75 éq. acide citrique, <i>t</i> -BuOH/H ₂ O 1:1, t.a., 48 h	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Mélange complexe de produits ▪ Traces de 30 	68
2	3 éq. NMO, 0,1 éq. OsO ₄ 2,5% p/p dans <i>t</i> -BuOH, acétone/H ₂ O 8:1, t.a., 5,5 h	Aucune réaction	69
3	3 éq. NMO, 0,1 éq. OsO ₄ 2,5% p/p dans <i>t</i> -BuOH, 0,2 éq. pyridine, acétone/H ₂ O 8:1, t.a., 4,5 h	Obtention de 30 (4% de rendement)	70

Un produit dihydroxylé a été isolé avec un très faible rendement (4%) lorsque la réaction est conduite en présence de pyridine (entrée 3).

A ce stade, nous nous sommes intéressés à la configuration des hydroxyles ce qui a été réalisé par une étude spectroscopique RMN ¹H. Le spectre a été effectué dans du chloroforme deutérié CDCl₃ auquel on ajoute quelques gouttes de D₂O pour deutérier les protons échangeables permettant ainsi l'identification de H-6 et H-7. L'irradiation sélective du proton H-7 a permis de déterminer la valeur de la constante de couplage en ³J entre les protons H-6 et H-5. Les données spectrales suivantes ont donc été obtenues pour les protons H-6 et H-7:

H-7 : 4,44 ppm (d, $J_{H7/H6} = 5,7$ Hz)

H-6 : 4,16 ppm (dd, $J_{H6/H5} = 7,0$ Hz et $J_{H6/H7} = 5,7$ Hz)

Du fait de la *syn*-addition du tétraoxyde d'osmium sur les oléfines, deux structures (Figure 2-17) peuvent être envisagées :

⁶⁸ Dupau, P.; Epple, R.; Thomas, A. A.; Fokin, V. V.; Sharpless, B. K. *Adv. Synth. Catal.* **2002**, *344*, 421-433.

⁶⁹ Alibés, R.; Bayón, P.; de March, P.; Figueredo, M.; Font, J.; Marjanet, G. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1617-1620.

⁷⁰ a) Il s'agit d'une adaptation du mode opératoire décrit par Alibés, R. et coll. (référence 69) en tenant compte de la stœchiométrie de la pyridine par rapport à la quantité d'OsO₄ engagé selon le mode opératoire décrit par Herrmann, W. A.; Eder, S. J.; Scherer, W. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1345-1347. b) Paquette, L. A. *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*; Wiley & Sons: West Sussex, 1995; pp. 3801-3805. c) Jørgensen, K. A.; Hoffmann, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 1867-1876.

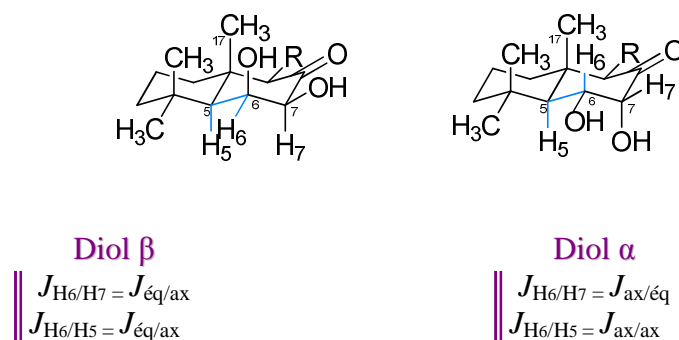


Figure 2-17 : Représentation des différents diols possibles après dihydroxylation

Les constantes de couplage sont relativement proches ($J = 7,0$ et $5,7$ Hz). Il est difficile de trancher entre les deux cas possibles. Une expérience NOESY nous a permis de confirmer le fait que l'on ait obtenu le diol α . Cette diastéréosélectivité pourrait s'expliquer par la gêne stérique induite par le méthyle angulaire CH_3 -17 qui encombre la face supérieure et facilite l'attaque par la face inférieure (Figure 2-18).

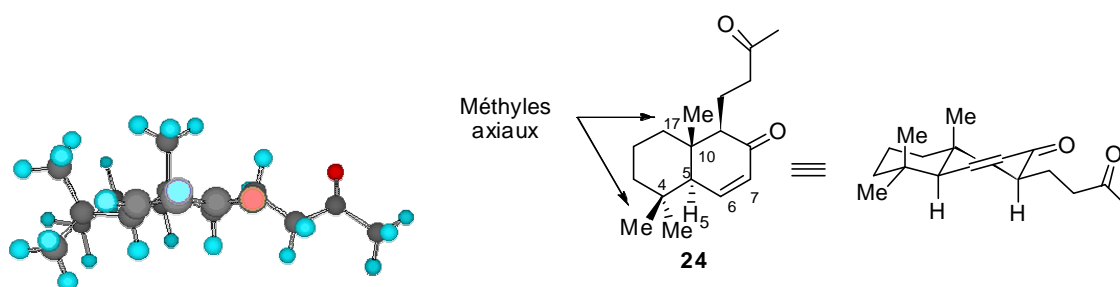


Figure 2-18: Représentation 3D de l'énone **24** (énergie minimisée par MM2)

Le dérivé **30** a été placé à température ambiante dans des conditions d'aldolisation en milieu basique (5 éq. de $\text{MeONa} / \text{MeOH}$ en présence de 3 éq. de MgSO_4 ou 3,7 éq. de KOH dans EtOH) mais une dégradation a été observée dans les deux cas. Comme de plus l'utilisation d' OsO_4 ne permet pas d'hydroxyler la double liaison avec un bon rendement, nous avons donc choisi d'époxyder la double liaison.

Ainsi, nous nous sommes intéressés à l'époxydation de **24** afin d'obtenir l'intermédiaire **31** qui après cyclisation devrait conduire au dérivé tricyclique **32** selon le Schéma 2-22.

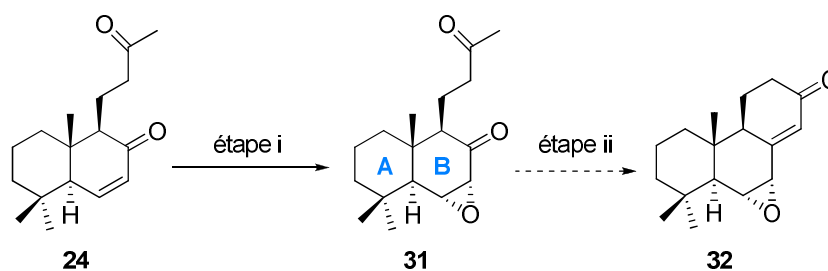
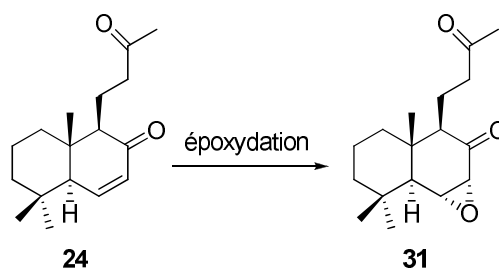


Schéma 2-22

Les conditions testées pour effectuer cette oxydation de **24** en **31** sont rassemblées dans le Tableau 2-5.

Tableau 2-5 : Différents essais effectués pour l'époxydation de **24**

Entrée	Conditions	Résultats et observations
1	12 éq. H ₂ O ₂ 35%, 1 éq. NaOH 6 N, MeOH, t.a., 4 h	24 et 31 (1:2)
2	14 éq. TBHP, 9,5 éq. KF-Al ₂ O ₃ , acétonitrile, 6 jours (t.a. pendant 56 h puis 55 °C)	Dégradation de 24
3	5 éq. Oxone [®] , solution aq. saturée en NaHCO ₃ , acétone/CH ₂ Cl ₂ 1:1, t.a., 24 h	Aucune réaction
4	160 éq. Oxone [®] , 90 éq. NaHCO ₃ , acétone/CH ₂ Cl ₂ /H ₂ O 2:1:6, t.a., 24 h	Dégradation de 24
5	1,1 éq. <i>m</i> -CPBA, 1,8 éq. NaHCO ₃ aq. 0,3 M, THF, t.a.	Aucune réaction
6	1,1 éq. <i>m</i> -CPBA, CH ₂ Cl ₂ , t.a., 16 h	Formation de deux produits non identifiés différents de 31

L'utilisation de peroxyde d'hydrogène et d'hydroxyde de sodium nous a permis, après un certain nombre d'essais basés sur les travaux de House,⁷¹ de déterminer des conditions permettant la formation d'un seul époxyde bien que dans ce cas, **24** ne soit pas entièrement consommé. En effet, un mélange de dérivés est obtenu, dans lequel deux composés sont identifiables : le substrat de départ **24** et un époxyde

⁷¹ Wasson, R. L.; House, H. O. *Org. Synth.* **1957**, 37, 58-59.

en proportions relatives (1:2) (Tableau 2-5, entrée 1). Cet époxyde a pu être isolé avec 7% de rendement et sa structure déterminée par RMN ^1H où les signaux observés à 3,38 ppm (dd, $J = 3,9$ et $1,2$ Hz) et à 3,28 ppm (d, $J = 3,9$ Hz) attribués respectivement à H-6 et H-7 sont en accord avec les données de la littérature pour de tels époxydes.^{72,73} Une analyse RMN (expérience NOESY) nous a permis de conclure à l'obtention de l'époxyde α , ce qui est en accord avec l'encombrement de la face β de **24** (Figure 2-19). Comme dans le cas de la dihydroxylation, l'attaque du réactif s'effectue par la face α la moins encombrée, ce qui conduit aux configurations observées.

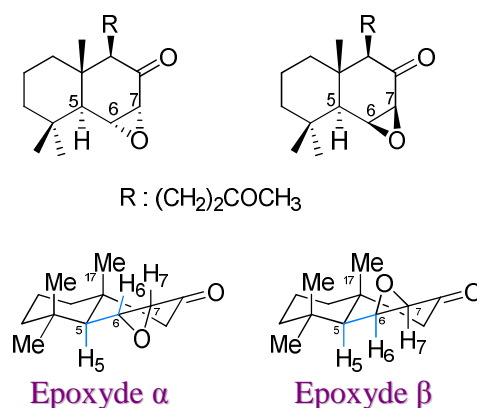


Figure 2-19 : Représentation des deux époxydes possibles

Le rendement en **31** étant faible, d'autres conditions ont été testées. Lorsque **24** est placé en présence d'hydroperoxyde de *tert*-butyle (TBHP)^{74,75} et de $\text{KF-Al}_2\text{O}_3$,⁷⁶ un mélange complexe de produits a été obtenu ne présentant pas les caractéristiques spectrales d'un époxyde (Tableau 2-5, entrée 2).

Il nous est alors apparu souhaitable de travailler dans des conditions neutres et nous avons décidé d'utiliser le diméthylidioxirane (DMDO, préparé *in situ* via l'oxydation de l'acétone par l'oxone[®]).^{77,78} Malgré l'utilisation de 2,5 éq. de DMDO, nous ne sommes pas parvenus au produit voulu et **24** reste inerte après 20 heures de

⁷² Amate, Y.; Bretón, J. L.; García-Granados, A.; Martínez, A.; Onorato, M. E.; Sáenz de Buruaga, A. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 6939-6950.

⁷³ Felix, D.; Wintner, C.; Eschenmoser, A. *Org. Synth.* **1988**, *55*, 52-57.

⁷⁴ Yadav, V. K.; Kapoor, K. K. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 8573-8584.

⁷⁵ Yadav, V. K.; Kapoor, K. K. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 9481-9484.

⁷⁶ Ando, T.; Brown, S. J.; Clark, J. H.; Cork, D. G.; Hanafusa, T.; Ichihara, J.; Miller, J. M.; Robertson, M. S. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1986**, 1133-1139.

⁷⁷ Murray, R. W.; Singh, M. *Org. Synth.* **1997**, *74*, 91-96.

⁷⁸ Cheshev, P.; Marra, A.; Dondoni, A. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 2714-2716.

réaction. Seuls quelques produits secondaires non identifiés sont observés en faible quantité (Tableau 2-5, entrée 3). Lorsque les conditions sont poussées (entrée 4),⁷⁹ c'est la dégradation de **24** qui est observée.

Le DMDO ne donnant pas les résultats escomptés, nous avons essayé une époxydation avec l'acide *m*-chloroperoxybenzoïque (*m*-CPBA⁸⁰), à pH contrôlé,⁸¹ afin de limiter une éventuelle réaction de Baeyer-Villiger favorisée en milieu acide.

L'époxydation de **24** par le *m*-CPBA en solution aqueuse de NaHCO₃⁸¹ (entrée 5) n'a pas conduit au résultat voulu, **24** restant inchangé. La réaction a alors été menée dans le dichlorométhane (entrée 6),⁴³ ce qui a conduit à la formation de deux produits non identifiés mais dont les caractéristiques spectrales ne correspondent pas à celle d'un époxyde.

En conclusion de ces expériences, seule l'époxydation avec le peroxyde d'hydrogène a permis d'obtenir l'époxyde **31** mais avec un faible rendement (7%). La molécule ainsi obtenue n'a pourtant pas été engagée dans des réactions de cyclisation, la faible quantité de produit obtenue ne le permettant pas.

A ce stade, les approches envisagées n'ont pas abouti. D'autre part, la perte de la fonction alcool présente sur le larixol ainsi que les faibles rendements obtenus pour les différentes étapes nous ont conduits à ne pas aller plus avant dans cette voie et à envisager une autre approche pour synthétiser le dérivé tricyclique. Désormais, il s'agit de former le cycle C non plus par aldolisation, mais par métathèse cyclisante.⁸²

II.4. Construction du cycle C par métathèse

Nous avons envisagé de construire le cycle C par une réaction de métathèse cyclisante mettant en jeu la cétone α,β -insaturée **19** (Schéma 2-23).

⁷⁹ Crandall, J. K.; Rambo, E. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 7027-7036.

⁸⁰ Quelles que soient les conditions utilisées, le *m*-CPBA a été préalablement traité par une solution saturée de NaHCO₃ jusqu'à un pH de 7-8 afin d'éliminer l'acide *m*-chlorobenzoïque.

⁸¹ Fringuelli, F.; Germani, R.; Pizzo, F.; Savelli, G. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1427-1428.

⁸² Hansen, T. V.; Skattebol, L.; Stenstrom, Y. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 3461-3466.

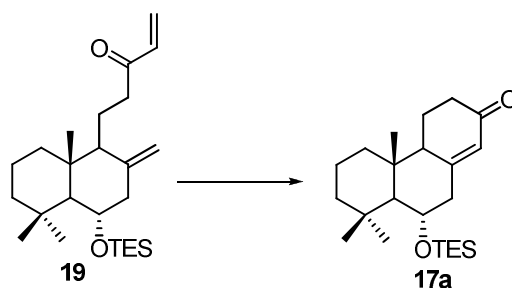


Schéma 2-23

II.4.a. Préparation de l'intermédiaire tricyclique **17a**

De façon générale, l'obtention de cétones α,β -insaturées comme **33** peut résulter de la β -élimination des sels de Mannich **34**, ou de la déshydratation d' α -hydroxycétones méthyliques **35** (Figure 2-20).⁸³ Cependant, dans chacun de ces cas, il est nécessaire de préparer les précurseurs **34** et **35**.

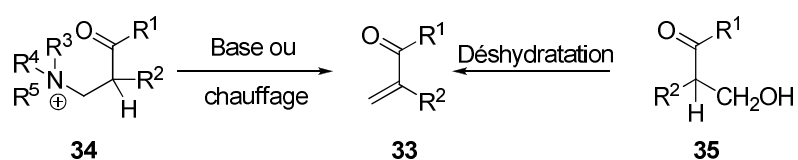


Figure 2-20 : Deux approches possibles pour la préparation de cétones vinyliques

Nous avons choisi de préparer **19** par une insertion directe d'un groupement méthylène sur la cétone méthylique **20** (Schéma 2-24).

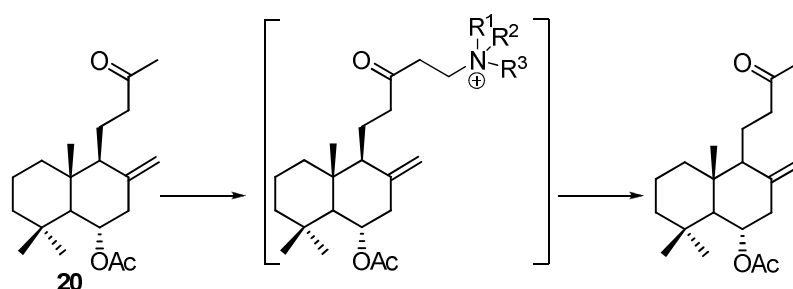


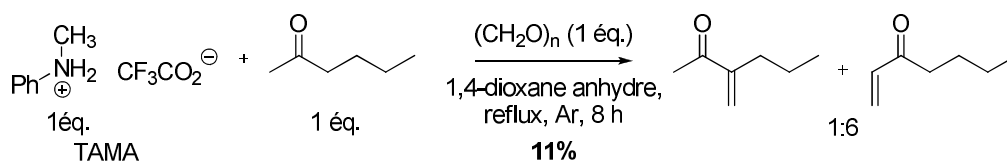
Schéma 2-24

En 1978, Gras⁸⁴ a décrit une modification de la réaction de Mannich, mettant en jeu l'utilisation du trifluoroacétate de *N*-méthylanilinium (TAMA) et du

⁸³ Rodrigues, J. A. R.; Siqueira-Filho, E. P.; de Mancilha, M.; Moran, P. J. S. *Synth. Commun.* **2003**, *33*, 331-340.

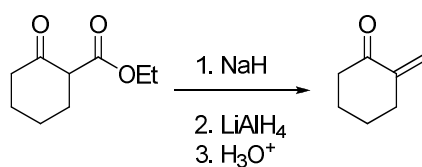
⁸⁴ a) Gras, J.-L. *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 2111-2114. b) Gras, J.-L. *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 2955-2958.

paraformaldéhyde permettant de transférer un méthylène de façon régiosélective sur une cétone méthylique (Schéma 2-25).



Bien que dans cet exemple, le rendement observé pour cette réaction soit faible, l'avantage de cette transformation est qu'elle devrait conduire à la cétone vinylique escomptée en une seule étape. Nous avons alors engagé la cétone **20** au reflux du THF en présence d'une quantité stœchiométrique de TAMA et de paraformaldéhyde pendant 16 heures, mais seul le réactif de départ a été récupéré en fin de réaction. Par ailleurs, quand la réaction est menée dans le 1,4-dioxane, **20** reste inchangé et on observe la formation d'une gomme insoluble (issue probablement de la polymérisation des réactifs). Quelles que soient les conditions (stœchiométrie des réactifs, ordre de leurs additions et variation de la température de 100 à 60 °C), nous avons toujours observé la polymérisation des réactifs, et ce, malgré le respect des recommandations de Gras (préformation de l'iminium à température ambiante ou à 60 °C avant l'ajout de **20**, ajouts successifs du TAMA).⁸⁵

La méthode précédente n'ayant pas conduit à **19**, nous avons appliqué à notre système la méthodologie développée par Marshall et coll.,⁸⁶ qui repose sur la préparation « *one-pot* » de cétones vinyliques par réduction de β-cétoesters *via* leurs énolates (Schéma 2-26).



⁸⁵ Gras, J.-L. *Org. Synth.* **1980**, 60, 88-91.

⁸⁶ Marshall, J. A.; Cohen, N. *J. Org. Chem.* **1965**, 30, 3475-3480.

De plus, la transformation d'une cétone méthylique sur la chaîne latérale d'un diterpène en β -cétoster a déjà été décrite par Alvarez-Manzaneda et coll. lors de la préparation du (+)-7-déoxynimbidiol à partir du (-)-sclaréol (Schéma 2-27).²⁵

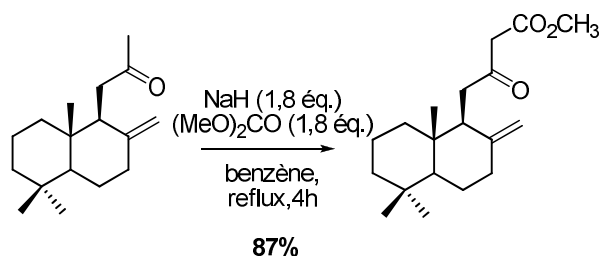
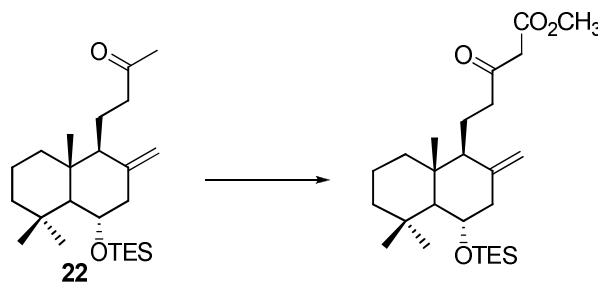


Schéma 2-27

Par conséquent, nous avons décidé de préparer le β -cétoster à partir de la méthylcétone **22**. Pour cela, un certain nombre de conditions a été évalué et les résultats obtenus sont rassemblés dans le Tableau 2-6.

Tableau 2-6 : Essais effectués pour la préparation du β -cétoster à partir de **22**

Entrée	substrat	Conditions			Temp. (°C)	Temps (h)	Résultats et observations
		NaH (éq.)	(MeO) ₂ CO (éq.)	Solvant			
1	22	1,8	1,8	benzène	reflux	4,5	Aucune réaction
2	2-octanone	2	4,4	toluène	100	2	C ₆ H ₁₃ COCH ₂ CO ₂ CH ₃
3	22	2	4,4	toluène	100	2	Aucune réaction
4	22	2	4,4	toluène	100	19	Aucune réaction
5	22	2	4,4	THF	reflux	2	Aucune réaction
6	22	2	4,4	THF + 10 % MeOH	reflux	2	Aucune réaction
7	22	2	4,4	DMF	100	2	Dégradation

Lorsque la cétone méthylique **22** est placée dans les conditions^{25,87} indiquées dans le Schéma 2-27, seul le réactif de départ est retrouvé en fin de réaction (Tableau 2-6, entrée 1).

Nous avons ensuite testé les conditions développées par Mori⁸⁸ sur la 2-octanone comme composé modèle : nous avons obtenu le β -cétoester correspondant en seulement 2 heures de réaction (entrée 2). Dans les mêmes conditions, la cétone méthylique **22** ne réagit pas (entrées 3 et 4). Nous avons alors fait varier la nature du solvant (THF, DMF). Lorsque l'on se place à reflux du THF, aucune amélioration n'est observée (entrée 5). Un résultat identique a été obtenu malgré l'activation du NaH par l'ajout d'une quantité catalytique de méthanol (entrée 6). De même, quand la réaction est menée dans le DMF, on observe de la dégradation (entrée 7).

Comme les essais de préparation directe de la cétone vinylique **19** à partir de **20** ou **22** n'ont pas donné les résultats escomptés, nous avons envisagé de synthétiser **19** via un amide de Weinreb à partir de **20** (Schéma 2-28).⁸⁹

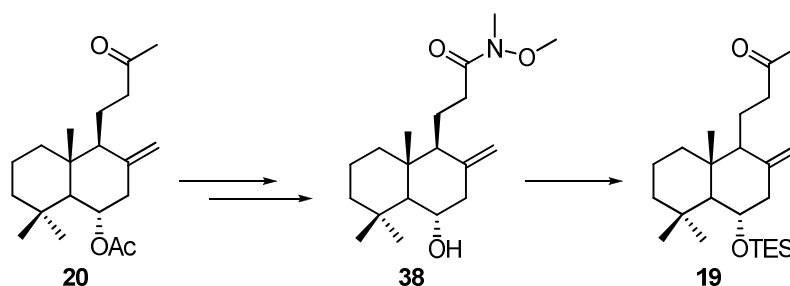


Schéma 2-28

Pour cela, nous avons transformé la cétone méthylique **20** en acide carboxylique **36** par une réaction iodoforme (Schéma 2-29).⁹⁰

⁸⁷ Laube, T.; Schröder, J.; Stehle, R.; Seifert, K. *Tetrahedron* **2002**, 58, 4299-4309.

⁸⁸ Muto, S.-E.; Mori, K. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2003**, 67, 1559-1567.

⁸⁹ Cheung, A. K.; Murelli, R.; Snapper, M. L. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 5712-5719.

⁹⁰ Fuson, R. C.; Bull, B. A. *Chem. Rev.* **1934**, 15, 275-309.

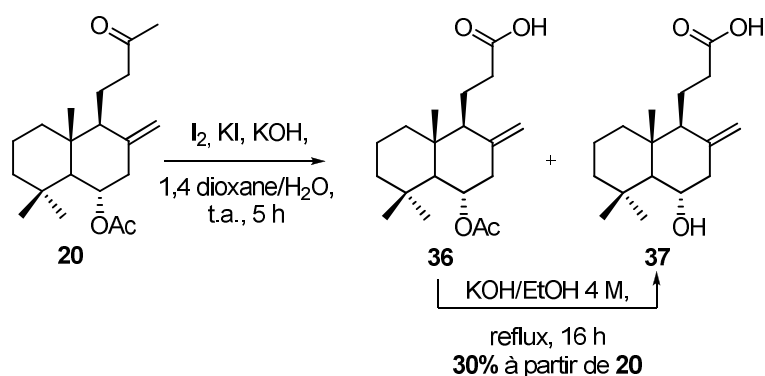


Schéma 2-29

Cette réaction a produit le mélange d'acides **36** et **37** qui a directement été saponifié pour conduire à l'hydroxyacide **37** avec un rendement de 30% sur les deux étapes. En effet, un mélange complexe de produits est obtenu en fin de réaction ce qui rend difficile l'obtention de **36**.

La transformation de **37** en **19** nécessite le passage par l'amide de Weinreb correspondant, ainsi que la protection de l'hydroxyle libre (Schéma 2-30).

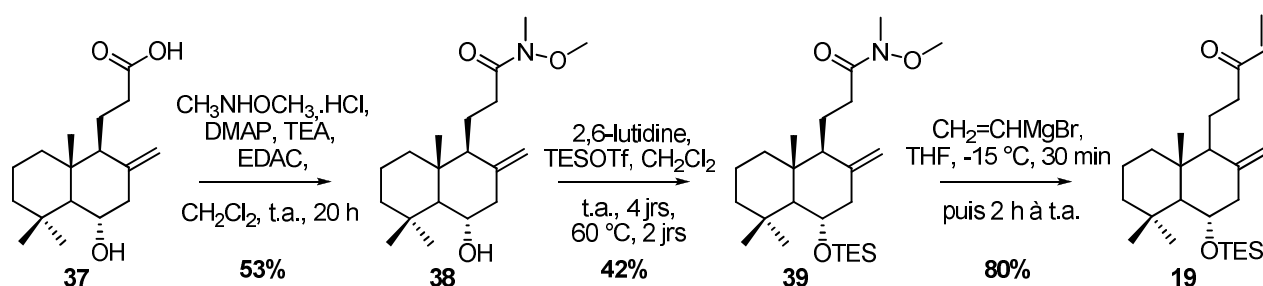


Schéma 2-30

L'amide de Weinreb **38** a été préparé par couplage avec le chlorhydrate de *N*-méthoxy-*N*-méthylamine en milieu basique et en présence de dicyclohexylcarbodiimide (DCC).⁸⁹ La séparation de **38** de la dicyclohexylurée formée s'étant révélée problématique, nous avons changé d'agent de couplage. Nous avons donc choisi d'utiliser le diisopropylcarbodiimide (DCI), connu pour former une urée plus soluble dans les solvants organiques,⁹¹ ce qui nous a permis d'obtenir **38** avec un

⁹¹ Tartar, A.; Gesquiere, J.-C. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 5000-5002.

rendement de 42%.⁹² Toutefois, ce rendement restant modeste, nous avons remplacé le DCI par le chlorhydrate du *N*-éthyl-*N'*-(3-diméthylaminopropyl)-carbodiimide (EDAC) dont l'urée est soluble en phase aqueuse. L'amide **38** a été obtenu finalement avec un rendement de 53%. Sa structure a été confirmée par un spectre de RMN ¹H qui présente les résonances caractéristiques des groupements *N*-méthyle et *N*-méthoxy à 3,16 et 3,63 ppm respectivement.

La protection de l'alcool porté par le dérivé **38** a été envisagée sous forme d'éther de silyle. Cependant, quels que soient l'agent de silylation (TMSCl ou TESCl) et la base (TEA, Pyridine, DMAP) utilisés, **38** s'est révélé inerte. Il a été nécessaire d'utiliser des conditions particulièrement fortes (3 éq. de TESOTf et 4 éq. de 2,6-lutidine pendant 6 jours) pour obtenir l'éther silylé **39** avec un rendement de 42%. Ce dernier a alors été engagé dans une réaction avec le bromure de vinylmagnésium à -30 °C pour conduire à la cétone vinylique **19** avec un rendement de 60%. La structure de **19** est confirmée par la présence, entre autres, d'un système ABX à 5,79, 6,18 et 6,32 ppm en RMN ¹H. Lorsque la réaction est menée sur une plus grande échelle (2,6 g ; 5,9 mmol), **19** a été obtenu avec un rendement de 80%.

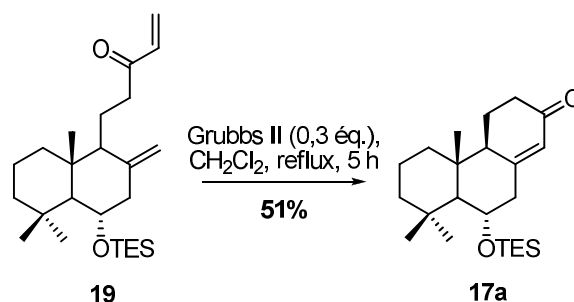


Schéma 2-31

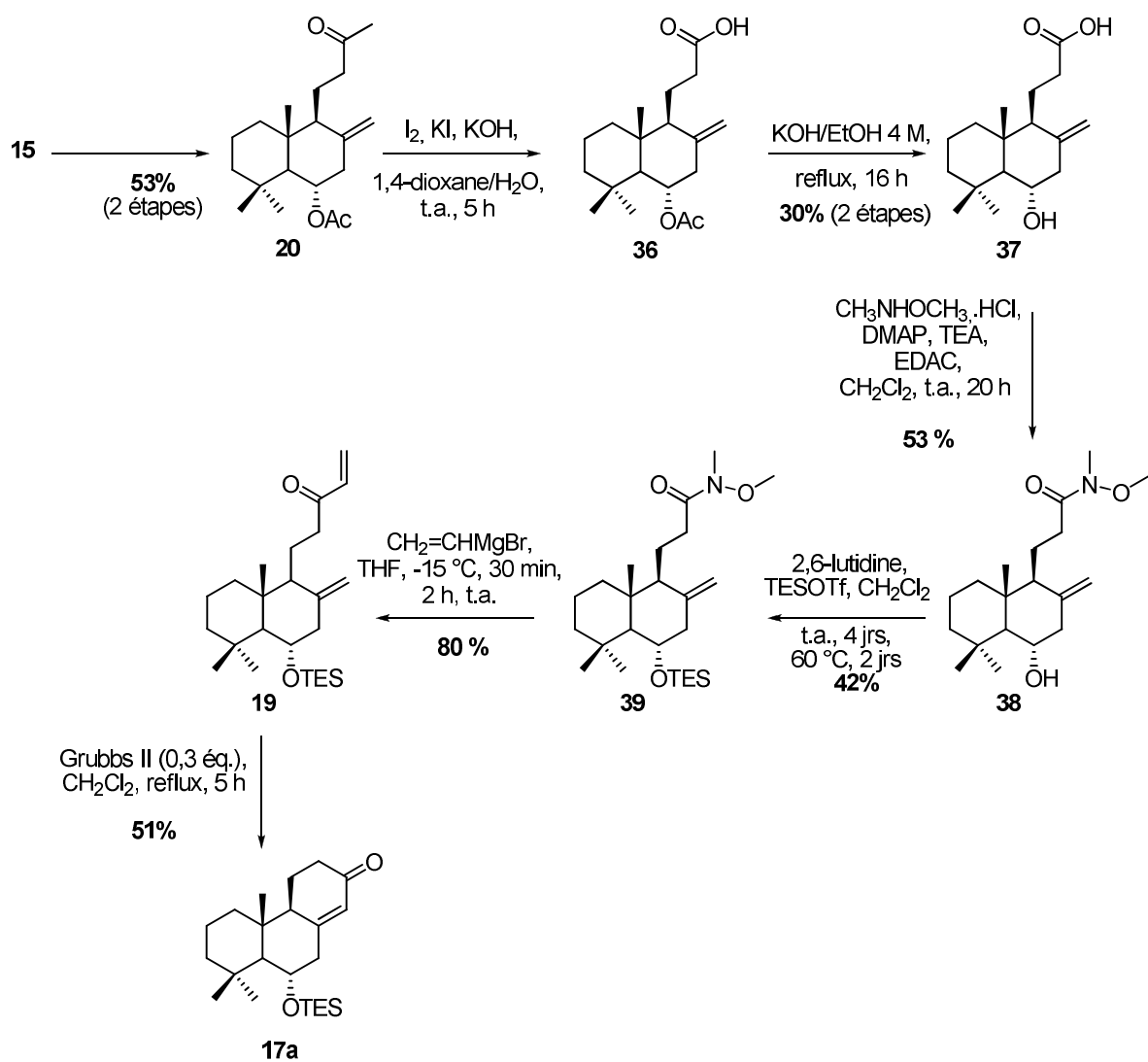
Un essai de métathèse cyclisante sur **19** (Schéma 2-31) a tout d'abord été effectué dans le toluène dégazé à 70 °C selon les conditions de Eustache et coll.,⁹³ ce qui a conduit à l'obtention du produit tricyclic **17a**, mais avec des rendements non reproductibles. Ce dérivé a été caractérisé en RMN ¹H par la présence d'un singulet à 5,79 ppm correspondant au seul proton vinylique, ainsi qu'en RMN ¹³C où on retrouve

⁹² Rohwedder, B., Thèse, Université de Lausanne, Lausanne, Suisse, **1997**.

⁹³ Rodeschini, V.; Boiteau, J.-G.; Van de Weghe, P.; Tarnus, C.; Eustache, J. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 357-373.

seulement les trois signaux attendus pour une énone cyclique (199,2, 163,2 et 126,0 ppm). La réaction a alors été menée dans du dichlorométhane dégazé et trois ajouts successifs de 0,1 éq. du catalyseur de Grubbs II ont été nécessaires pour consommer la totalité de **19**. Le produit tricyclique **17a** a ainsi été obtenu avec un rendement de 51%.

En résumé, la cétone vinylique **19** a été obtenue en cinq étapes à partir de la cétone méthylique **20**. De plus, l'obtention du dérivé tricyclique **17a** a permis de valider la voie de synthèse envisagée. Nous avons ainsi effectué la conversion du squelette labdanique du larixol **15** en un podocarpane par une méthode jusqu'alors non décrite. Toutefois, le rendement global en **17a** est de 1,1% à partir du larixol (8 étapes), ce qui nous a conduits à optimiser certaines des étapes en s'assurant de leur reproductibilité (Schéma 2-32).



Sch\u00e9ma 2-32

II.4.b. Optimisation de l'accès au podocarpane

Cet aspect du travail a été conduit dans deux directions : l'amélioration d'étapes particulières et le choix de l'ordre dans lequel elles doivent être menées.

i. Optimisation des étapes

Passage de **20** à **37** (Schéma 2-33)

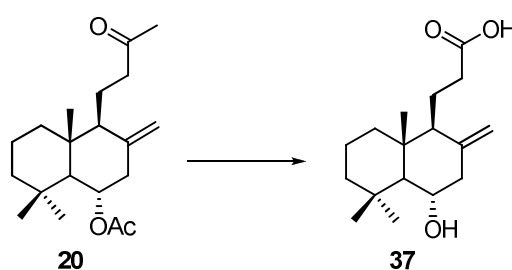


Schéma 2-33

Quelles que soient les conditions utilisées pour la réaction iodoforme,^{51,94} l'obtention de **36** s'avère difficile (voir page 38). En conséquence, nous avons testé l'équivalent en série bromée (réaction bromoforme).⁹⁵ Les modifications réalisées au niveau du traitement de la réaction (utilisation de HCl 1 N à la place de HCl 12 N, et extraction du brut dans l'éther éthylique⁹⁶) nous ont permis d'obtenir un mélange d'acides **36** et **37**, dans un rapport variable selon les différents essais, mais avec un rendement amélioré. La maîtrise de cette réaction nous a permis de réaliser cette transformation sur une échelle de 6 g de **20** (18,9 mmol) et a conduit à un mélange de **36** et **37** dans un rapport de 1:1,3 avec un rendement de 55%. Un tel rendement est en accord avec les données de la littérature qui font état de rendements de l'ordre de 50% lorsque la cétone méthylique présente plusieurs positions énolisables (Figure 2-21).⁹⁷

⁹⁴ Chen, F.-E.; Huang, Y.-D.; Fu, H.; Cheng, Y.; Zhang, D.-M.; Li, Y.-Y.; Peng, Z.-Z. *Synthesis* **2000**, 2004-2008.

⁹⁵ Staunton, J.; Eisenbraun, E. J. *Org. Synth.* **1962**, 42, 4-7.

⁹⁶ Une première extraction du brut organique permet d'éliminer le substrat de départ qui n'a pas réagi. Les phases aqueuses ainsi obtenues sont acidifiées jusqu'à pH 1-2 et une nouvelle extraction conduit à l'obtention des acides **36** et **37**.

⁹⁷ Quadbeck-Seeger, H.-J.; Fliege, W.; Tonne, P. U.S. Patent 3,994,897, **1976**.

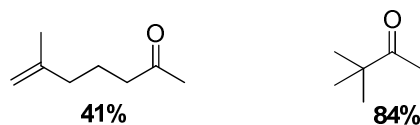


Figure 2-21 : Comparaison des rendements obtenus pour des cétones comportant un ou plusieurs sites énolisables

Le mélange des acides **36** et **37** a été directement engagé dans une réaction de saponification selon des conditions modifiées.⁹⁸ La saponification est réalisée avec une solution aqueuse de lithine 1 N (10 éq.) à la place de l'hydroxyde de potassium et **37** a été obtenu avec un rendement compris entre 87 et 95%.

Passage de 37 à 39 (Formation de l'amide de Weinreb *O*-silylé en C-6, Schéma 2-34)

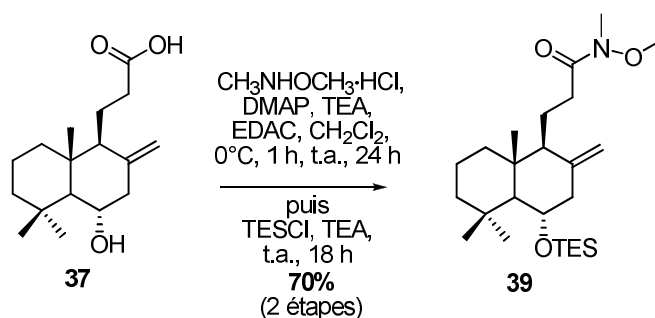


Schéma 2-34

La formation de l'amide de Weinreb *O*-silylé en C-6 **39** a été décrite précédemment en deux étapes (amidation puis silylation) avec un rendement faible de 22% à partir de **37**. Par contre, lorsque ces deux étapes sont effectuées « *one-pot* », l'amide **39** est obtenu avec un rendement de 56% à partir de 30 mg (0,093 mmol) de **37**. La réaction a été validée sur une échelle cent fois supérieure. En effet, quand 9,33 mmol de **37** sont engagées, **39** est obtenu avec un rendement de 70%.

⁹⁸ Frey, J.; Proemmel, S.; Armitage, M. A.; Holmes, A. B. *Org. Synth.* **2006**, 83, 209-216.

Passage de **19** à **17a** (Métathèse cyclisante, Schéma 2-35)

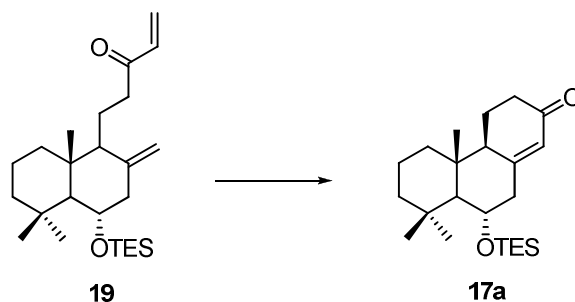


Schéma 2-35

Reprenant les premiers essais, une diminution de la quantité de catalyseur (0,1 éq. ajouté en deux fois) a permis de réduire la formation de produits secondaires et d'obtenir **19** avec un rendement de 66% à grande échelle (1,8 g, 4,6 mmol) et ce, de manière reproductible. Toutefois, nous ne sommes pas parvenus à éviter complètement la formation d'impuretés ni à obtenir une conversion complète du substrat de départ.

ii. Evaluation de l'ordre des transformations

Quatre transformations sont nécessaires pour préparer l'amide *O*-silylé en C-6 **39** à partir de la cétone méthylique **20** : réaction bromoforme, saponification, silylation et amidation. Aussi, nous avons évalué la permutation de ces étapes afin de trouver la voie la plus efficace (Schéma 2-36).

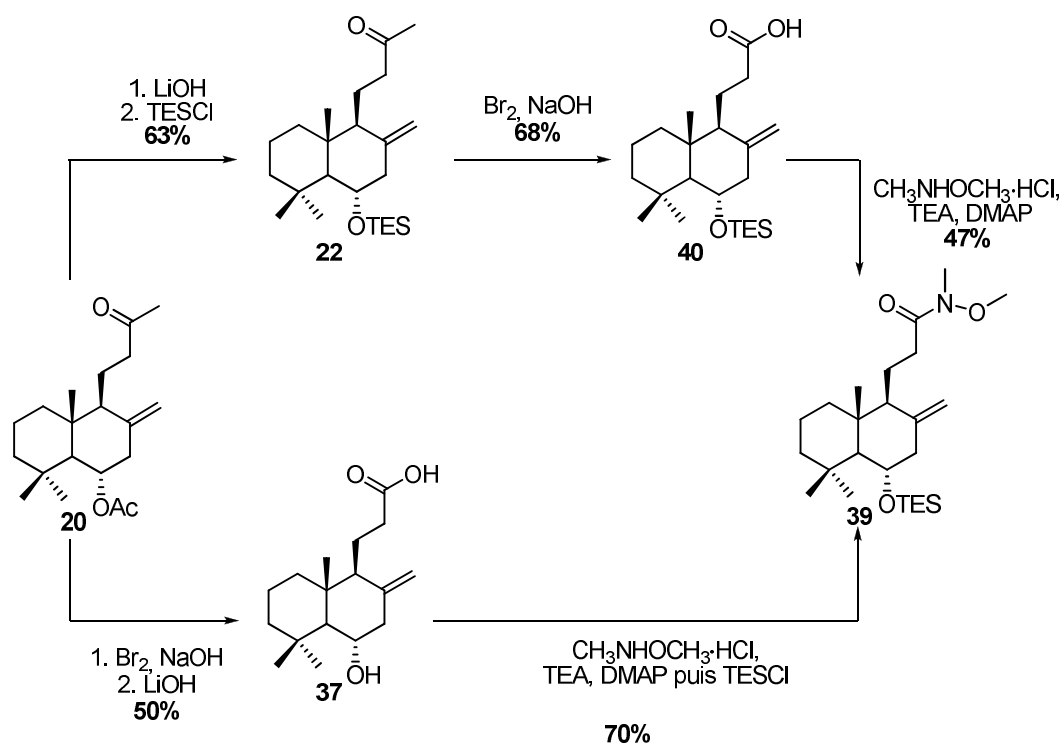


Schéma 2-36

Il a été montré précédemment (Schéma 1-10) que **22** peut être obtenu à partir de **20** (saponification puis silylation). L'action du brome en milieu basique (réaction bromoforme) a alors conduit à l'acide **40** isolé avec un rendement de 68%. Cependant, le rendement d'obtention de **39** à partir de ce dernier reste moyen (47%). Ainsi, par cette voie, le composé **39** est obtenu en quatre étapes avec un rendement de 20%.

Par contre, quand l'hydroxyacide **37**, préparé en deux étapes à partir de **20**, est engagé dans une séquence d'amidation/silylation « *one-pot* », l'amide **39** est obtenu en 3 étapes avec un rendement de 35%. En conséquence, nous avons poursuivi notre travail avec cette dernière voie, la première approche n'apportant pas d'améliorations.

Ainsi, le dérivé tricyclique **17a** est obtenu à partir du larixol **15** en 7 étapes (Schéma 2-37) avec une amélioration du rendement global (10% vs 1,1%) ainsi que du rendement moyen par étapes (72%/étapes vs 53%/étapes).

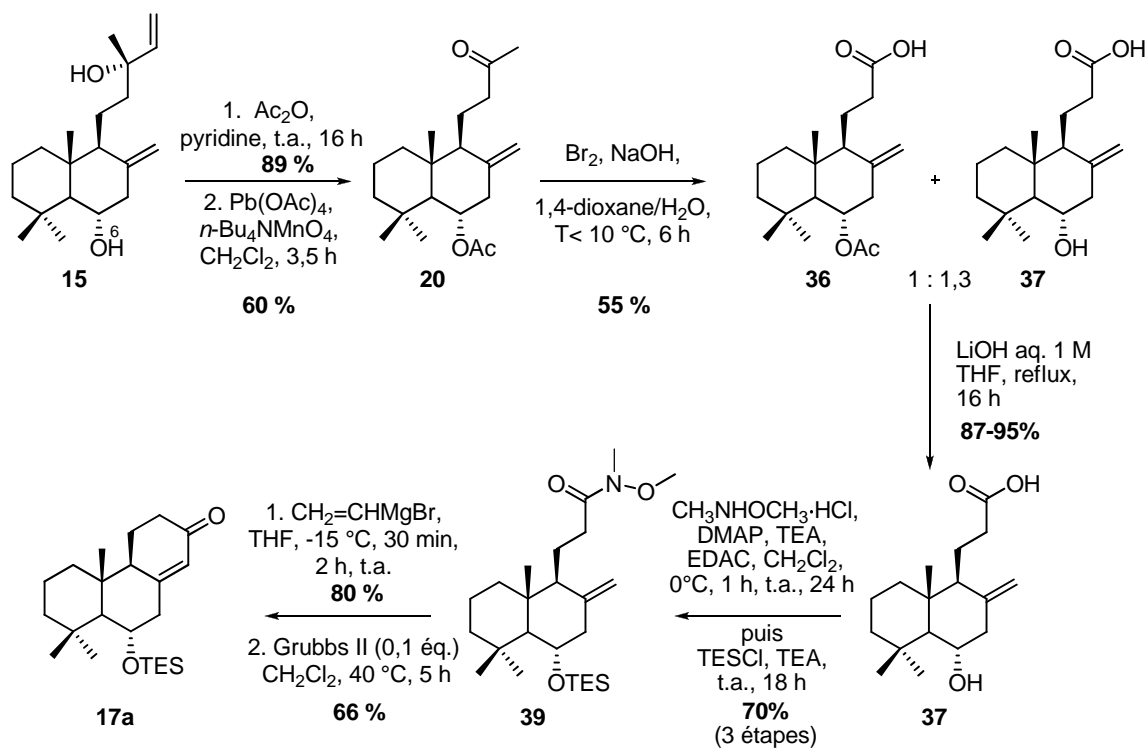


Schéma 2-37

II.4.c. Fonctionnalisation du dérivé tricyclique 17a.

Ayant désormais une voie d'accès à **17a**, nous nous sommes intéressés à sa fonctionnalisation afin d'obtenir le célyphanol A. Pour cela, nous avons envisagé la série d'oxydations suivante (Schéma 2-38).

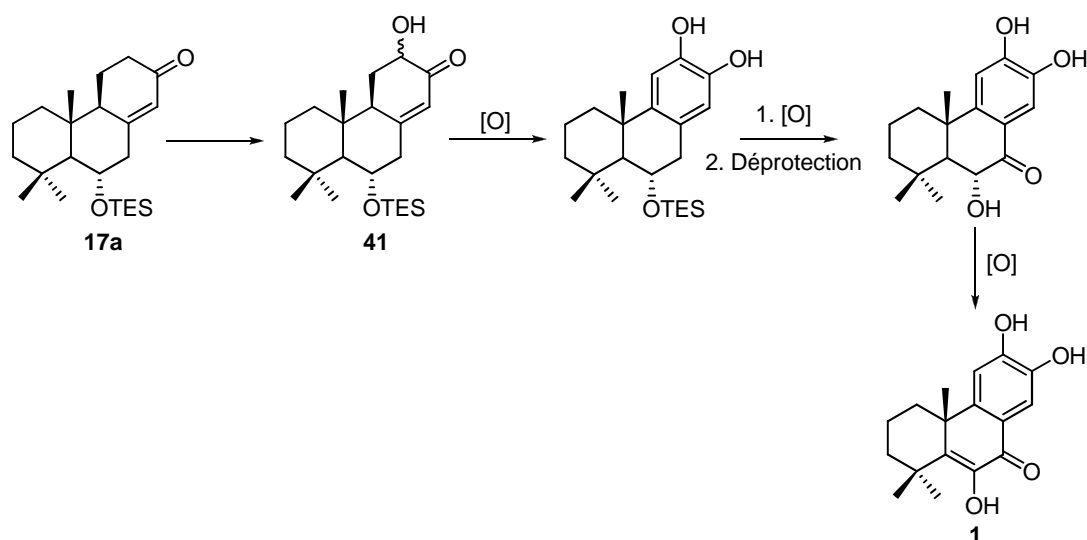


Schéma 2-38

La première étape consiste à synthétiser le dérivé hydroxylé **41** par oxydation régiosélective du méthylène en α' du carbonyle. Tout d'abord, nous avons choisi de travailler avec l'acétate de manganèse (III) $\text{Mn}(\text{OAc})_3$, ou avec le tétraacétate de plomb $\text{Pb}(\text{OAc})_4$, qui permettent l'insertion d'un groupement acétate dans la position voulue. L'hydrolyse de ce dernier conduit alors à la fonction hydroxyle (Schéma 2-39).⁹⁹

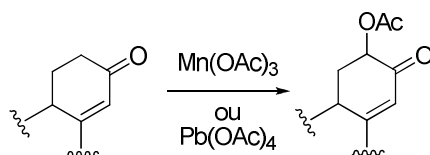


Schéma 2-39

Selon le protocole décrit par Demir, lorsque **17a** est traité par $\text{Mn}(\text{OAc})_3$ préalablement séché,¹⁰⁰ aucune réaction n'est observée.⁹⁹ Par ailleurs, l'utilisation de $\text{Pb}(\text{OAc})_4$, dans les conditions décrites par Arseniyadis et coll.,¹⁰¹ conduit à un mélange de diastéréoisomères acétylés avec de faibles rendements et du réactif de départ **17a**. N'ayant pas obtenu les résultats escomptés, nous n'avons donc pas cherché à optimiser cette réaction et nous avons envisagé la préparation de **41** par d'autres méthodes. Récemment, Aleixo et coll. ont développé une méthode basée sur la préparation régiosélective des dianions des *N*-tosylhydrazones qui, après traitement avec de l'oxygène moléculaire, conduisent à des α' -hydroxyénones.¹⁰² Le piégeage du carbanion par l'oxygène moléculaire étant délicat à petite échelle, cette réaction a été testée sur un composé modèle qui présente une cétone α,β -insaturée du même type que celle qui nous intéresse. C'est la raison pour laquelle nous avons tout d'abord préparé la *N*-tosylhydrazone de l'isophorone **42**.¹⁰³ Le dianion de **42** formé par traitement avec le complexe TMEDA/*n*-BuLi dans le THF à -78°C est alors placé en présence d'oxygène moléculaire pour conduire à l' α' -hydroxytosylhydrazone **43** (Schéma 2-40).

⁹⁹ Demir, A. S.; Jeganathan, A. *Synthesis* **1992**, 235-248 et les références citées.

¹⁰⁰ Conformément aux recommandations de la littérature, une attention particulière a été apportée au séchage de $\text{Mn}(\text{OAc})_3$, la présence d'eau tendant à diminuer les rendements. Williams, G. J.; Hunter, N. R. *Can. J. Chem.* **1976**, *54*, 3830-3832.

¹⁰¹ Sanchez Fernandez, E. M.; Candela Lena, J. I.; Altinel, E.; Birlirakis, N.; Barrero, A. F.; Arseniyadis, S. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 2277-2290.

¹⁰² Aleixo, A. M.; Baptistella, L. H. B. *Synth. Commun.* **2002**, *32*, 2937-2950.

¹⁰³ Le mode opératoire utilisé pour la préparation de l'hydrazone est une modification de la méthode décrite par : Newkome, G. R.; Fishel, D. L. *Org. Synth.* **1970**, *50*, 102-103.

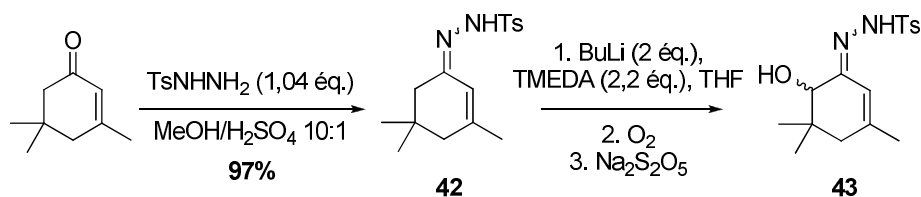
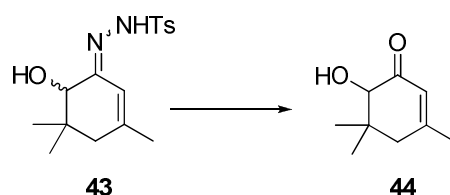


Schéma 2-40

Ayant obtenu le dérivé **43**, nous avons testé différentes conditions pour obtenir l' α -hydroxyénone **44** (Tableau 2-7).

Tableau 2-7 : Essais effectués pour l'hydrolyse de la tosylhydrazone **43**

Entrée	Conditions	Résultats et observations	Réf.
1	0,25 équ. APTS, THF/H ₂ O 10:1, t.a., 2 h	Aucune réaction	102
2	1,1 équ. acide acétique, THF/H ₂ O 10:1, t.a., 1,5 h	Aucune réaction	102
3	1,7 équ. DDQ, CH ₂ Cl ₂ /H ₂ O 4:1, t.a., 3 h	Dégradation	104
4	1,5 équ. IBX, THF/DMSO 3:1, t.a., 6 jrs	Dégradation	105
5	3 équ. KMnO ₄ , silice « humide » (wet silica), t.a., 1 h	Aucune réaction	106
6	12 équ. HCl 37%, THF/H ₂ O 2:1, t.a., 16 h	Dégradation	/
7	10 équ. HCl 1 N, EtOH 95%, t. a., 24 h	Obtention de 44 quantitativement	/

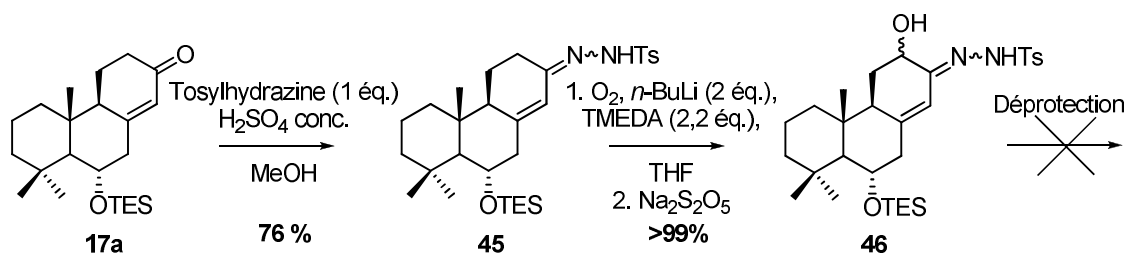
Parmi les conditions évaluées, l'obtention de **44** n'a été possible que lorsque la *N*-tosylhydrazone **43** est traitée par de l'acide chlorhydrique 1 N (entrée 7).

Nous avons ensuite préparé la *N*-tosylhydrazone **45** à partir de **17a** avec un rendement de 76% selon la procédure de Newkome et coll.¹⁰³ Puis, l' α '-hydroxytosylhydrazone **46** a été obtenue d'après les conditions rapportées par Aleixo¹⁰² et directement placée en milieu acide dans les conditions d'hydrolyse de la tosylhydrazone sur le composé modèle. Cependant, seule la dégradation de **46** a été observée (Schéma 2-41).

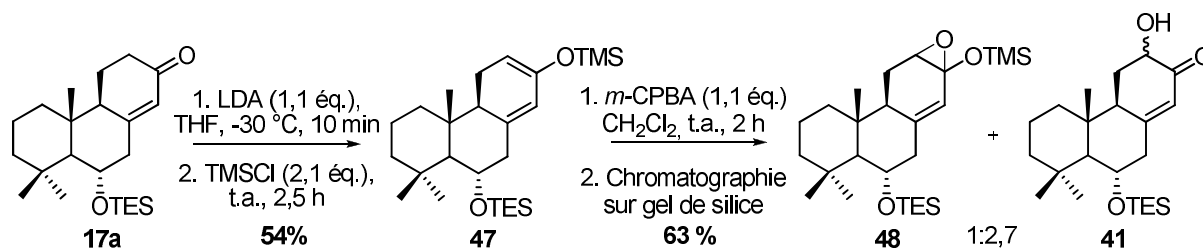
¹⁰⁴ Chandrasekhar, S.; Raji Reddy, Ch.; Venkat Reddy, M. *Chem. Lett.* **2000**, 29, 430-431.

¹⁰⁵ Bose, D. S.; Srinivas, P. *Synlett* **1998**, 977-978.

¹⁰⁶ Hajipour, A. R.; Adibi, H.; Ruoho, A. E. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 4553-4555.

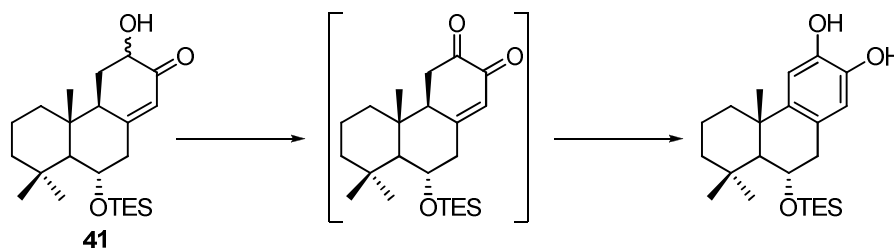


Au vu des ces résultats, nous avons donc décidé d'utiliser une hydroxylation selon les conditions de Rubottom.¹⁰⁷ Cette réaction repose sur la préparation d'un éther d'énol silylé à partir d'une cétone puis de son époxydation (Schéma 2-42). L'intermédiaire ainsi obtenu est placé en milieu acide pour conduire à l'hydroxycétone correspondante. L'éther d'énol silylé **47** a été obtenu avec un rendement de 54% après traitement de **17a** par du LDA fraîchement préparé puis piégeage avec du chlorure de triméthylsilyle (TMSCl). Le dérivé **47** a été caractérisé en RMN ¹H par la présence d'un signal à 4,60 ppm (correspondant à un proton vinylique) et d'un signal à 0,17 ppm relatifs aux groupements méthyles portés par un atome de silice. L'éther d'énol **47** a alors été engagé sans purification dans une réaction d'époxydation avec l'acide *mé*ta-chloroperbenzoïque pour conduire, après purification, au mélange des dérivés **41** et **48** avec un rendement de 63% dans un rapport 2,7:1.



L'hydroxycétone **41** ayant ainsi pu être isolée, des essais d'oxydation ont été conduits (Tableau 2-8).

¹⁰⁷ a) Rubottom, G. M.; Gruber, J. M. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 1051-1056. b) Rubottom, G. M.; Gruber, J. M. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 1599-1602.

Tableau 2-8 : Différents essais d'oxydation de **41**

Entrée	Conditions	Résultats et observations	Réf.
1	5 éq. MnO ₂ , toluène, 45 °C, 16 h	Aucune réaction	/
2	4 éq. BaMnO ₄ , toluène, reflux, 4,5 h	Aucune réaction	108
3	2,6 éq. IBX, toluène/DMSO 2:1, 3 h	Dégradation de 41	109

L'oxydation de **41** par action du MnO₂ ou du BaMnO₄ dans le toluène n'a pas donné le produit voulu ; le produit de départ a été récupéré inchangé (entrées 1 et 2). Par ailleurs, l'oxydation avec l'IBX n'entraîne que la dégradation de **41** (entrée 3).

A partir de l'époxyde **48**, produit principal de la réaction de Rubbotom, le diol **49** a été obtenu quantitativement. Des essais d'oxydation par le PCC dans le CH₂Cl₂,¹¹⁰ ou par BaMnO₄ dans le toluène,¹⁰⁸ n'ont conduit qu'à la dégradation de **49** (Schéma 2-43).

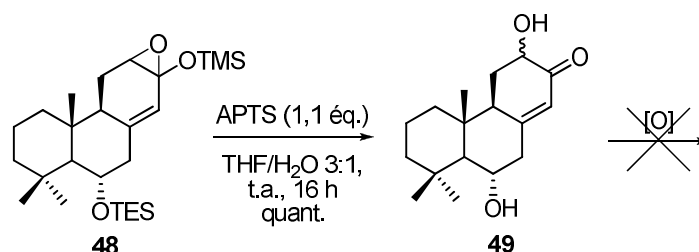


Schéma 2-43

En résumé, nous avons réussi à introduire un groupement hydroxyle en position α' de la fonction énone de **17a**. Les premiers essais d'oxydation de **41** n'ayant pas abouti, il sera nécessaire de poursuivre nos travaux afin d'obtenir la molécule cible.

¹⁰⁸ Firouzabadi, H.; Mostafavipoor, Z. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1983**, *56*, 914-917.

¹⁰⁹ Nicolaou, K. C.; Zhong, Y.-L.; Baran, P. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7596-7597.

¹¹⁰ Corey, E. J.; Suggs, J. W. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 2647-2650.

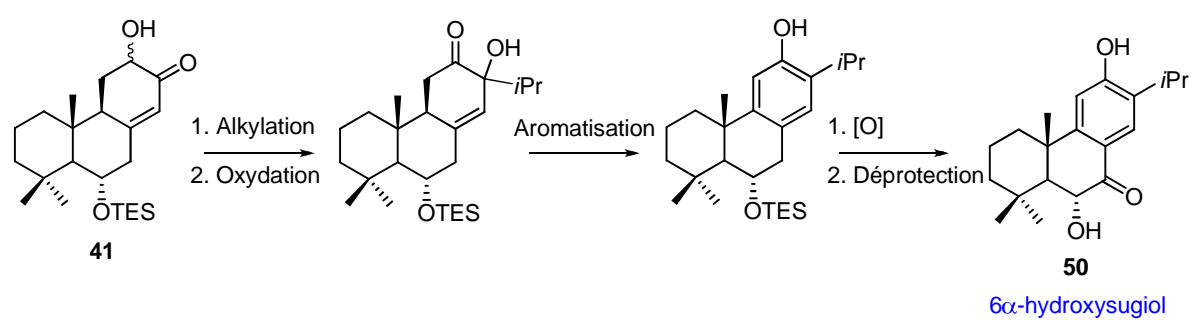


Schéma 2-44

Chapitre 3

Préparation d'hétéroquinones pour l'inhibition de phosphatases et de réductases

Ce chapitre comporte deux axes distincts. Le premier est consacré à la préparation d'hétéroquinones comme agents anti-cancéreux potentiels (inhibiteurs de phosphatases) et le deuxième à la synthèse d'hétéroquinones en tant qu'antiparasitaires (inhibiteurs d'oxydo-réductase). Après avoir présenté cette famille de quinones, nous développerons les travaux relatifs aux thèmes considérés.

I. Les hétéroquinones

I.1. Généralités

Cette classe de composés brièvement présentée au chapitre 1 concerne les quinones qui possèdent un noyau hétérocyclique directement fusionné au squelette carboné.¹ L'intérêt qui leur est porté peut s'expliquer par l'importance de l'activité biologique de certaines hétéroquinones naturelles. Cette propriété peut également être identifiée pour des hétéroquinones synthétiques.²

D'un point de vue structural, la plupart des quinones hétérocycliques naturelles comporte un atome d'azote ou d'oxygène et sont généralement considérées comme des métabolites secondaires. Par ailleurs, les deux principales sources d'hétéroquinones sont des champignons du genre *Streptomyces* et des plantes du genre *Cyperus*. Parmi les hétéroquinones naturelles, on peut citer la mitomycine C et la streptonigrine, deux composés (Figure 3-1) qui présentent des activités antibiotiques et antitumorales et qui ont fait l'objet d'une attention soutenue.²

¹ Baxter, I.; Davis, B. A. *Quart. Rev.* **1971**, *25*, 239-263.

² Tszin, Y. S.; Chernyak, S. A. *Pharm. Chem. J.* **1982**, *16*, 435-445.

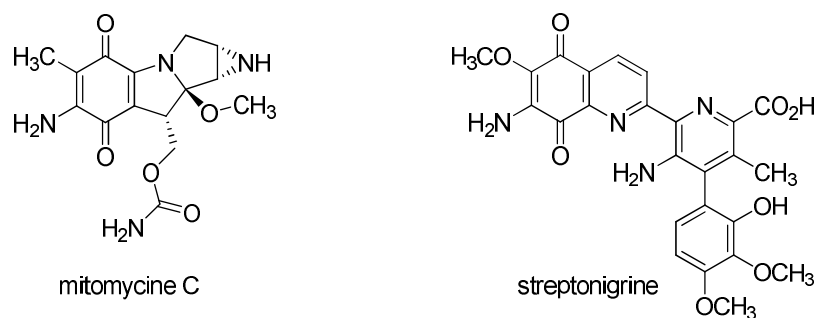


Figure 3-1 : Exemples d'hétéroquinones isolées de champignons du genre *Streptomyces*.

On peut également trouver des hétéroquinones possédant un atome d'oxygène comme l' α -lapachone, l'antibiotique U-58431 ou encore la kalafungine (Figure 3-2). Le premier dérivé peut être isolé de plantes alors que les deux autres sont produits par des bactéries du genre *Streptomyces* (*S. helicus* et *S. tahashiensis* respectivement).²

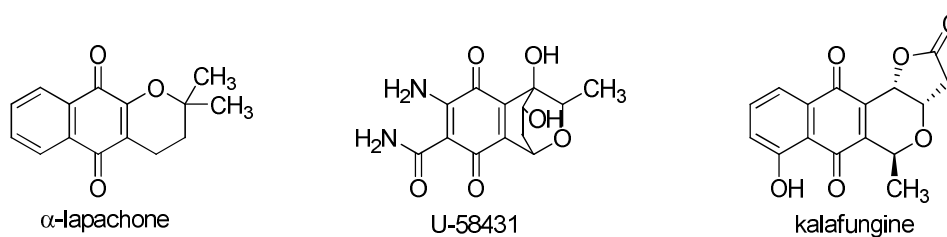


Figure 3-2 : Hétéroquinones naturelles en série oxygénée

Par ailleurs, seules quelques hétéroquinones naturelles comportent un atome de soufre. A titre d'exemple, on peut citer la caldariellaquinone, une benzo[*b*]thiophène-quinone, isolée de la bactérie *Caldariella acidophila* (Figure 3-3).³

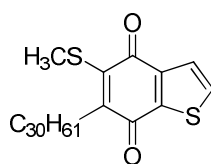


Figure 3-3 : caldariellaquinone

I.2. Activités biologiques

Les hétéroquinones présentent des activités biologiques diverses telles que des propriétés anticancéreuses, antifongiques ou encore antibactériennes. Quelques exemples seront présentés par la suite.

³ De Rosa, M.; Gambacorts, A.; Minale, L. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1975**, 392-393.

Par exemple, des dérivés indoliques comme la mitomycine C (Figure 3-1) ou le composé RB 95629 (Figure 3-4) sont des agents antitumoraux, RB 95629 présentant une IC₅₀ de 3 nM sur la lignée tumorale A549 (cancer du sein).

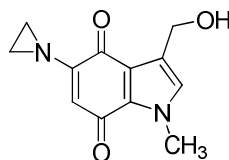


Figure 3-4 : Structure de RB 95629

En tant qu'agents antifongiques et antibactériens, on peut citer le dérivé **51** et la furanonaphtoquinone **52** (Figure 3-5). Le premier se trouve être plus actif que la flucytosine, composé de référence vis-à-vis de différentes espèces de *Candida* ainsi que d'*Aspergillus niger*⁴ alors que le second agit en tant qu'antichlamydien.⁵ Par ailleurs, la 5-*n*-undécyl-6-hydroxy-4,7-dioxobenzothiazole (UHDBT)⁶ est connue pour inhiber les transferts électroniques au sein des cytochromes mitochondriaux chez les levures et les bactéries.

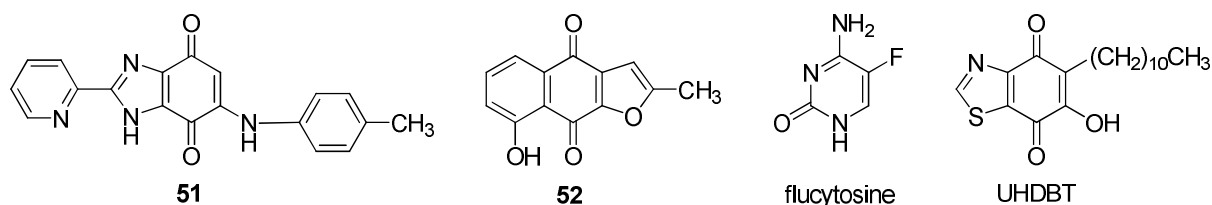


Figure 3-5 : Exemples d'hétéroquinones présentant des activités antifongique et antibactérienne

II. Synthèse d'hétéroquinones inhibitrices des phosphatases CDC25

Afin d'identifier des inhibiteurs des phosphatases CDC25,⁷ nous avons choisi de préparer des quinones hétérocycliques dont l'activité sera par la suite évaluée

⁴ Ryu, C.-K.; Song, E.-H.; Shim, J.-Y.; You, H.-J.; Choi, K. U.; Choi, I. H.; Lee, E. Y.; Chae, M. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 17-20.

⁵ Koyama, J. *Recent Pat. Anti-Infect. Drug Discovery* **2006**, *1*, 113-125.

⁶ Ryu, C.-K.; Lee, S.-K.; Han, J.-Y.; Jung, O.-J.; Lee, J. Y.; Jeong, S. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 2617-2620.

⁷ Garuti, L.; Roberti, M.; Pizzirani, D. *Curr. Med. Chem.* **2008**, *15*, 573-580.

(collaboration avec C. Garbay, Université de Paris). L'exposé des résultats obtenus sera précédé d'une introduction générale sur les phosphatases CDC25 et les inhibiteurs déjà identifiés pour cette famille d'enzymes.

II.1. Généralités sur les phosphatases CDC25

Dans le cycle de division cellulaire des cellules eucaryotes, les transitions entre les différentes phases sont régulées par l'activation des complexes enzymatiques kinases cyclines-dépendantes (CDK)-cyclines. Les complexes CDK sont gardés inactifs par la phosphorylation de deux résidus par les kinases WEE1 et MYT1 (Figure 3-6).⁸ Mais, lorsque l'activation des CDKs est requise pour la progression dans la phase suivante du cycle cellulaire, elle est effectuée par une déphosphorylation réalisée par les phosphatases CDC25 («*cell division cycle 25*»). Ces dernières appartiennent à la famille des protéines-tyrosine phosphatases (PTPases) et, en particulier, à une sous-famille de phosphatases à double spécificité (DSPase) car elles peuvent hydrolyser les résidus phosphotyrosine, phosphothréonine ou phosphosérine sur une même protéine.⁹

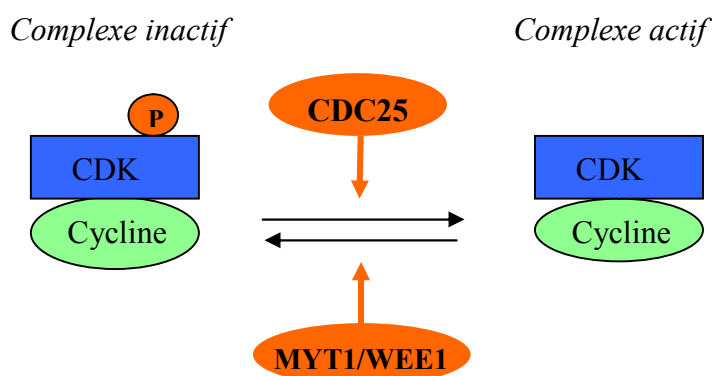


Figure 3-6 : Activation du complexe CDK/ cyclines par déphosphorylation⁸

Il existe trois types de phosphatases CDC25, les CDC25 A, B ou C. Il est généralement admis que CDC25A intervient dans le contrôle de la transition entre les phases G₁/S et qu'elle joue un rôle dans la progression de la mitose.¹⁰ Quant aux CDC25B et C, elles régulent principalement la progression de la transition G₂/M ainsi

⁸ Boutros, R.; Lobjois, V.; Ducommun, B. *Nat. Rev. Cancer* **2007**, *7*, 495-507 et références citées.

⁹ Denu, J. M.; Stuckey, J. A.; Saper, M. A.; Dixon, J. E. *Cell* **1996**, *87*, 361-364.

¹⁰ Contour-Galcera, M.-O.; Sidhu, A.; Prévost, G.; Bigg, D.; Ducommun, B. *Pharmacol. Ther.* **2007**, *115*, 1-12 et références citées.

que la mitose. Dans chaque cas, ce contrôle est effectué par la déphosphorylation du complexe CDK-cycline adéquat.

Lorsque l'ADN est endommagé, le cycle de division cellulaire est arrêté et un processus de contrôle est initié afin de conduire soit à la réparation de l'ADN soit à la programmation de la mort cellulaire. Pour cela, il est nécessaire d'inhiber les trois phosphatases de façon temporaire et une fois les dommages réparés, elles sont libérées et le cycle peut alors reprendre. Dans le cas où les phosphatases CDC25 sont rendues inactives de façon irréversible, le processus de contrôle induirait la mort cellulaire. Pour cela, il existe différents mécanismes tels que la dégradation, l'inhibition ou encore leur transfert dans le cytoplasme où elles sont retenues par interaction avec des membres de la famille 14-3-3.^{8,11}

De par leur rôle de régulateurs du cycle cellulaire mais aussi de la surexpression des CDC25 A et B dans de nombreuses tumeurs humaines comme le cancer du sein, de la prostate ou du lymphome non-hodgkinien,^{12,13} la recherche et l'identification de classes d'inhibiteurs spécifiques des phosphatases CDC25 s'avèrent importantes.

II.2. Les inhibiteurs des phosphatases CDC25

A ce jour, trois classes d'inhibiteurs différant essentiellement par leur mécanisme d'action ont été décrites : des dérivés comportant des fonctions mimant les groupements phosphates présents sur le substrat naturel de l'enzyme, des entités électrophiles et des dérivés *ortho*- ou *para*-quinoniques. Toutefois, les dérivés quinoniques sont les inhibiteurs les plus sélectifs et puissants.^{7,10, 13,14,15}

Afin d'illustrer la première classe, on peut citer le dysidiolide **53** (Figure 3-7), inhibiteur naturel de CDC25A avec une IC₅₀ de 9,4 µM dont le groupement γ -hydroxybuténolide mime la fonction phosphate.¹⁰ La deuxième catégorie

¹¹ Boutros, R.; Dozier, C.; Ducommun, B. *Curr. Opin. Cell. Biol.* **2006**, *18*, 185-191.

¹² Kristjánssdóttir, K.; Rudolph, J. *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 1043-1051.

¹³ Prevost, G. P.; Brezak, M.-C.; Goubin, F.; Mondesert, O.; Galcera, M.-O.; Quaranta, M.; Alby, F.; Lavergne, O.; Ducommun, B. *Prog. Cell. Cycle Res.* **2003**, *5*, 225-234.

¹⁴ Garuti, L.; Roberti, M.; Pizzirani, D. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2007**, *7*, 481-489.

¹⁵ Pestell, K. E.; Ducruet, A. P.; Wipf, P.; Lazo, J. S. *Oncogene* **2000**, *19*, 6607-6612.

d'inhibiteurs est constituée d'entités électrophiles capables d'être alkylées par un résidu cystéine du site enzymatique. C'est le cas du maléimide **54**, un inhibiteur sélectif de CDC25A avec une IC_{50} de $1\mu\text{M}$.⁷

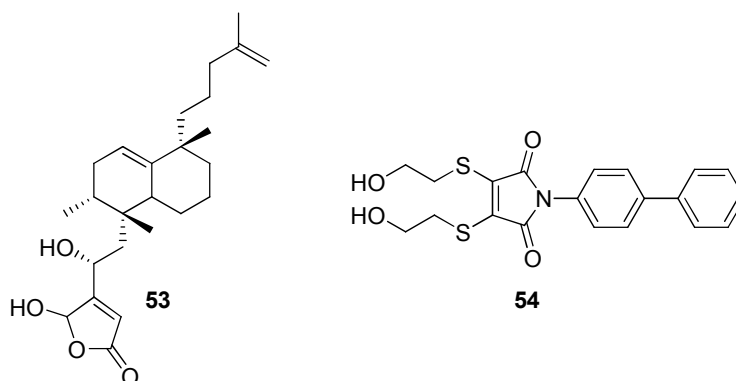


Figure 3-7 : Représentation du dysidiolide **53** et de **54**

La troisième classe d'inhibiteurs concerne les quinones dont le mode d'action est varié. En effet, ces composés ayant un caractère électrophile, ils peuvent subir une addition de Michaël du groupement thiolate¹⁶ de la cystéine Cys⁴⁷³ du site actif de l'enzyme, conduisant alors à son inhibition.¹⁰ D'autre part, en raison des propriétés rédox des quinones et de la production éventuelle de ROS (espèces oxygénées réactives), l'inhibition de l'enzyme peut être induite par l'oxydation irréversible de cette même cystéine en sulfonate Cys-SO₃⁻.^{8,10,12} Ces mécanismes possibles ont été proposés après études en modélisation moléculaire (*computational docking studies*) du domaine catalytique de CDC25B.¹⁷

Dans cette dernière classe d'inhibiteurs, de nombreux dérivés présentant des squelettes de type naphtoquinones et de type hétéroquinones ont été décrits et quelques exemples seront présentés par la suite.

Une première catégorie de composés concerne les dérivés de type naphtoquinones comme la vitamine K₃ (ménadione) et ses dérivés thioalkylés. En effet, ces dérivés inhibent les phosphatases CDC25 de façon covalente avec des IC_{50} de 1 à $15\mu\text{M}$.¹² Parmi eux, on trouve le composé NSC 95397 qui possède deux

¹⁶ A pH physiologique, la cystéine du site actif existe sous la forme d'un thiolate (pKa = 5,9).

¹⁷ Lavecchia, A.; Cosconati, S.; Limongelli, V.; Novellino, E. *Chem. Med. Chem.* **2006**, *14*, 540-550.

chaînes thioéthanol et qui est l'un des plus puissants inhibiteurs de ces enzymes⁷ avec des valeurs de IC₅₀ de l'ordre du nanomolaire et une capacité à bloquer la transition G2/M (Figure 3-8).¹⁸

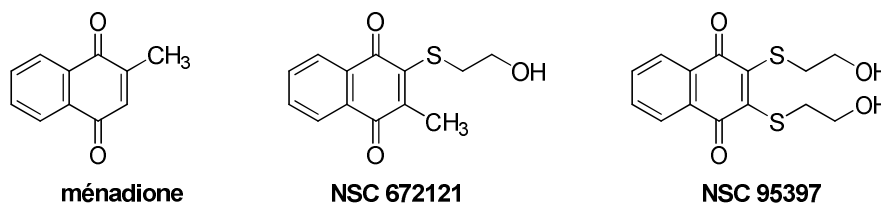


Figure 3-8 : Dérivés de type naphthoquinone

Au vu des résultats précédents, l'équipe de Garbay a choisi de modifier la nature du substituant de la quinone par une chaîne soufrée possédant une fonction acide carboxylique, capable de mimer un groupement phosphate. Ainsi, les dérivés acides **55** et **56**, analogues aux dérivés NSC 672121 et NSC 95397 ont été préparés. Ces composés présentent des activités *in vitro* de l'ordre du micromolaire (IC₅₀ de 4,13 μM pour **55** et 1,75 μM pour **56** (Figure 3-9)) soit des activités similaires à celles de leurs analogues hydroxylés.¹⁹ Garbay et coll. ont également préparé des dérivés analogues pour lesquels la fonction acide carboxylique a été remplacée par un groupement ester benzylique, le produit résultant ayant une inhibition *in vitro* de CDC25B de l'ordre du micromolaire.¹⁹

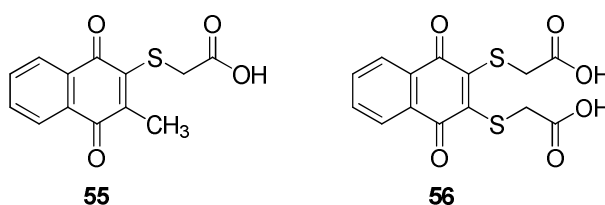


Figure 3-9 : Analogues des dérivés NSC 672121 et NSC 95397

Les *ortho*-quinones comme les naphthofuranediones ou les 1,2-naphthoquinones présentent aussi une activité biologique. Parmi elles, **57** possède une activité de l'ordre

¹⁸ Lazo, J. S.; Nemoto, K.; Pestell, K. E.; Cooley, K.; Southwick, E. C.; Mitchell, D. A.; Furey, W.; Gussio, R.; Zaharevitz, D. W.; Joo, B.; Wipf, P. *Mol. Pharmacol.* **2002**, *61*, 720-728.

¹⁹ Brun, M.-P.; Braud, E.; Angotti, D.; Mondésert, O.; Quaranta, M.; Montes, M.; Miteva, M.; Gresh, N.; Ducommun, B.; Garbay, C. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 4871-4879.

du micromolaire vis-à-vis des phosphatases CDC25 A, B, et C (Figure 3-10).⁷

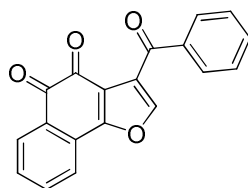


Figure 3-10 : Structure de 57

Une deuxième catégorie concerne des inhibiteurs de type hétéroquinones. A titre d'exemple, on peut citer les caulibugulones (Figure 3-11), isoquinoléine- et iminoisoquinoléinequinones d'origine marine, qui se sont révélées être de bons inhibiteurs sélectifs vis-à-vis de la phosphatase CDC25B lors de tests *in vitro* (IC_{50} entre 2,7 et 32,5 μM).²⁰

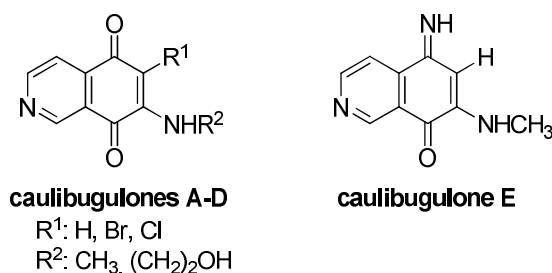


Figure 3-11 : Structure des caulibugulones A-E

Un autre inhibiteur, appartenant à la famille des benzothiazoles, a été identifié par l'équipe de Ducommun. Il s'agit du dérivé BN82685 **58** (Figure 3-12) qui présente une IC_{50} *in vitro* comprise entre 100 et 300 nM envers les phosphatases CDC25 A, B et C et qui inhibe aussi la croissance des cellules tumorales avec une IC_{50} de 90 nM (cancer de la prostate) et de 118 nM dans le cas du cancer du pancréas.²¹

²⁰ Wipf, P.; Joo, B.; Nguyen, T.; Lazo, J. S. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 2173-2174.

²¹ Brezak, M.-C.; Quaranta, M.; Contour-Galcera, M.-O.; Lavergne, O.; Mondésert, O.; Auvray, P.; Kasprzyk, P. G.; Prevost, G. P.; Ducommun, B. *Mol. Cancer Ther.* **2005**, *4*, 1378-1387.

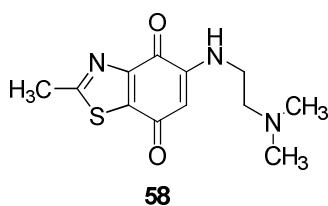


Figure 3-12 : Structure de BN82685

A partir des résultats obtenus pour BN82685, les auteurs ont alors évalué une petite collection d'hétéroquinones pour laquelle les substituants ont été fixés (Figure 3-13).²² Ainsi, les benzoxazolequinones (**59**, **60** et **61**, **62**), les benzimidazolequinones (**63**, **64** et **65**, **66**), ainsi que les indazolequinones **67**, **68** et l'isoindolequinone **69** ont été préparées et leurs activités inhibitrices testées en tant qu'inhibiteurs *in vitro* de la phosphatase CDC25C.

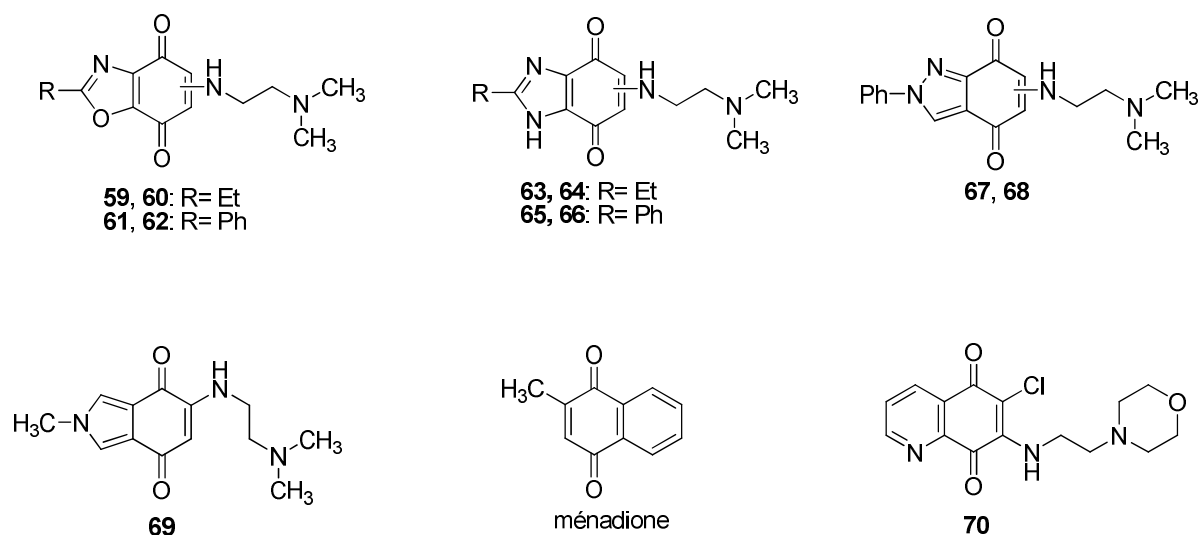


Figure 3-13 : Composés testés en tant qu'inhibiteur de la phosphatase CDC25C

En comparaison avec les dérivés de référence **70**, **58** et la ménadione (IC_{50} de 0,25 μ M, 0,15 μ M et 19 μ M respectivement), seuls **59**, **60** et **61**, **62** présentent une IC_{50} intéressante de 0,13 μ M (**59**, **60**) et de 0,23 μ M (**61**, **62**), les autres dérivés ayant des valeurs d' IC_{50} comprises entre 12 et 81 μ M.²² En définitive, il s'avère que les benzoxazole- et les benzothiazolequinones sont au moins 50 fois plus efficaces en tant qu'inhibiteurs de CDC25C que les dérivés benzimidazole-, indazole- ou isoindolequinones. Récemment, l'équipe de Garbay a préparé des analogues de **56** en

²² Lavergne, O.; Fernandes, A.-C.; Bréhu, L.; Sidhu, A.; Brezak, M.-C.; Prevost, G.; Ducommun, B.; Contour-Galcerà, M.-O. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 171-175.

série quinoléinequinone et une activité de l'ordre du micromolaire a aussi été observée dans ce cas.²³

Lazo et coll. se sont également intéressés à l'influence de la nature de l'hétérocycle (séries quinoléinequinone, isoquinoléinequinone, phthalazinequinone, quinazolinequinone) et celle de la substitution de la partie quinone sur l'activité biologique. Leurs travaux ont montré que ces deux aspects jouent un rôle important pour l'activité.²⁴ Par exemple, les dérivés isoquinoléinequinones, phthalazinequinones et quinazolinequinones présentent un effet inhibiteur moindre par rapport aux dérivés quinoléinequinones.¹⁴ Ces résultats obtenus sont en accord avec des études de relations structure-activité qui ont souligné que l'activité biologique des hétéroquinones azotées sont liées à la présence, au nombre et à la position de l'hétéroatome.^{14,25}

De plus, la présence d'un substituant en position 7 augmente l'activité de la molécule considérée (Figure 3-14).²⁶

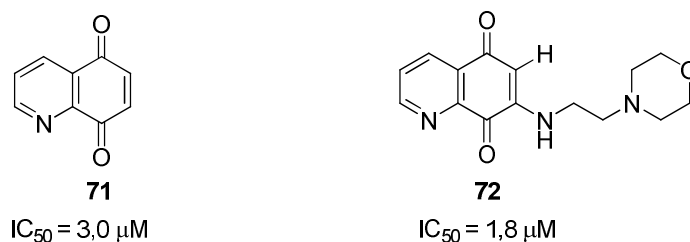


Figure 3-14 : Influence de la substitution sur l'activité inhibitrice *in vitro* des quinoléinequinones sur la phosphatase CDC25B

Afin d'identifier de nouveaux chefs de file, l'équipe de Lazo a évalué l'activité biologique *in vitro* de 10 070 composés par criblage haut débit d'une chimiothèque du « *National Cancer Institute* ». ¹⁸ Il s'est avéré que seuls 21 composés ont présenté une IC₅₀ < 1 μM, 16 d'entre eux étant des quinones dont neuf des *para*-naphthoquinones. Tous ces dérivés ont montré une sélectivité pour les phosphatases CDC25 et quatre

²³ Braud, E.; Goddard, M.-L.; Kolb, S.; Brun, M.-P.; Mondésert, O.; Quaranta, M.; Gresh, N.; Ducommun, B.; Garbay, C. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 9040-9049.

²⁴ Lazo, J. S.; Aslan, D. C.; Southwick, E. C.; Cooley, K. A.; Ducruet, A. P.; Joo, B.; Vogt, A.; Wipf, P. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4042-4049.

²⁵ Shaikh, I. A.; Johnson, F.; Grollman, A. P. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 1329-1340.

²⁶ Cossy, J.; Belotti, D.; Brisson, M.; Skoko, J. J.; Wipf, P.; Lazo, J. S. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 6283-6287.

d'entre eux ont des IC_{50} pour CDC25B < 500 nM, le composé NCS 95397 se trouvant être particulièrement intéressant (Figure 3-15).

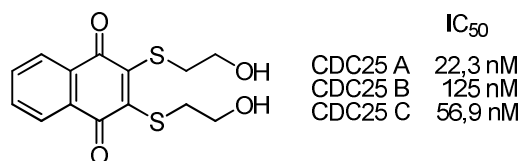


Figure 3-15 : Activité inhibitrice *in vitro* du NCS 95397

Par la suite, Lazo et coll. ont préparé une série d'hétéroquinones possédant des chaînes thioalkylées (Figure 3-16) et il semblerait que les facteurs stériques et électroniques du substituant soient importants.¹⁸

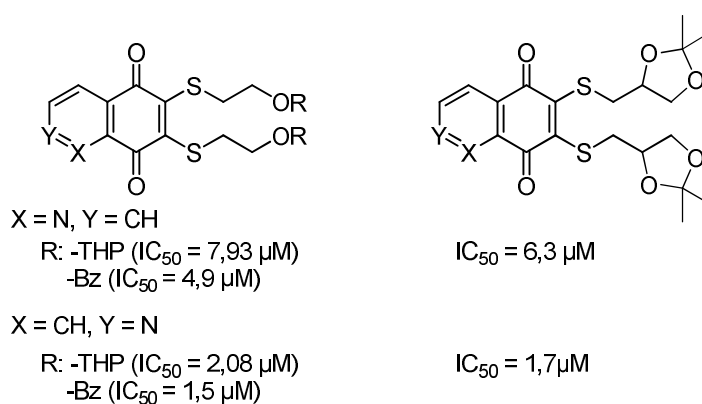


Figure 3-16 : Hétéroquinones dithioalkylées préparées et évaluées par l'équipe de Lazo

II.3. Travaux préliminaires : choix du substituant thioalkylé

Il résulte des travaux de la littérature que la présence d'une hétéroquinone et de chaîne thioalkyle soient des éléments prometteurs pour l'obtention d'inhibiteurs efficaces. En conséquence, nous avons décidé de préparer une série d'hétéroquinones en diversifiant la nature et le nombre d'hétéroatomes, leur position dans le cycle ainsi que la taille de l'hétérocycle fusionné à la partie quinone (Figure 3-17). Ces quinones seront ensuite substituées par une chaîne thioalkyle.

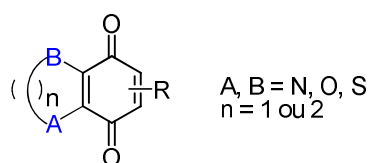


Figure 3-17 : Formule générale des quinones préparées

Tout d'abord, nous avons choisi de préparer la 5,8-quinoléinequinone fonctionnalisée par la chaîne thioalkyle identifiée par Lazo et coll. (Figure 3-15) lors du criblage moléculaire.

II.3.a. Rappels bibliographiques sur la thioalkylation des quinones

Comme cela a été mentionné dans le chapitre 1, la thioalkylation des quinones est un processus complexe dans lequel plusieurs variables (stœchiométrie des réactifs, réactivité des intermédiaires, solvant, pH, etc...) sont impliquées. La première étape consiste en une addition de type Michaël d'un thiol sur la benzoquinone pour conduire, après prototropie et énoilisation, à une hydroquinone monosubstituée; celle-ci peut ensuite être oxydée en quinone. Ce processus d'addition/oxydation peut se répéter, pour former des benzoquinones di-, tri- voire même tétra-substituées (Schéma 3-1).^{27,28,29,30}

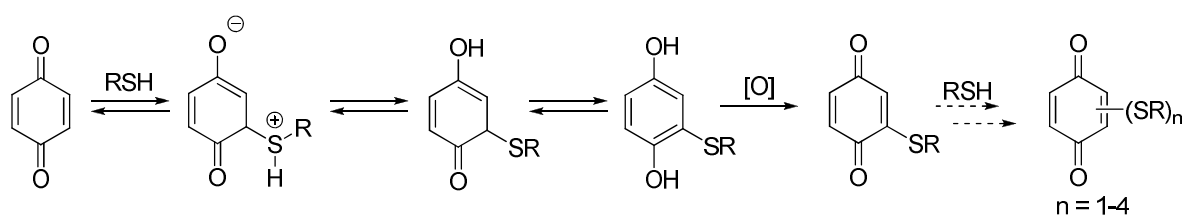


Schéma 3-1

De manière générale, le passage de l'hydroquinone à la quinone nécessite un oxydant. Ce dernier est soit présent au sein de la réaction (quinone de départ par exemple) soit introduit au cours de l'expérience (oxygène de l'air, sel de Frémy, Ag₂O, FeCl₃, DDQ, KMnO₄, etc...).

Une alternative consiste à utiliser des quinones 2,3-dichlorées **73** (Schéma 3-2). Ainsi, la substitution du chlore par une chaîne dérivée du 2-mercaptoéthanol conduit en présence de base (NaOH, pyridine), au dérivé bithioalkylé.³¹

²⁷ Snell, J. M.; Weissberger, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, *61*, 450-453.

²⁸ Blackhall, A.; Thomson, R. H. *J. Chem. Soc.* **1953**, 1138-1143.

²⁹ Oediger, H.; Joop, N. *Liebigs Ann.* **1972**, *758*, 1-12.

³⁰ Katritzky, A. R.; Fedoseyenko, D.; Mohapatra, P. P.; Steel, P. J. *Synthesis* **2008**, 777-787.

³¹ Marshall, K. *Can. J. Chem.* **1962**, *40*, 1235-1241.

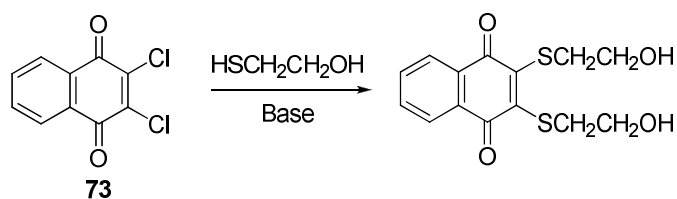


Schéma 3-2

Dans ce cas, la nature des partenaires et leur réactivité ainsi que les conditions expérimentales (stœchiométrie, solvant) se révèlent être encore déterminantes. Par exemple, l'addition d'acide mercaptoacétique (R=H) sur la 2,3-dichloronaphtoquinone conduit à la quinone disubstituée (89%) mais lorsque l'ester benzylique (R = CH₂C₆H₅) est utilisé, un mélange 1:1 de produits mono-substitué et disubstitué est obtenu (Schéma 3-3).¹⁹

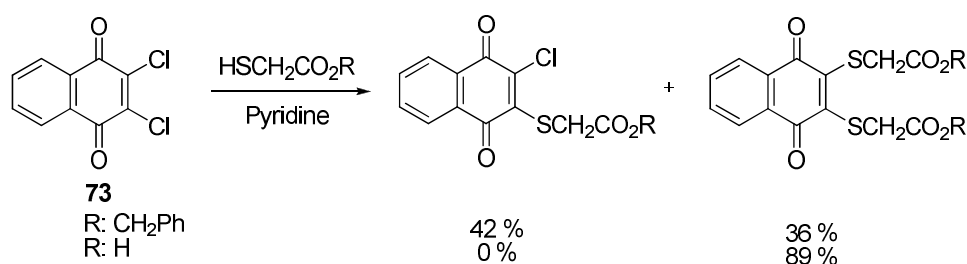


Schéma 3-3

L'ensemble de ces résultats permet de souligner que l'introduction de substituants soufrés sur le noyau quinone procède de situations variées et quelquefois complexes et qu'il n'y a donc pas de méthode générale de synthèse. C'est la raison pour laquelle, dans notre travail, nous avons été amenés à considérer chaque hétéroquinone de façon indépendante.

II.3.b. Préparation des 5,8-quinoléinequinones dithioalkylées

La chloration oxydante de la 8-hydroxyquinoléine **74** (Schéma 3-4) nous a permis d'obtenir la quinone **75** avec un rendement de 12%, de l'ordre de grandeur de celui de la littérature (17%).²⁵

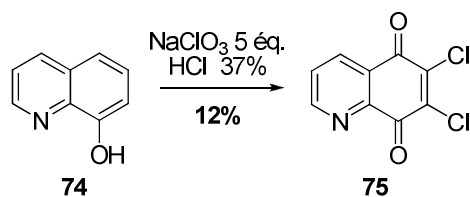
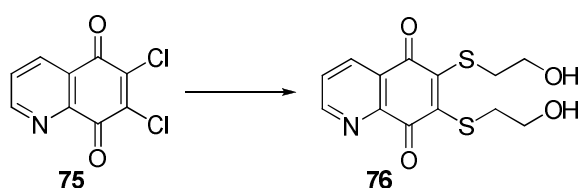


Schéma 3-4

Ensuite, la 6,7-dichloro-5,8-quinoléinequinone **75** obtenue a été placée dans différentes conditions permettant sa dithioalkylation. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le Tableau 3-1.

Tableau 3-1 : Essais effectués pour la dithioalkylation de la quinoléinequinone **75**



Entrée	Conditions					Résultats et observations	Réf.
	HS(CH ₂) ₂ OH (éq.)	Base (éq.)	Solvant	Temp. (°C)	Temps		
1	3	/	éthanol	t.a.	16 h	Mélange de produits de monothioalkylation	/
2	2	/	DMF	100	4 h	Dégradation	32
3	2	KOH (2)	acétone	55	8 h	Dégradation	33
4	2,2	NEt ₃ (2,2)	THF	t.a.	15 min	Dégradation	18
5	2	NEt ₃ (2)	éthanol	t.a.	3 h	Mélange d'hydroquinones monothioalkylées	34
6	2	pyridine	pyridine	t.a.	10 min	Dégradation	/
7	2,3	pyridine (2,2)	toluène	54	15 min	Dégradation	31
8	2,2	pyridine (2,5)	éthanol	0	48 h	Pas de réaction	/

La dithioalkylation du dérivé **75** par le 2-mercaptoéthanol n'a pu être effectuée ni en présence ni en l'absence de base. Dès que l'on augmente la température de la réaction ou que l'on utilise un excès de pyridine, on observe la dégradation du produit de départ. Il semblerait que l'éthanol soit un solvant adéquat puisque, lors de son emploi, l'obtention des dérivés hydroquinones monothioalkylés a été possible. Avec ces résultats, nous avons envisagé de poursuivre la synthèse en réalisant l'oxydation

³² Shah, J. N.; Tilak, B. D. *Indian J. Chem.* **1980**, *19B*, 29-36.

³³ D'Amico, J. J.; Bartram, T. W. *J. Org. Chem.* **1971**, *25*, 1336-1342.

³⁴ Chang, E.-E.; Cheng, H.-H.; Lai, J.-E.; Kuo, H.-S. *Chin. Pharm. J.* **1995**, *47*, 531-538.

des hydroquinones monothioalkylées (Ag_2O) pour les engager de nouveau dans une deuxième étape de thioalkylation. Cependant, ces essais n'ont pas abouti.

Afin de pallier ce problème, nous avons utilisé une approche similaire à celle de Lazo et coll. qui implique la protection du 2-mercaptoéthanol avant de réaliser la thioalkylation. Dans notre cas, nous avons tout d'abord choisi le chlorure de triéthylsilane comme agent protecteur.³⁵

Pour cela, nous avons travaillé dans les conditions utilisées par Lazo et coll. (Tableau 3-1, entrée 4) lors de la préparation des quinoléines précédemment présentées (Figure 3-16).¹⁸ Toutefois, ces conditions conduisent au produit escompté uniquement quand la quinone est ajoutée à une solution de 2-mercaptoéthanol silylé et de triéthylamine dans le THF. Ainsi, nous sommes parvenus à obtenir en une seule étape la quinoléine-5,8-dione **77** avec un rendement de 75% (Schéma 3-5).

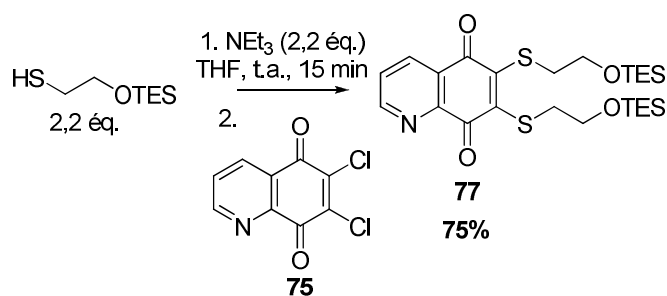
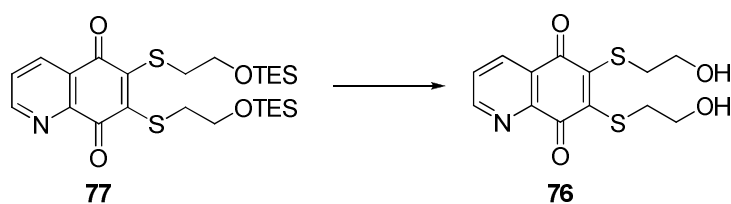


Schéma 3-5

Le dérivé disilylé **77** a été alors placé dans des conditions classiques de déprotection (Tableau 3-2, entrée 1) afin d'obtenir **76**. La désilylation du dérivé **77** s'est avérée être une étape problématique et différentes conditions ont été testées (Tableau 3-2, entrée 2-7).

³⁵ Pour un mode opératoire concernant la protection du 2-mercaptoéthanol par le TESCl, voir : Kniess, T.; Spies, H.; Santos, I.; Zablotska, A. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2002**, *45*, 629-636.

Tableau 3-2 : Essais effectués pour la désilylation de 77



Entrée	Conditions	Résultats et observations	Réf.
1	AcOH (excès)/THF/H ₂ O 3:1:1, t.a., 48 h	Aucune réaction	36
2	8,5 éq. NEt ₃ .HF, THF, t.a., 40 min	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Consommation de 77 ▪ Mélange de produits non identifiables 	37
3	5 éq. TBAF 1 M THF, t.a., 30 min	Dégradation	/
4	4 éq. TBAF supporté sur silice, THF, t.a., 5h	Dégradation	/
5	Alumine 70-230 mesh (classe II), hexane, t.a., 3 h	Dégradation	38
6	K ₂ CO ₃ cat., MeOH, t.a., 4,5 h	Dégradation	39
7	0,5 éq. CsCO ₃ , THF/H ₂ O 1:1, t.a., 2,5 h	Dégradation	/

Finalement, le composé **76** n'a pas pu être obtenu dans les nombreuses conditions testées. Par la suite, nous avons remplacé le groupement protecteur –TES par un groupement triméthylsilyle pour lequel il est raisonnable de penser que sa déprotection devrait être plus aisée.⁴⁰ La préparation du triméthylsilyloxyéthanethiol a été réalisée par réaction entre le 2-mercaptoéthanol et l'hexaméthylidisilazane à chaud avec un rendement de 62%.⁴¹ Puis, le 2-mercaptéthanol protégé a été placé en présence de triéthylamine dans le THF auquel a été ajoutée la quinone dichlorée **75** pour conduire à **78** avec un rendement de 81% (Schéma 3-6).

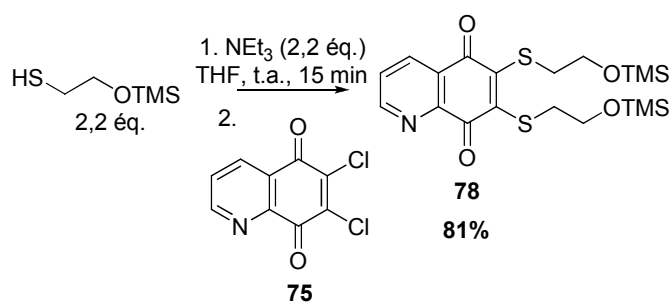


Schéma 3-6

³⁶ Patterson, A. W.; Peltier, H. M.; Sasse, F.; Ellman, J. A. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 9534-9541.

³⁷ Charest, M. G.; Siegel, D. R.; Myers, A. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8292-8293.

³⁸ Feixas, J.; Capdevila, A.; Guerrero, A. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 8539-8550.

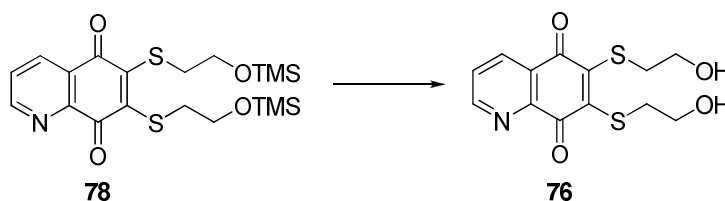
³⁹ Hurst, D. T.; McInnes, A. G. *Can. J. Chem.* **1965**, *43*, 2004-2011.

⁴⁰ Nelson, T. D.; Crouch, R. D. *Synthesis* **1996**, 1031-1069.

⁴¹ Wada, M.; Sato, S.-I.; Aritomi, M.; Harakawa, M.; Okawara, R. *J. Organomet. Chem.* **1972**, *39*, 99-106.

Les différentes conditions testées pour la désilylation de **78** sont rassemblées dans le Tableau 3-3.

Tableau 3-3 : Essais effectués pour la désilylation de **78**



Entrée	Conditions	Résultats et observations
1	1 éq. Cs ₂ CO ₃ , THF/H ₂ O 1:1, t.a., 5 h	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Consommation de 78 ▪ Mélange de produits non identifiables
2	2,2 éq. Na ₂ CO ₃ , THF/H ₂ O 1:1, t.a., 1,5 h	Dégradation
3	2,2 éq. NaHCO ₃ , MeOH, t.a., 1 h	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Consommation de 78 ▪ Mélange de produits non identifiables
4	2,2 éq. LiOH·H ₂ O, THF, t.a., 2 h	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Consommation de 78 ▪ Mélange de produits non identifiables
5	2,2 éq. LiOH·H ₂ O, THF, t.a., 20 min	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Consommation de 78 ▪ Mélange de produits non identifiables
6	2,2 éq. LiOH·H ₂ O, THF, t.a., 5 min	Aucune réaction
7	2,6 éq. CsF, CH ₃ CN, t.a., 2,5 h	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Consommation de 78 ▪ Mélange de produits non identifiables
8	2,2 éq. TBAT, THF, t.a., 5 min	Dégradation
9	2,2 éq. TBAF 1 M THF, t.a., 5 min	Dégradation
10	H ₂ O/THF, t.a., 19 h	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Consommation de 78 ▪ Mélange de produits non identifiables

Contre toute attente, nous ne sommes pas non plus parvenus à obtenir le diol **76** quelles que soit les conditions testées. On peut penser que la déprotection a lieu mais que le produit désiré évolue vers des produits non identifiables au cours de la réaction.

La déprotection des dérivés silylés n'ayant pas aboutie, nous avons décidé de ne plus évaluer l'activité biologique du diol **76** mais celle des dérivés disilylés **77** et **78**. Parallèlement, nous avons préparé leurs analogues en série naphthoquinone (Schéma 3-7) afin d'estimer l'influence de la présence de l'atome d'azote dans le squelette de ces quinones.

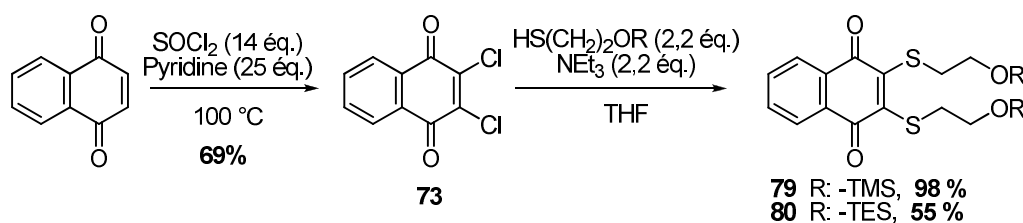


Schéma 3-7

La 2,3-dichloronaphtoquinone **73** a été obtenue en une seule étape par chloration de la naphtoquinone en milieu basique.⁴² La dithioalkylation est alors effectuée par addition inverse de **73** sur une solution contenant le 2-mercaptoéthanol silylé et la triéthylamine dans le THF, ce qui fournit **79** et **80**.

Une fois préparés, l'activité biologique de ces dérivés en tant qu'inhibiteurs de la phosphatase CDC25B a été évaluée *in vitro* (équipe de Garbay). Il s'avère que ces dérivés présentent une IC₅₀ de l'ordre du micromolaire (Tableau 3-4) et il semblerait que la présence d'un atome d'azote intracyclique n'améliore pas l'activité biologique.

Tableau 3-4 : Activité *in vitro* contre CDC25B

Composés	IC ₅₀ (μM)
79	2,77
80	3,80
78	2,98
77	3,01

Bien que ces résultats soient encourageants (IC₅₀ de l'ordre de grandeur de celles obtenues par Lazo et coll. (Figure 3-16)), il s'avère que ces dérivés silylés ne sont pas stables et se dégradent rapidement, même s'ils sont conservés à basse température et sous argon. A ce stade, il a été nécessaire de trouver une autre chaîne thioalkyle stable. Si l'on se réfère aux travaux de l'équipe de Garbay, présentés précédemment, des chaînes soufrées portant une fonction acide (Figure 3-9)^{19,23} ou ester (benzylique ou benzoïque)^{18,19} ont été décrites sur des naphtoquinones. Il nous a donc semblé intéressant de préparer des dérivés similaires comportant une chaîne soufrée présentant à son extrémité un ester méthylique.

⁴² Shi, S.; Katz, T. J.; Yang, B. V.; Liu, L. *J. Org. Chem.* **1996**, *60*, 1285-1297.

Nous avons choisi de fonctionnaliser les dérivés quinoniques par le thioglycolate de méthyle ($\text{HSCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$) ou le 3-mercaptopropionate de méthyle ($\text{HS}(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{CH}_3$). La naphtoquinone **73** a été préparée comme décrit précédemment (Schéma 3-7) et la thioalkylation a été effectuée à froid par action de l'ester soufré dans l'éthanol en présence de pyridine (Schéma 3-8).

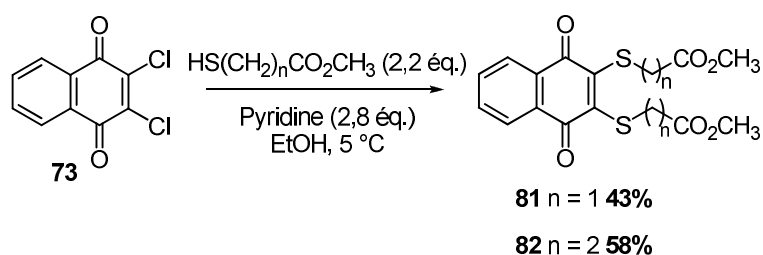


Schéma 3-8

La structure de **81** a été confirmée par la présence à 4,02 et 3,70 ppm en RMN ^1H des deux signaux correspondant aux groupements méthylènes et méthyles de la chaîne thioalkyle respectivement. Il en est de même pour **82** pour lequel trois signaux à 3,67, 3,49 et 2,73 ppm relatifs au groupement méthyles et aux deux groupements méthylènes ont été observés en RMN ^1H .

Ces dérivés ont alors été évalués à leur tour en tant qu'inhibiteurs de la phosphatase CDC25B *in vitro* et les résultats obtenus sont rassemblés dans le Tableau 3-5.

Tableau 3-5 : Activité *in vitro* contre CDC25B

Composés	IC ₅₀ (μM)
81	1,18
82	1,68

L'activité des dérivés **81** et **82** est de l'ordre de grandeur du micromolaire et ils présentent une inhibition deux fois plus grande que celle des dérivés **77-80**. De plus, ils s'avèrent être stables. En conséquence, nous avons choisi d'utiliser le thioglycolate de méthyle comme agent alkylant puisque le dérivé **81** se trouve être le composé le plus actif de ceux évalués.

II.4. Préparation de bis-(1-méthoxycarbonylméthylthio)hétéroquinones

Le substituant ayant été choisi, nous poursuivrons tout d'abord par la préparation d'un certain nombre d'hétéroquinones dont les structures sont indiquées dans la Figure 3-18. En fonction de leur accessibilité, d'après les données de la littérature (*vide supra*), nous avons décidé de travailler avec des dérivés dichlorés ou non.

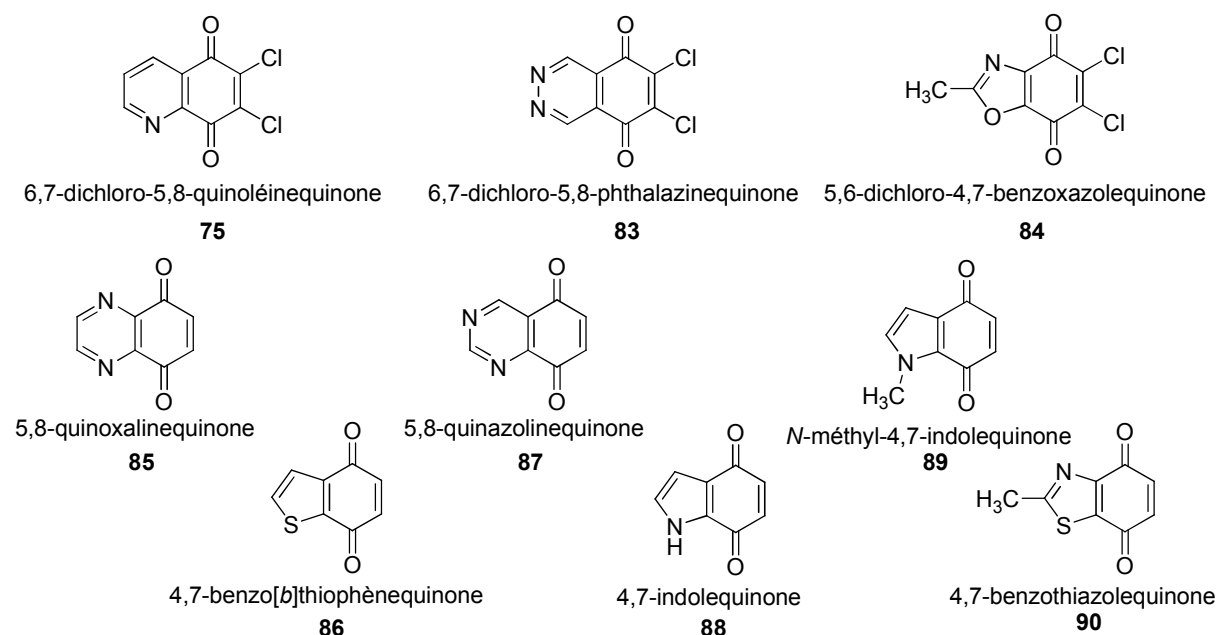


Figure 3-18 : Structure des hétéroquinones à dithioalkyle

Puis les hétéroquinones seront fonctionnalisées par la chaîne thioalkyle identifiée précédemment. Enfin, ces dérivés seront évalués en tant qu'inhibiteurs des phosphatases CDC25. Ceci devrait permettre d'observer l'éventuelle influence des modifications effectuées sur l'hétérocycle sur l'activité biologique afin d'identifier une ou plusieurs molécules cibles.

Il est à noter que la préparation de ces hétéroquinones dithioalkylées n'a pas été optimisée, le but premier étant l'évaluation de ces composés comme inhibiteurs, l'amélioration de leur synthèse ne devant intervenir que dans un stade ultérieur pour les seuls dérivés retenus.

Quand l'oxydation est effectuée en présence d'HCl concentré,^{25,50,51,52} c'est la quinone **75** qui est obtenue (Schéma 3-11).

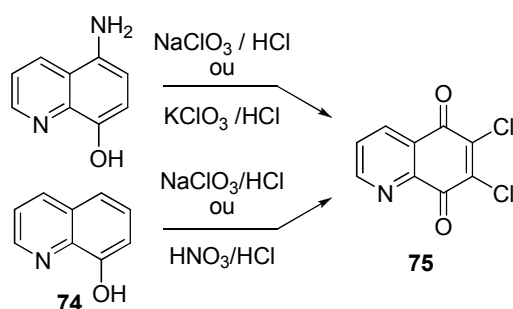


Schéma 3-11

La préparation de dérivés thioalkylés en série 5,8-quinoléinequinone a été réalisée soit à partir de **92** soit à partir de **75**. Quand **92** est placé au reflux de l'éthanol en présence d'un thiol, le dérivé monothioalkylé est isolé avec un rendement de 42% (Schéma 3-12). Par ailleurs, lorsque **75** subit une substitution nucléophile régiospécifique par le 4-aminophénol puis est traitée par du sulfate de diméthyle, un dérivé monothioalkylé est formé.⁵¹ Par contre, si **75** est placé au reflux dans l'éthanol avec deux équivalents d'un dérivé soufré, une 5,8-quinoléinequinone disubstituée est obtenue en une étape (Schéma 3-13).⁵³

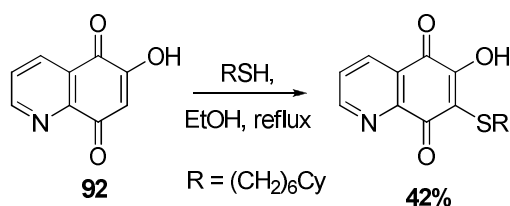


Schéma 3-12

⁵⁰ Ryu, C.-K.; Lee, J. Y.; Jeong, S. H.; Nho, J.-H. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *19*, 146-148.

⁵¹ Ryu, C.-K.; Choi, J.-A.; Kim, S.-H. *Arch. Pharm. Res.* **1998**, *21*, 440-444.

⁵² Cheng, Y.; An, L.-K.; Wu, N.; Wang, X.-D.; Bu, X.-Z.; Huang, Z.-S.; Gu, L.-Q. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *18*, 4617-4625.

⁵³ Ryu, C.-K.; Sun, Y.-J.; Shim, J.-Y.; You, H.-J.; Choi, K. U. Lee, H. *Arch. Pharm. Res.* **2002**, *25*, 795-800.

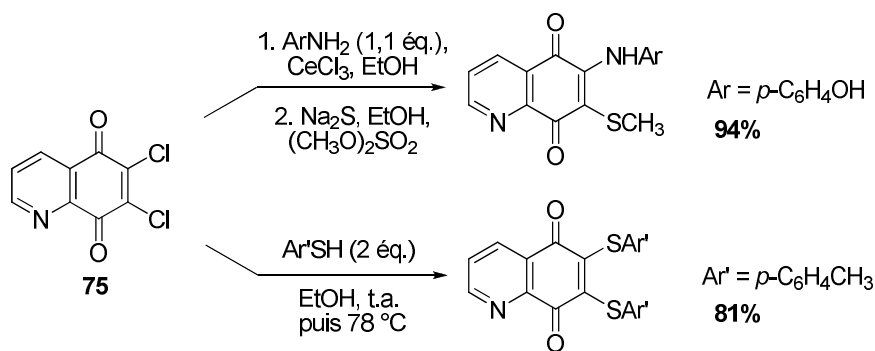


Schéma 3-13

ii. Synthèse

La 6,7-dichloroquinoléinequinone **75**, préparée précédemment (Schéma 3-4), a été engagée dans la réaction de thioalkylation (Schéma 3-14) ce qui a permis d'obtenir la quinone dithioalkylée **93** en une seule étape avec un rendement de 51%.

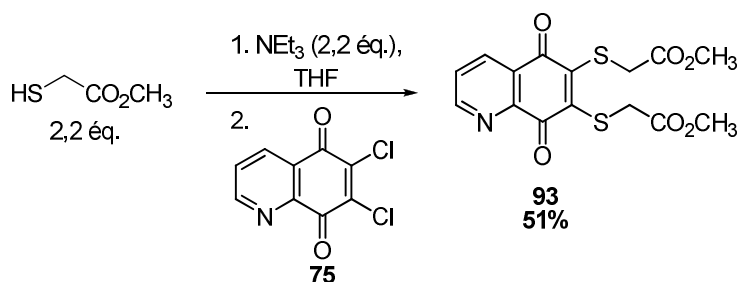


Schéma 3-14

II.4.b. Préparation de la 6,7-bis(1-méthoxycarbonylméthylthio)-5,8-phthalazinequinone **98**

i. Rappels bibliographiques

La phthalazine est nitrée par action du nitrate de potassium dans l'acide sulfurique pour conduire au dérivé mononitré **94** en position 5 avec un rendement compris entre 17-50%.^{25,54} La réduction de **94** (dithionite de sodium (Na₂S₂O₄),^{25,54} H₂, Pd/C 10%^{55,56}) suivie de l'oxydation de **95** par K₂Cr₂O₇/H₂SO₄^{54,56} conduit à la

⁵⁴ Parrick, J.; Ragunathan, R. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1993**, 211-216.

⁵⁵ Gomtsyan, A.; Bayburt, E. K.; Schmidt, R. G.; Zheng, G. Z.; Perner, R. J.; Didomenico, S.; Koenig, J. R.; Turner, S.; Jinkerson, T.; Drizin, I.; Hannick, S. M.; Macri, B. S.; McDonald, H. A.; Honore, P.; Wismer, C.

quinone correspondante **96** ou à son analogue chloré **83** quand l'oxydation est effectuée avec du $\text{NaClO}_3/\text{HCl}$.²⁵ Une autre approche consiste à introduire le groupement amino par réaction de **94** avec l'hydroxylamine (NH_2OH) en milieu basique puis réduction de la fonction nitro (hydrazine ($\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$)/ FeCl_3 , charbon, 99% ou H_2 , Pd/C 10%) et oxydation par du chlorate de sodium ou de potassium dans l'acide chlorhydrique ce qui conduit à **83** (Schéma 3-15).^{56,57}

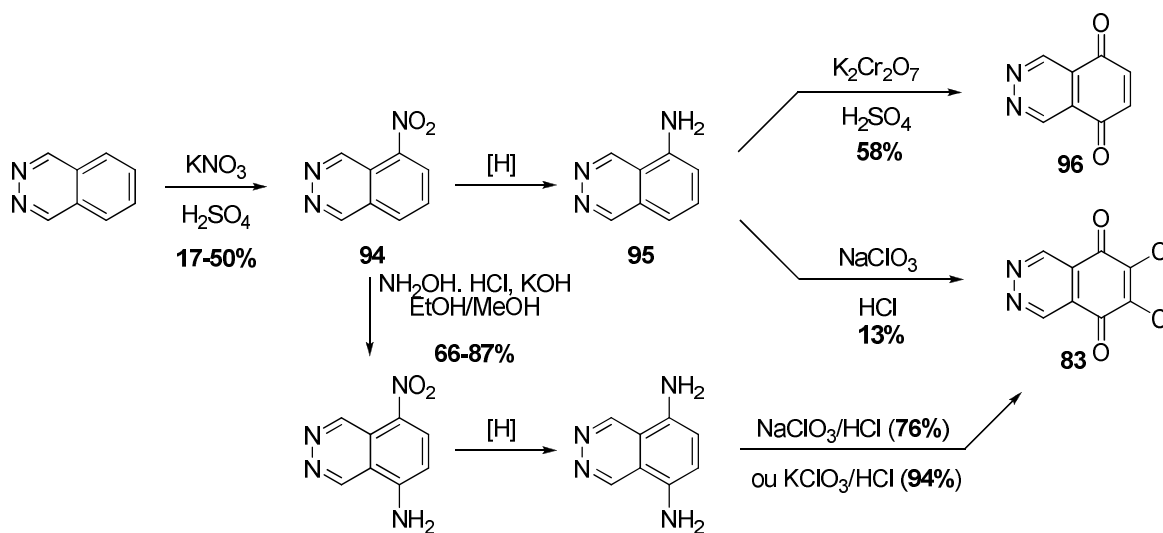


Schéma 3-15

Par ailleurs, seuls des travaux récents font référence à la préparation de dérivés thioarylés présentant une activité antifongique. Ces composés ont été préparés par réaction de **83** avec un arylthiol dans l'éthanol à reflux (Schéma 3-16).⁵⁶

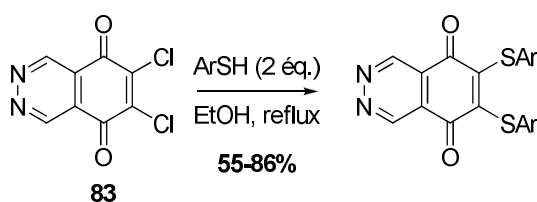


Schéma 3-16

T.; Marsh, K. C.; Wetter, J.; Stewart, K. D.; Oie, T.; Jarvis, M. F.; Surowy, C. S.; Faltynek, C. R.; Lee, C.-H. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 744-752.

⁵⁶ Ryu, C.-K.; Park, R.-E.; Ma, M.-Y.; Nho, J.-H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2577-2580.

⁵⁷ Kim, J. S.; Shin, K. J.; Kim, D. C.; Kang, Y. K.; Kim, D. J.; Yoo, K. H.; Park, S. W. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2002**, *23*, 1425-1428.

ii. Synthèse

Nous avons préparé la 5-aminophthalazine en 2 étapes à partir de la phthalazine. Sa nitration régiosélective conduit à la 5-nitro-phthalazine^{25,55} qui a été convertie en amine correspondante par hydrogénation catalytique (Schéma 3-17).⁵⁵ La 6,7-dichloro-5,8-phthalazinequinone **83** a ensuite été synthétisée par l'oxydation de la 5-aminophthalazine en présence de NaClO₃/HCl à 65 °C.^{25,56} Dans ces conditions, **83** a été obtenu avec un rendement de 10% similaire à celui rapporté dans la littérature.²⁵

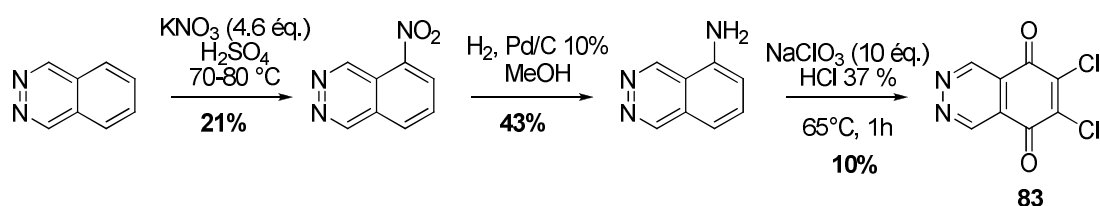


Schéma 3-17

Ensuite, le dérivé chloré **83** est directement engagé dans les conditions de thioalkylation déjà utilisées pour conduire en une étape au dérivé dithioalkylé **97** sous sa forme hydroquinone. Cette dernière est caractérisée par la présence en RMN ¹H des signaux à 3,67 et 3,68 ppm correspondant respectivement aux groupements méthylène et méthoxy de la chaîne thioalkyle, ainsi que par spectroscopie IR et spectrométrie de masse qui ont confirmé l'obtention de l'hydroquinone. L'oxydation de cette dernière par action du CAN⁵⁸ conduit à **98** avec un rendement non optimisé de 10% à partir de **83** (Schéma 3-18).

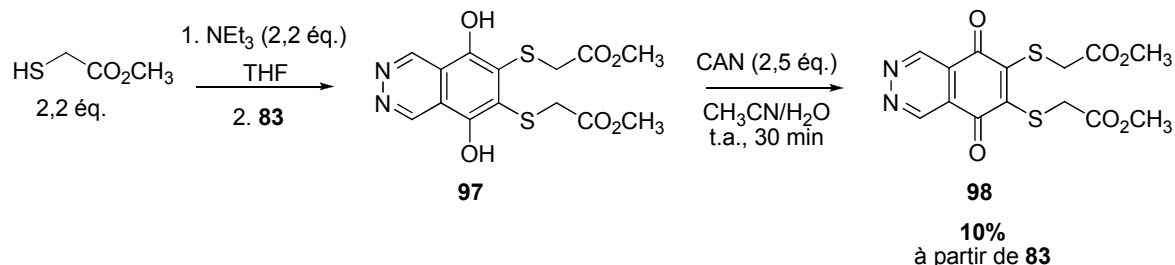


Schéma 3-18

⁵⁸ Kitahara, Y.; Nakahara, S.; Tanaka, Y.; Kubo, A. *Heterocycles* **1992**, *34*, 1623-1630.

II.4.c. Préparation de la 5,6-bis(1-méthoxycarbonylméthylthio)-4,7-benzoxazolequinone **101**

i. Rappels bibliographiques

L'obtention directe de la 4,7-benzoxazolequinone est possible par l'oxydation d'un hydroxybenzoxazole ou d'un aminobenzoxazole par le PIFA (Schéma 3-19),^{59,60} ou par oxydation de l'hydroxybenzoxazole par le sel de Frémy.⁶¹

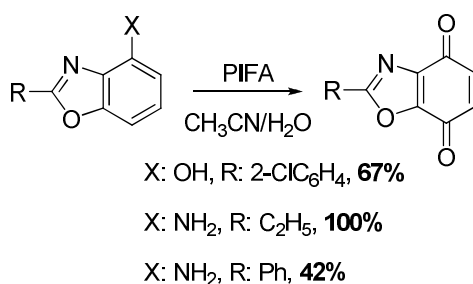


Schéma 3-19

Par ailleurs, aucun dérivé benzoxazolequinone porteur d'un ou deux substituants soufrés n'a été décrit dans la littérature à ce jour.

ii. Synthèse

Nous avons préparé le 4-hydroxy-2-méthylbenzoxazole à partir de la 2,6-dihydroxy-acétophénone selon la méthode décrite par Crabbé et coll. (Schéma 3-20).⁶² La première étape consiste en une condensation entre la 2,6-dihydroxy-acétophénone et le chlorhydrate d'hydroxylamine en milieu basique. L'oxime ainsi préparée est ensuite chauffée au reflux d'un mélange méthanol-eau en présence d'hydroxyde de potassium pour conduire au phénol **99** voulu avec un rendement de 32% sur les deux étapes. Une fois le 4-hydroxy-2-méthylbenzoxazole préparé, nous avons essayé de l'oxyder avec du MnO₂ ou encore du PIFA,⁶³ mais ces essais n'ont

⁵⁹ Bréhu, L.; Fernandes, A.-C.; Lavergne, O. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 1437-1440.

⁶⁰ Lavergne, O.; Fernandes, A.-C.; Bréhu, L.; Sidhu, A.; Brézak, M.-C.; Prévost, G.; Ducommun, B.; Contour-Galcera, M.-O. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 171-175.

⁶¹ Ishii, H.; Hanaoka, T.; Asaka, T.; Harada, Y.; Ikeda, N. *Tetrahedron* **1976**, *32*, 2693-2698.

⁶² Crabbé, P.; Villarino, A.; Muchowski, J. M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **1973**, 2220-2222.

⁶³ Marminon, C.; Gentili, J.; Barret, R.; Nebois, P. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 735-739.

pas abouti. Finalement, la 6,7-dichloro-5,8-benzoxazolequinone a été obtenue avec un rendement de 25% par chloration oxydante.

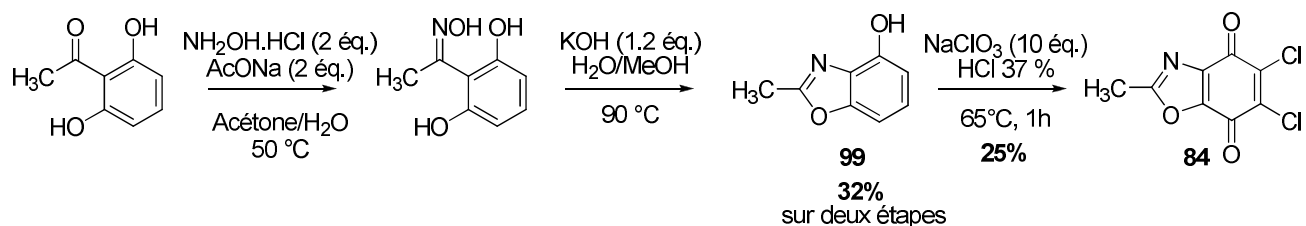


Schéma 3-20

La quinone dichlorée **84** a été tout d'abord engagée dans les conditions de thioalkylation précédemment utilisée mais sans succès. **84** a alors été placée en présence de pyridine et de thioglycolate de méthyle afin d'obtenir le dérivé dithioalkylé correspondant sous la forme d'un mélange d'hydroquinone **100** et de quinone **101**. Ce mélange est ensuite oxydé par du trichlorure de fer hexahydraté,⁶⁴ et **101** est obtenu après purification avec un rendement de 79% à partir de **84** (Schéma 3-21).

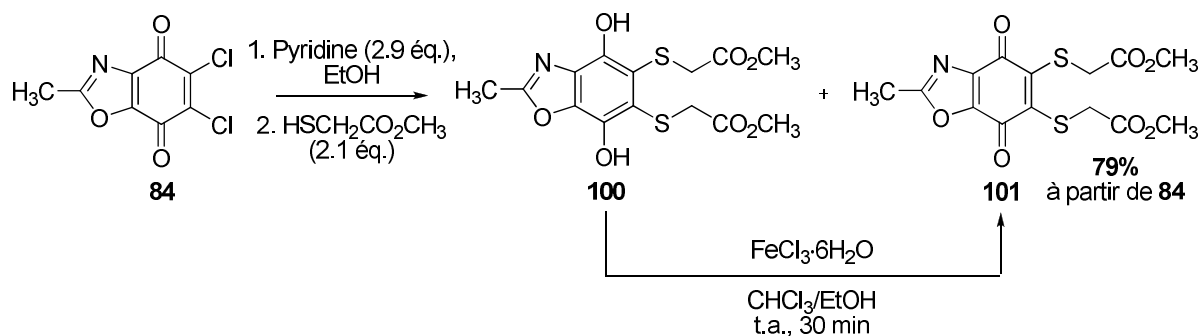


Schéma 3-21

⁶⁴ Porter, T. H.; von Klaudy, A.; Folkers, K. *J. Med. Chem.* **1973**, *13*, 1310-1311.

II.4.d. Préparation de la 6,7-bis(1-méthoxycarbonylméthylthio)-5,8-quinoxalinequinone **107**

i. Rappels bibliographiques

La quinoxalinequinone⁵⁸ **85** peut être préparée à partir de l'éther méthylique **102** soit directement par action du CAN^{44,49,58} soit en deux étapes : déméthylation avec du AlCl₃ anhydre et oxydation par de l'oxyde d'argent (Ag₂O) (Schéma 3-22).⁶⁵

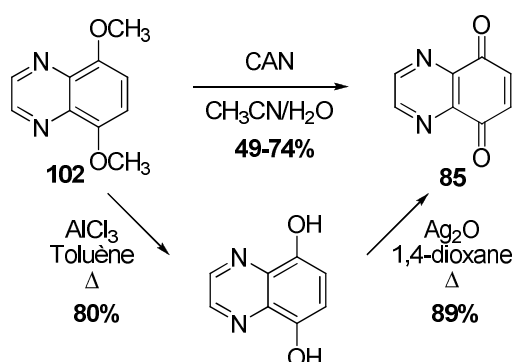


Schéma 3-22

102 peut être obtenu en trois étapes (Schéma 3-23): dinitration du 1,4-diméthoxybenzène en dérivé *ortho*, réduction et condensation avec le glyoxal (ou un de ses équivalents synthétiques).^{44,49,65,66}

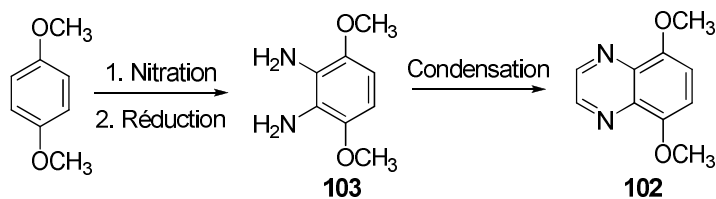


Schéma 3-23

Une autre approche pour l'obtention de **85** est basée sur l'oxydation (PIFA,⁴⁵ sel de Frémy⁶⁷) du 5-quinoxalinol **104** lui-même préparé en deux étapes par réduction

⁶⁵ Warren, J. D.; Lee, V. J.; Angier, R. B. *J. Heterocycl. Chem.* **1979**, *16*, 1617-1624.

⁶⁶ Besset, T.; Morin, C. *Synthesis* **2009**, 1753-1756.

⁶⁷ Shen, D. Q.; Cheng, Y.; An, L. K.; Bu, X. Z.; Huang, Z. S.; Gu, L. Q. *Chin. Chem. Lett.* **2008**, *19*, 533-536.

du 2-amino-3-nitrophénol commercial suivie d'une condensation⁶⁸ avec du glyoxal utilisé sous forme de double adduit avec le bisulfite de sodium (Schéma 3-24).⁶⁹

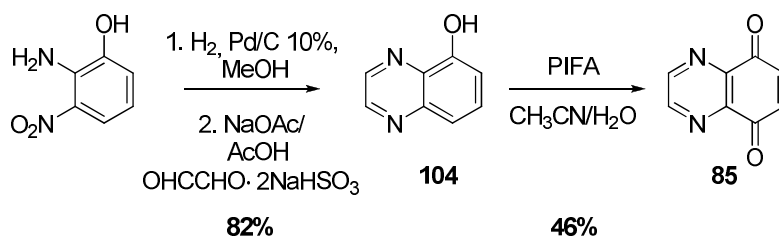


Schéma 3-24

Il est également possible de préparer **105**, analogue dichloré de **85**, par chloration du 8-amino-5-quinoxalinol avec du chlorure de thionyle⁶⁷ ou encore par action du chlorate de sodium dans l'acide chlorhydrique sur **106**⁷⁰ ou sur **102** (Schéma 3-25).²⁵

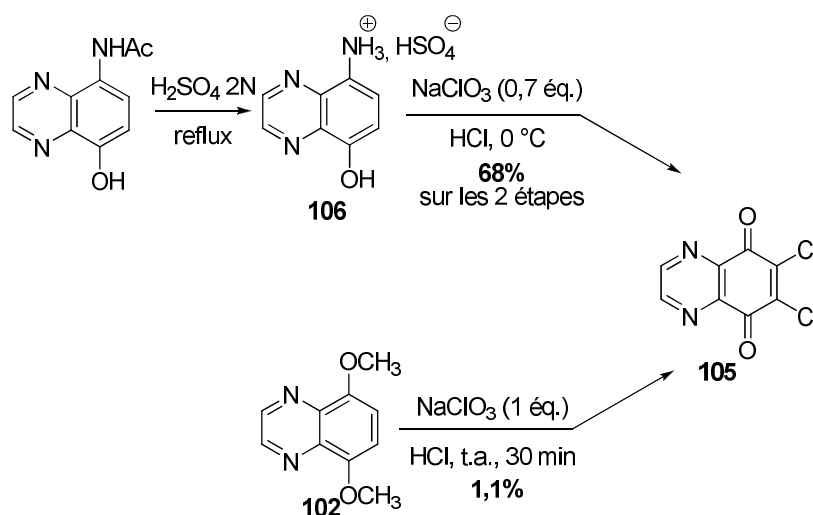


Schéma 3-25

Peu de cas de quinoxalinequinones thioalkylés ont été décrits à ce jour. A titre d'exemple, lorsque **85** est engagé en présence de thiophénol et de chlorure de cérium (III) heptahydraté, un dérivé monothioalkylé est obtenu (Schéma 3-26).⁷¹ Une autre méthode consiste à utiliser un analogue dichloré de **102**. Ce dernier peut alors

⁶⁸ Freeman, S. K.; Spoerri, P. E. *J. Org. Chem.* **1951**, *16*, 438-442.

⁶⁹ Keinan, S.; Paquette, W. D.; Skoko, J. J.; Beratan, D. N.; Yang, W.; Shinde, S.; Johnston, P. A.; Lazo, J. S.; Wipf, P. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 3256-3263.

⁷⁰ Han, G.; Shin, K. J.; Kim, D. C.; Yoo, K. H.; Kim, D. J.; Park, S. W. *Heterocycles* **1996**, *43*, 2495-2502.

⁷¹ Lin, H.-S.; Richett, M. E. Anticancer Agents. WO Patent 1999052365, 21 octobre, 1999.

subir une double substitution par l'éthanethiolate de sodium puis une oxydation par action du CAN (Schéma 3-27).⁷²

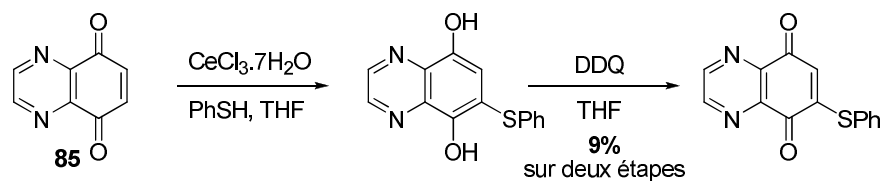


Schéma 3-26

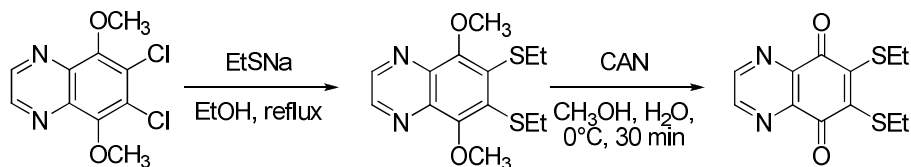
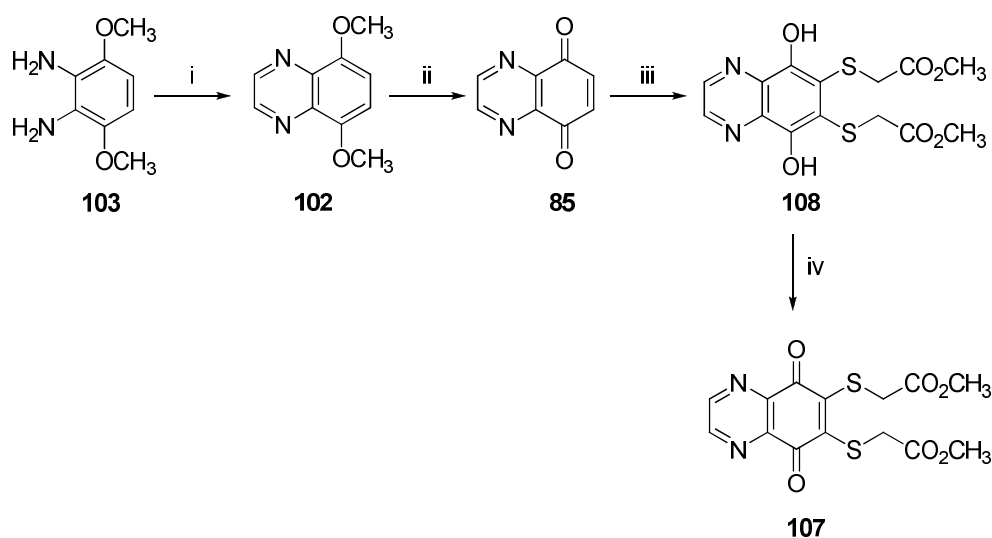


Schéma 3-27

ii. Synthèse

Nous avons réalisé la préparation de la quinone **107** en quatre étapes à partir de la diamine **103** (Schéma 3-28).



Conditions et réactifs : i) $(C_2H_2O_2)_3 \cdot 2H_2O$ (3,2 éq.), EtOH, reflux, 30 min, **99%**; ii) CAN (2,5 éq.), CH_3CN/H_2O , t.a., 20 min, **70%**; iii) $HSCH_2CO_2CH_3$ (2,2 éq.), NEt_3 (2,2 éq.), THF, **37%**; iv) CAN (2,1 éq.), CH_3CN/H_2O , t.a., 30 min, **24%**.

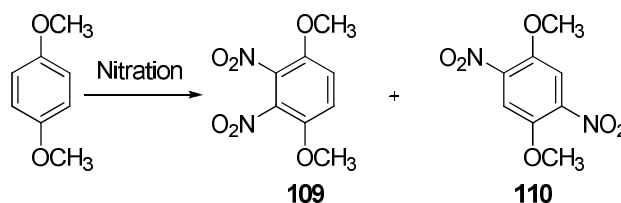
Schéma 3-28

⁷² McWhinnie, S. L. W.; Ahmad, A. R.; Candeias, L. P.; Mehta, L. K.; Parrick, J.; Shorta, E. L. *J. Chem. Res. (S)* **1998**, 224-225.

Nous avons choisi d'utiliser le dérivé diaminé **103**, un intermédiaire de synthèse qui a déjà permis d'accéder à différentes familles de composés comme les 5,8-quinolinequinones.⁴⁹

La dianiline **103** est obtenue par une séquence de nitration/réduction (Schéma 3-23). La réaction de nitration peut se faire selon des conditions diverses conduisant à un mélange d'isomères *ortho* **109** et *para* **110** en proportions variables selon les conditions expérimentales (Tableau 3-6).

Tableau 3-6 : Nitration du 1,4-diméthoxybenzène



Entrée	Conditions	Rapport 109:110 (%)	Rendement (%)	Réf.
1	HNO ₃ 70%, Ac ₂ O, 0°C	45:55	95	73
2	HNO ₃ conc., AcOH, t.a. puis 70-80 °C	- ^a	80	74
3	HNO ₃ conc., AcOH, t.a. puis 90 °C	- ^a	80	25
4	NO ₂ , O ₃ , CH ₂ Cl ₂ , -10 °C	54:46	81	75
5	NO ₂ BF ₄ , DME, -50 °C	- ^a	76	76
6	HNO ₃ conc., Ac ₂ O, 0°C	- ^a	70	77
7	HNO ₃ conc., 0-5°C, 24 °C puis reflux	88:12 ^b	92	78
8	HNO ₃ conc., 0 °C, t.a. puis 90 °C	89:11 ^b	89	79
9	HNO ₃ conc., 0°C, t.a. puis 100 °C	100:0	90 ^c	80
10	HNO ₃ conc., AcOH, t.a., 80 °C	- ^a	30 ^d	81
11	Ag _{0.51} K _{0.42} Na _{0.07} NO ₃ , K ₃ Fe(CN) ₆ (4 éq.), 160°C	45:55	35	82

^a Non spécifié

^b Rapport estimé par des données spectroscopiques (RMN ¹H et/ou CPG).

^c Rendement en **109** isolé.

^d Rendement en **110** isolé.

Nous avons choisi de réaliser la nitration du 1,4-diméthoxybenzène⁸⁰ dans les conditions de Hammershoj et coll. (Tableau 3-6, entrée 9). Un mélange d'isomères de **109** et de **110** en proportion 90:10 respectivement (RMN ¹H) a été obtenu, après

⁷³ Taleb, A.; Alvarez, F.; Nebois, P.; Walchshofer, N. *Heterocycl. Commun.* **2006**, *12*, 111-114.

⁷⁴ King, F. E.; Clark, N. G.; Davis, P. M. H. *J. Chem. Soc.* **1949**, 3012-3016.

⁷⁵ Nose, M.; Suzuki, H. *Synthesis* **2000**, 1539-1542.

⁷⁶ Dwyer, C. L.; Holzapfel, C. W. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 7843-7848.

⁷⁷ Narayan, S.; Kumar, V.; Pujari, H. K. *Indian J. Chem.* **1986**, *25B*, 267-270.

⁷⁸ Fisher, G. H.; Moreno, H. R.; Oatis, J. E., Jr.; Schultz, H. P. *J. Med. Chem.* **1975**, *18*, 746-752.

⁷⁹ Flader, C.; Liu, J.; Borch, R. F. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3157-3167.

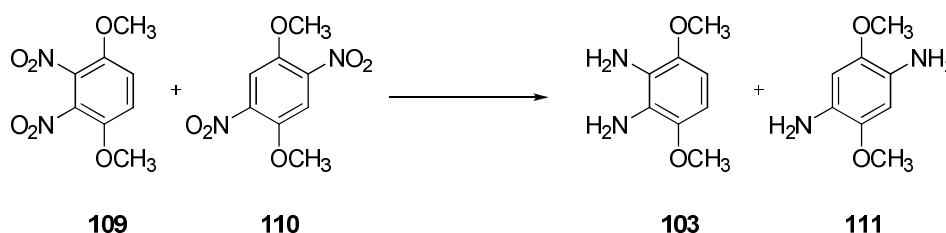
⁸⁰ Hammershoj, P.; Reenberg, T. K.; Pittelkow, M.; Nielsen, C. B.; Hammerich, O.; Christensen, J. B. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2786-2794.

⁸¹ Wu, J.; Fang, F.; Lu, W.-Y.; Hou, J.-L.; Li, C.; Wu, Z.-Q.; Jiang, X.-K.; Li, Z.-T.; Yu, Y.-H. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 2897-2905.

⁸² Mascal, M.; Yin, L.; Edwards, R.; Jarosh, M. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 6148-6151.

recristallisation dans l'acide acétique, avec un rendement de 80%.⁸³ Contrairement à ce qui a été décrit, il n'a pas été possible d'isoler **109** pur, par recristallisation de ce mélange.^{80,84} La comparaison des données RMN ¹H avec celles de la littérature a cependant permis d'affirmer que l'isomère majoritaire est bien le composé 2,3-disubstitué **109** (pour **109**:⁸⁰ 7,21 ppm (s, 2H aromatique), 3,92 ppm (s, OCH₃) et pour **110**:⁸¹ 7,56 ppm (s, 2H aromatique), 3,97 ppm (s, OCH₃)). La synthèse a donc été poursuivie, la nature de l'isomère majoritaire étant confirmée par ailleurs lors de l'étape de cyclisation, qui ne peut se produire qu'avec le dérivé *ortho*.

Nous nous sommes alors intéressés à la réduction du mélange d'isomères **109** et **110** qui avait déjà fait l'objet d'évaluations (Tableau 3-7).

Tableau 3-7 : Réduction des dérivés dinitrés **109** et **110**

Entrée	Dérivé(s)	Conditions	Rendement en 103 (%)	Réf.
1	109	H ₂ , PtO ₂ , EtOH	40	84
2	109	H ₂ , Ni Raney, EtOH, 50 °C	60	85
3	109	Sn (14,5 éq.), HCl conc., 100 °C	56 ^b	75
4	109	Sn (5,8 éq.), HCl (12N), 100 °C	98 ^a	73
5	109 + 110 (40:60)	Sn, HCl (12N), reflux	98	86
6	109 + 110 (89:11)	SnCl ₂ (9,1 éq.), HCl conc., 90-100 °C	78 ^b	79
7	109 + 110 ^c	H ₂ (2-3 bar), Ni Raney, MeOH	12 ^b	74
8	109	NH ₂ NH ₂ · xH ₂ O, Ni Raney,	55 ^b	77
9	109 + 110 ^c	Na ₂ S ₂ O ₄ (10 éq.), THF-MeOH (1:1), reflux	12	25
10	109 + 110 ^c	H ₂ (3,45 bar), PtO ₂ , EtOH	62 ^b	25
11	109	H ₂ (5 bar), Pd/C 10%, AcOEt	99	80
12	109 + 110 ^c	H ₂ , Pd/C 10 %, AcOH	94 ^b	87

^a Mélange des deux régioisomères (rapport non indiqué), isolés sous forme de chlorhydrates.

^b Le brut a été directement engagé dans l'étape suivante (rendement sur deux étapes).

⁸³ La séparation des isomères dinitrés a aussi été réalisée par chromatographie mais les auteurs ont utilisé un large excès de silice (regarder référence 73).

⁸⁴ Weinberger, L.; Day, A. R. *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 1451-1455.

⁸⁵ Zakhs, E. R.; Efros, L. S. *J. Org. Chem. USSR* **1966**, *2*, 1089-1095.

⁸⁶ Alvarez, F.; Ghérardi, A.; Nebois, P.; Sarciron, M. E.; Pétavy, A.-F.; Walchshofer, N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 977-979.

⁸⁷ Gum, W. F.; Joullié, M. M. *J. Org. Chem.* **1967**, *32*, 53-59.

Bien que certaines méthodes partent du seul dérivé *ortho* dinitré (entrées 1-4, 8, 11), il est possible d'envisager la réduction du mélange de dérivés dinitrés (entrées 5-7, 9, 10, 12). Dans ce cas, le mélange de diamines obtenu est engagé dans la réaction de condensation, au cours de laquelle seule la diamine *ortho* peut conduire à un composé bicyclique. La purification n'intervient alors qu'à ce stade comme cela a été effectué dans le cas des quinoxalines.^{25,49,74,87,88}

Dans notre cas, c'est sur le mélange de régioisomères **109** et **110** (90:10) que la réduction a été conduite par hydrogénation catalytique en présence de palladium sur charbon (10%) et à pression atmosphérique. En arrêtant la réaction dès la consommation du produit de départ, nous avons isolé le composé **112** avec un rendement de 78%.⁸⁹ Ce dernier est issu de la mono-réduction de **109** et est aisément purifié par chromatographie sur gel de silice (Figure 3-19). Son spectre de RMN ¹H est en accord avec la littérature.⁹⁰ La constante de couplage observée pour les deux protons aromatiques (³J = 9 Hz) permet de s'assurer qu'il s'agit bien de l'isomère *ortho* et de confirmer aussi que l'isomère majoritaire issu de la dinitration du 1,4-diméthoxybenzène est le composé **109**.

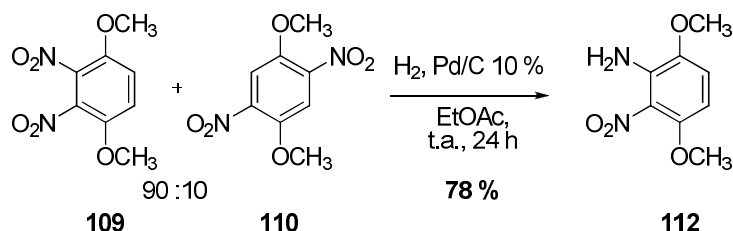


Figure 3-19 : Réduction partielle du mélange de dérivés dinitrés **109** et **110**

Il est important de noter que lors de la formation de **112**, la deuxième réduction devant conduire au dérivé diaminé est lente ce qui nous a permis de l'isoler.

Nous avons ensuite obtenu la diamine **103** *via* la réduction catalytique de **112** avec un excellent rendement de 97% (Figure 3-20).⁴⁴

⁸⁸ Bock, H.; Dickmann, P.; Herrmann, H.-F. *Z. Naturforsch.* **1991**, *46b*, 326-338.

⁸⁹ Entwistle, I. D.; Johnstone, R. A. W.; Povall, T. J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **1975**, 1300-1301.

⁹⁰ Lai, C. W.; Lam, C. K.; Lee, H. K.; Mak, T. C. W.; Wong, H. N. C. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 823-826.

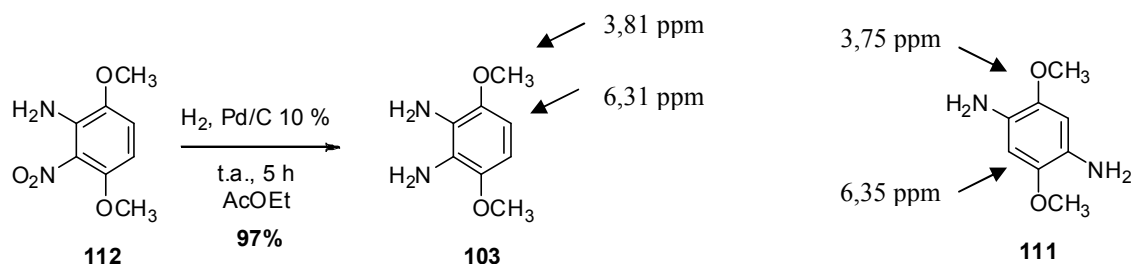
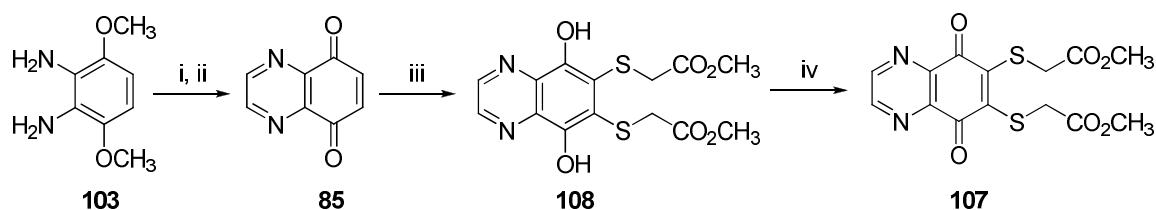


Figure 3-20 : Réduction de **112** par hydrogénation catalysée sur Pd/C et représentation de l'isomère **111**

La structure de **103** est confirmée par RMN ^1H . On note la présence de signaux caractéristiques d'une molécule symétrique⁸⁰ et qui diffèrent des signaux de **111** (Figure 3-20).⁹¹

La diamine *ortho* pure peut toutefois être obtenue directement à partir du mélange des dérivés di-nitrés sans isoler le dérivé mono nitré **112**.⁶⁶ En effet, lorsque l'hydrogénation du mélange de **109** et **110** dans l'acétate d'éthyle est conduite jusqu'à son terme à température ambiante, seul **103** est obtenu après filtration sur une couche de célite[®]. Par cette méthode, la diamine **103** est isolée avec un rendement de 83% à partir du mélange d'isomères.⁹²

Une fois la diamine préparée, nous avons poursuivi avec la préparation de la quinone **107** (Schéma 3-28).



Conditions et réactifs : i) $(\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2)_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3,2 éq.), EtOH, reflux, 30 min, **99%**; ii) CAN (2,5 éq.), $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, t.a., 20 min, **70%**; iii) $\text{HSCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ (2,2 éq.), NEt_3 (2,2 éq.), THF, **37%**; iv) CAN (2,1 éq.), $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, t.a., 30 min, **24%**.

Schéma 3-28

Pour cela, **103** a été engagé dans une réaction de condensation avec le trimère du glyoxale dihydraté au reflux de l'éthanol. Ceci nous a conduits à **102** de façon

⁹¹ Miller, S. E.; Lukas, A. S.; Marsh, E.; Bushard, P.; Wasielewski, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7802-7810.

⁹² Cette observation a été confirmée lors d'un essai effectué à partir d'un mélange de **109** et **110** en rapport 60:40. Dans ce cas, seule la diamine **103** a été isolée avec un rendement de 51% par rapport au mélange de départ. L'utilisation de méthanol pour la filtration finale a permis d'obtenir **111** impur.

quantitative. Le spectre RMN ^1H du brut réactionnel présente un signal à 8,83 ppm dû aux protons du noyau quinoxaline. Puis, la déméthylation oxydante de **102** a été menée par action du CAN et la quinoxaline-5,8-dione **85** a été obtenue avec un rendement de 70%. Sa structure a été confirmée par l'apparition d'un signal à 182,5 ppm propre au groupement carbonyle (RMN ^{13}C).

Par la suite, nous avons engagé **85** dans les conditions de dithioalkylation précédemment décrites pour conduire à **108** avec un rendement isolé de 37%. L'obtention de l'hydroquinone **108** a été confirmée par RMN ^1H où l'on observe le signal relatif au groupement hydroxyle à 8,01 ppm ainsi que la présence des deux singulets à 3,86 et 3,68 ppm correspondants respectivement aux groupements méthylène et méthyle de la chaîne thioalkyle. Ce dernier a été oxydé par action du CAN et **107** a alors été obtenu avec un rendement de 24% pour lequel l'apparition d'un signal à 176,7 ppm en RMN ^{13}C a été observé (Schéma 3-28).

II.4.e. Préparation de la 5,6-bis(1-méthoxycarbonylméthylthio)-4,7-benzo[b]thiophènequinone **118**

i. Rappels bibliographiques

L'accès à la benzo[b]thiophènequinone non substituée **86** repose sur l'oxydation de l'éther méthylique **113** (Schéma 3-29).^{93,94,95} Deux synthèses de ce dernier ont été décrites.

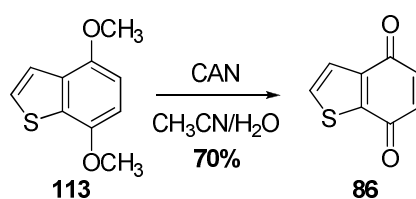


Schéma 3-29

La première méthode implique la mononitration⁹⁶ du 2,5-diméthoxybenzaldéhyde suivie de la formation du noyau thiophène par action du thioglycolate de méthyle. Cette cyclisation résulte vraisemblablement d'une

⁹³ Hepburn, S. A.; Jackson, Y. A. *Heterocycles* **2006**, *68*, 975-981.

⁹⁴ Cherif, M.; Cotelle, P.; Catteau, J.-P. *Heterocycles* **1992**, *34*, 1749-1758.

⁹⁵ Valderrama, J. A.; Valderrama, C. *Synth. Commun.* **1997**, *27*, 2143-2157.

⁹⁶ Tapia, R.; Torres, G.; Valderrama, J. A. *Synth. Commun.* **1986**, *16*, 681-687.

substitution du groupement nitro par le thiolate, suivie d'une condensation aldolique intramoléculaire. La décarboxylation de **114** ainsi obtenu est effectuée après saponification, par chauffage à haute température en présence d'oxyde de cuivre (Schéma 3-30a).^{95,97}

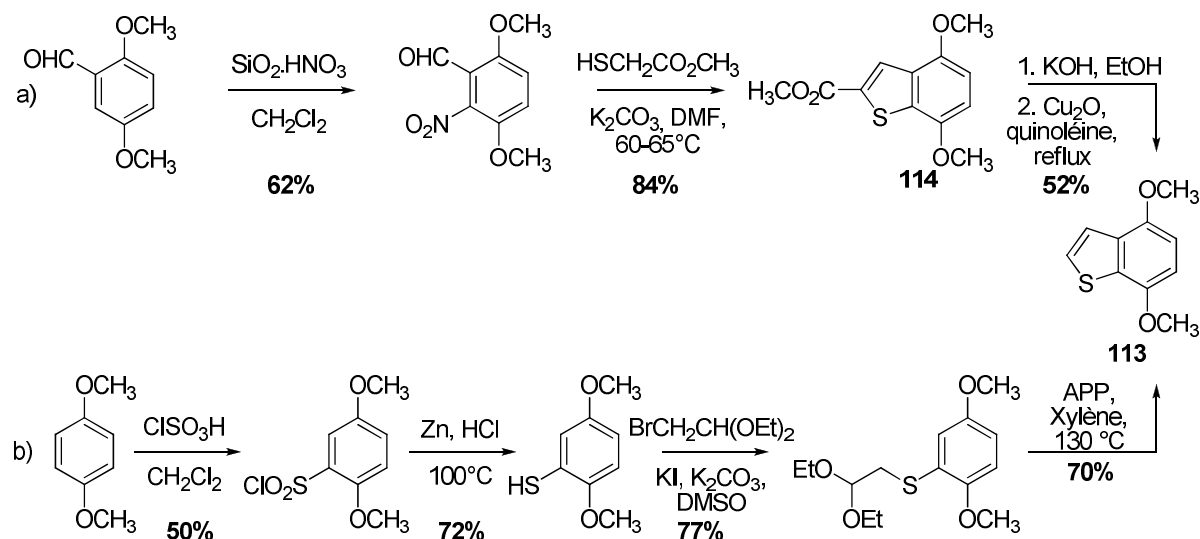


Schéma 3-30

La seconde approche (Schéma 3-30b) consiste à sulfonyler le 1,4-diméthoxybenzène puis à réduire le composé obtenu par du zinc en milieu acide.⁹⁸ Après alkylation du thiophénol, la formation du cycle est effectuée par chauffage en milieu acide fort de l'aldéhyde intermédiaire,⁹⁴ méthode d'obtention des benzo[*b*]thiophènes.⁹⁹

Les dérivés soufrés peuvent être préparés par une séquence impliquant la lithiation dirigée du 3-(*N,N*-diéthylcarboxamyl)thiophène, suivie de la réaction avec le 3-thiophénylacrylaldehyde. La cyclisation est réalisée après une deuxième lithiation de l'intermédiaire formé qui, après hydrolyse, est oxydé par l'air (Schéma 3-31).¹⁰⁰

⁹⁷ Pessoa-Mahana, H.; Acevedo, R. R.; Saitz, B.C.; Araya-Maturana, R.; Pessoa-Mahana, C. D. *Synth. Commun.* **2007**, *37*, 1227-1235.

⁹⁸ Xu, Y.-Z.; Chen, C. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2006**, *49*, 1187-1200.

⁹⁹ a) Tilak, B. D. *Tetrahedron* **1960**, *9*, 76-95. b) Chapman, N. B.; Clarke, K.; Sawhney, S. N. *J. Chem. Soc. C* **1968**, 518-522. c) Dickinson, R. P.; Iddon, B. *J. Chem. Soc. C* **1968**, 2733-2737.

¹⁰⁰ Iwao, M.; Kuraishi, T. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 6213-6216.

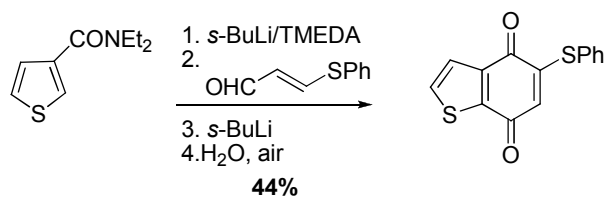


Schéma 3-31

Une alternative consiste à utiliser un dioxobenzo[*b*]thiophène déjà fonctionnalisé (Schéma 3-32).¹⁰¹

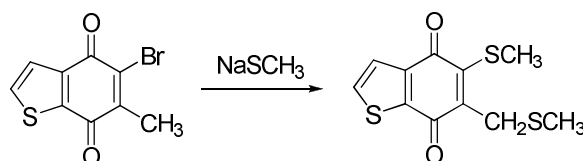


Schéma 3-32

Dans notre cas, il n'a pas été possible d'utiliser les méthodes précédemment décrites. Nous avons donc choisi de fonctionnaliser la quinone **86** dans les conditions développées par l'équipe de Ryu.⁶

ii. Synthèse

Pour la préparation de **86**, nous avons synthétisé le dérivé **113** avec un rendement de 13% (quatre étapes) selon la procédure de la littérature décrite dans le Schéma 3-30b.^{94,98} Ensuite, l'oxydation du 4,7-diméthoxybenzo[*b*]thiophène **113** par le CAN selon les conditions décrites par Catteau et coll.⁹⁴ nous a permis d'isoler la quinone **86** avec un rendement de 58% (Schéma 3-29). Lorsqu'on fait réagir **86** dans les conditions précédemment décrites, seule la dégradation du système a été observée. Nous avons donc utilisé une séquence de réactions : thioalkylation, oxydation,⁹⁴ thioalkylation et oxydation⁵⁸ pour obtenir la quinone désirée, seule une purification étant effectuée à la fin. On notera que par la suite l'étape de thioalkylation se fera généralement en l'absence de base selon les conditions décrites par Ryu et coll.¹⁰²

¹⁰¹ Thomson, R. H.; Worthington, R. D. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1980**, 282-288.

¹⁰² Ryu, C.-K.; Lee, J. Y.; Park, R.-E.; Ma, M.-Y.; Nho, J.-H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 127-131.

La première réaction a conduit à un mélange de régioisomères **115** qui a pu être observé sur le spectre de RMN ^1H par les signaux caractéristiques des atomes d'hydrogène portés par l'hydroquinone à 6,49 et 6,42 ppm. De plus, la forme réduite du composé obtenu a été confirmée par spectroscopie IR et par spectrométrie de masse. Ensuite, ce mélange a directement été oxydé par le CAN conduisant à **116** (structure confirmée par IR) qui a été engagé sans purification dans une deuxième réaction de thioalkylation. Le spectre RMN ^1H du dérivé **117** ainsi préparé ne présente plus les protons aromatiques remplacés par des signaux à 3,66, 3,65, 3,61 et 3,60 ppm des groupements méthylènes et méthyles de deux chaînes thioalkyles confirmant ainsi leur présence. Finalement, l'oxydation de **117** par action du CAN a permis l'obtention du produit désiré **118** avec un rendement global de 40% sur quatre étapes (Schéma 3-33), sa structure ayant été confirmée par la présence de deux groupements carbonyles à 174,8 et 173,4 ppm en RMN ^{13}C .

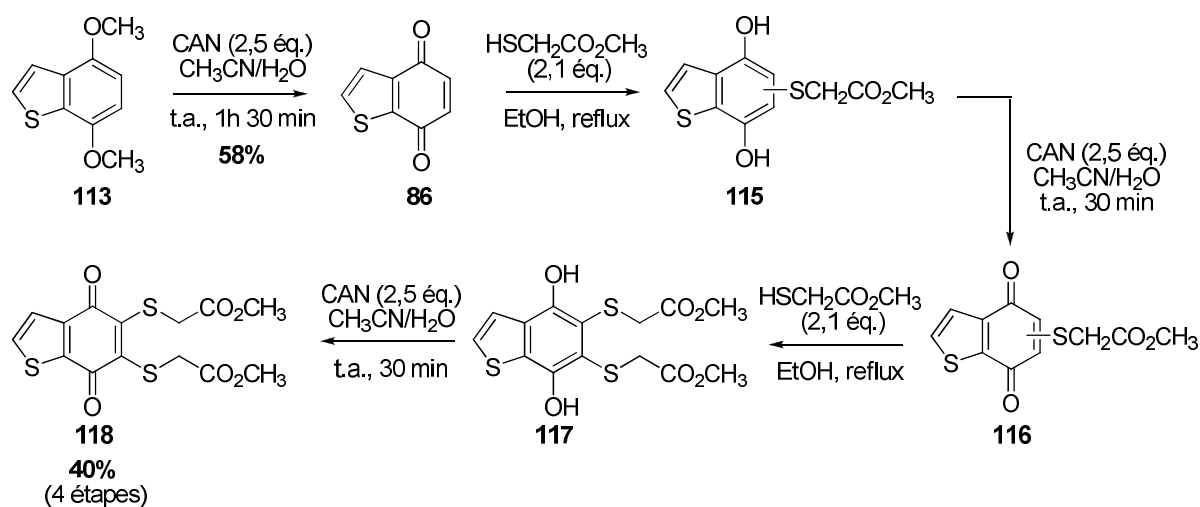


Schéma 3-33

II.4.f. Préparation de la 6,7-bis(1-méthoxycarbonylméthylthio)-5,8-quinazolinequinone **121**

i. Rappels bibliographiques

La synthèse du composé parent **87** repose sur l'oxydation de la 5,8-diméthoxyquinazoline **119** obtenue à partir du 2,5-diméthoxy-

benzaldéhyde.^{25,103,104} La nitration de ce dernier a conduit au 3,6-diméthoxy-2-nitrobenzaldéhyde.¹⁰⁵ La fonction aldéhyde est alors transformée en dérivé aminal suivi de la réduction de la fonction nitro. Dans ces conditions, l'amine intermédiaire n'est pas isolée puisqu'elle conduit directement à **119** (Schéma 3-34).²⁵

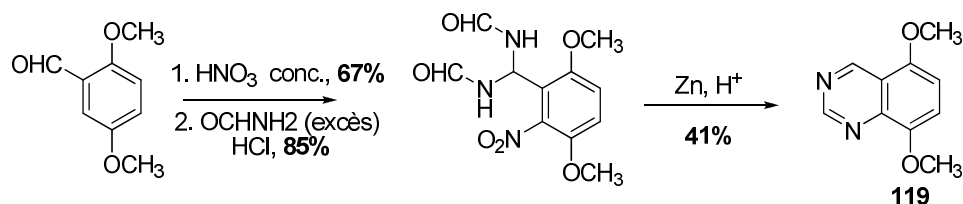


Schéma 3-34

Le passage de **119** à **87** (Schéma 3-35) peut être effectué soit par oxydation directe par le CAN¹⁰⁶ soit après déméthylation puis oxydation par le sel de Frémy¹⁰⁷ ou par le dichromate de potassium.^{108,109}

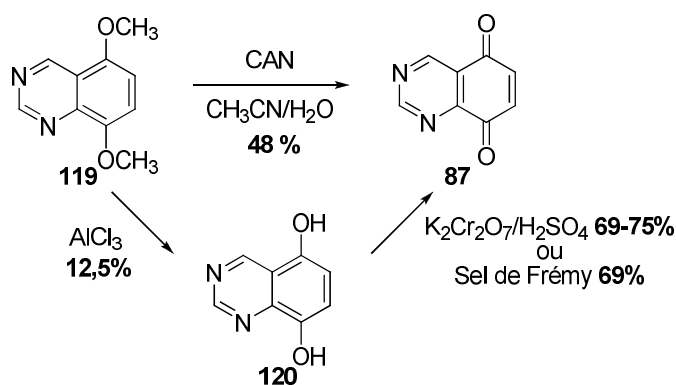


Schéma 3-35

Il est également possible de préparer des quinazolines substituées sur la partie quinone (Schéma 3-36).⁵⁸

¹⁰³ Malesani, G.; Pietrogrande, A.; Rodighiero, G. *Farmaco Ed. Sci.* **1968**, *23*, 765-777.

¹⁰⁴ Park, H. J.; Kim, Y.-S.; Kim, J. S.; Lee, E.-J.; Yi, Y.-J.; Hwang, H. J.; Suh, M.-E.; Ryu, C.-K.; Lee, S. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 3385-3388.

¹⁰⁵ Muchowski, J. M.; Maddox, M. L. *J. Mex. Chem. Soc.* **2005**, *49*, 24-31.

¹⁰⁶ Potts, K. T.; Bhattacharjee, D.; Walsh, E. B. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 2011-2021.

¹⁰⁷ Ryu, C.-K.; Shin, K.-H.; Seo, J.-H.; Kim, H.-J. *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, *37*, 77-82.

¹⁰⁸ Malesani, G.; Marcolin, F.; Rodighiero, G. *J. Med. Chem.* **1970**, *13*, 161-162.

¹⁰⁹ Ryu, C.-K.; Yi, Y.-J.; Choi, I. H.; Chae, M. J.; Han, J.-Y.; Jung, O.-J.; Lee, C.-O. *Med. Chem. Res.* **2004**, *13*, 249-258.

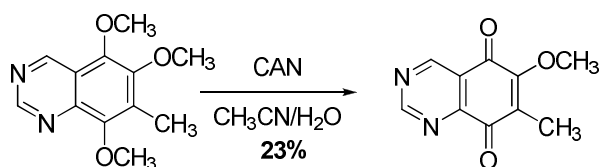


Schéma 3-36

Une autre approche consiste à oxyder un dérivé aminé pour obtenir un dérivé de **87** (Schéma 3-37).¹¹⁰

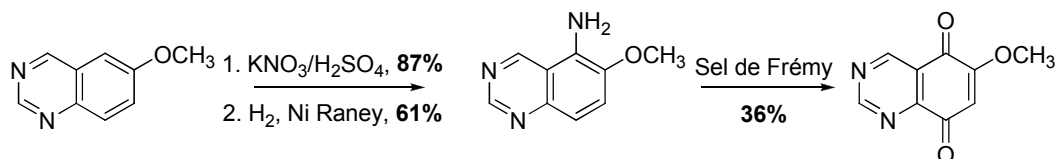


Schéma 3-37

Il est possible de préparer la quinone dichlorée **121** soit par chloration de **119** par le couple HNO₃/HCl,^{25,104} soit par oxydation de **120**^{109,111} (Schéma 3-38).

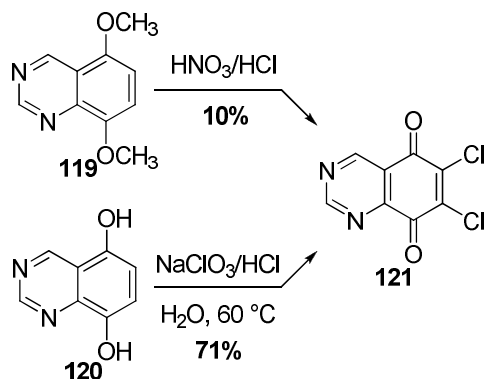
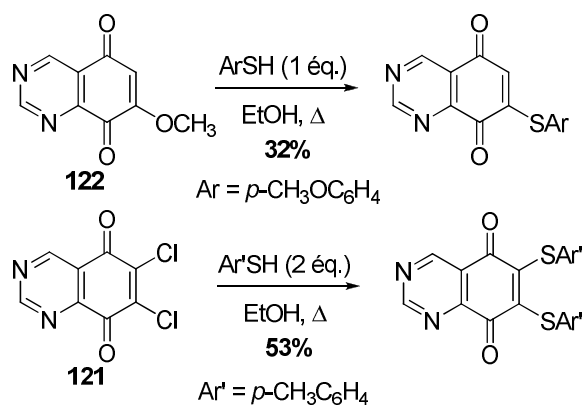


Schéma 3-38

La thioalkylation des quinazolequinones peut être effectuée à partir de **122** ou encore du dérivé **121**. En effet, l'alkylation de la quinone **122** conduit au dérivé monoalkylé. En revanche, la quinone dithioalkylée est obtenue après une substitution nucléophile de **121** (Schéma 3-39).¹¹¹

¹¹⁰ Renault, J.; Giorgi-Renault, S.; Baron, M.; Maillet, P.; Paoletti, C.; Cros, S.; Voisin, E. *J. Med. Chem.* **1983**, *26*, 1715-1719.

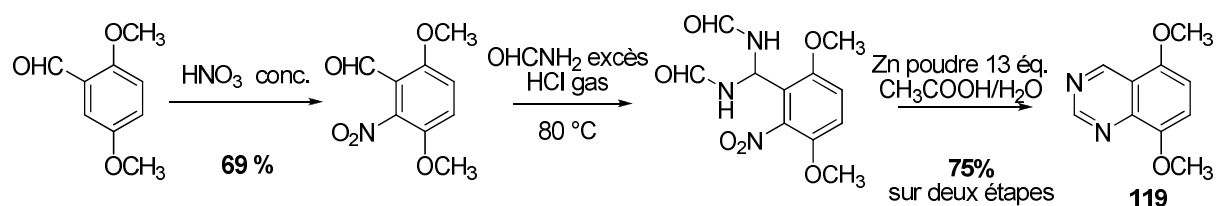
¹¹¹ Ryu, C.-K.; Shim, J.-Y.; Yi, Y.-J.; Choi, I. H.; Chae, M. J.; Han, J.-Y.; Jung, O.-J. *Arch. Pharm. Res.* **2004**, *27*, 990-996.



Sch\u00e9ma 3-39

ii. Synth\u00e8se

Pour obtenir **87**, nous avons d'abord pr\u00e9par\u00e9 **119** (Sch\u00e9ma 3-40) en trois \u00e9tapes \u00e0 partir du 2,5-dim\u00e9thoxybenzald\u00e9hyde commercial conform\u00e9ment aux travaux de la litt\u00e9rature pr\u00e9sent\u00e9s pr\u00e9c\u00e9demment (Sch\u00e9ma 3-35).



Sch\u00e9ma 3-40

L'oxydation de la 5,8-dim\u00e9thoxyquinazoline **119** par le CAN permet d'obtenir la quinone **87** qui, apr\u00e8s avoir \u00e9t\u00e9 chauff\u00e9e au reflux d'\u00e9thanol en pr\u00e9sence de thioglycolate de m\u00e9thyle, conduit au d\u00e9riv\u00e9 monothioalkyl\u00e9 **123** sous la forme d'un m\u00e9lange de deux r\u00e9gioisom\u00e8res. Le m\u00e9lange brut est alors engag\u00e9 dans une \u00e9tape d'oxydation pour r\u00e9g\u00e9n\u00e9rer la quinone **124**, et cette derni\u00e8re a \u00e9t\u00e9 convertie en hydroquinone **125** apr\u00e8s thioalkylation. Enfin, l'oxydation de **125** a donn\u00e9 la quinazolin\u00e9dione **126** avec un rendement de 31% sur quatre \u00e9tapes (Sch\u00e9ma 3-41).

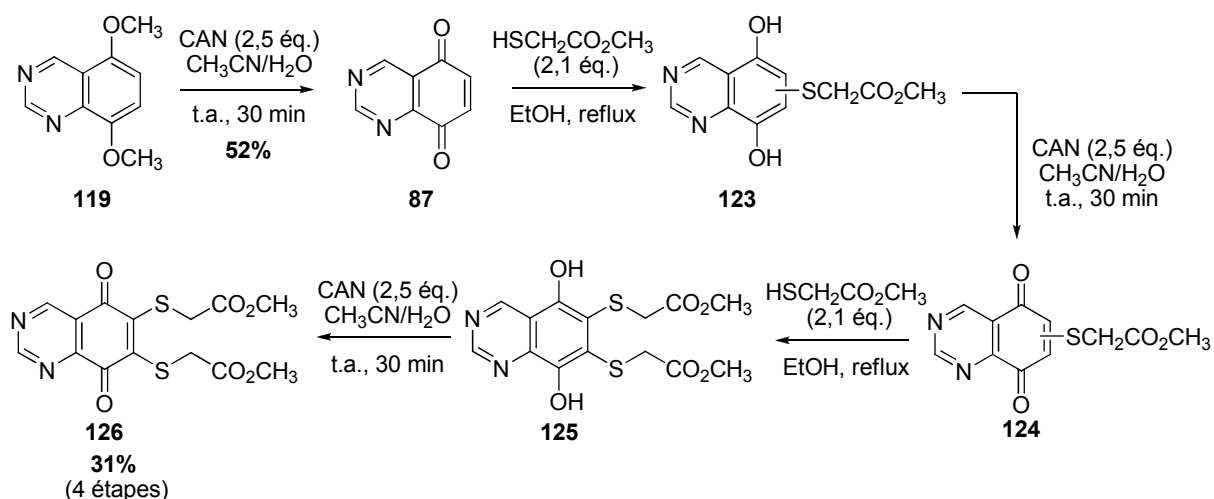


Schéma 3-41

II.4.g. Préparation de la 5,6-bis(1-méthoxycarbonylméthylthio)-4,7-indolequinone 128 et de la N-méthyl-5,6-bis(1-méthoxycarbonylméthylthio)-4,7-indolequinone 129

i. Rappels bibliographiques

L'accès aux indolequinones relève de trois approches. La première repose sur la construction du cycle pyrrole à partir d'un dérivé aminoquinone, soit par photoaddition (Schéma 3-42a)¹¹² soit par addition radicalaire (Schéma 3-42b).¹¹³

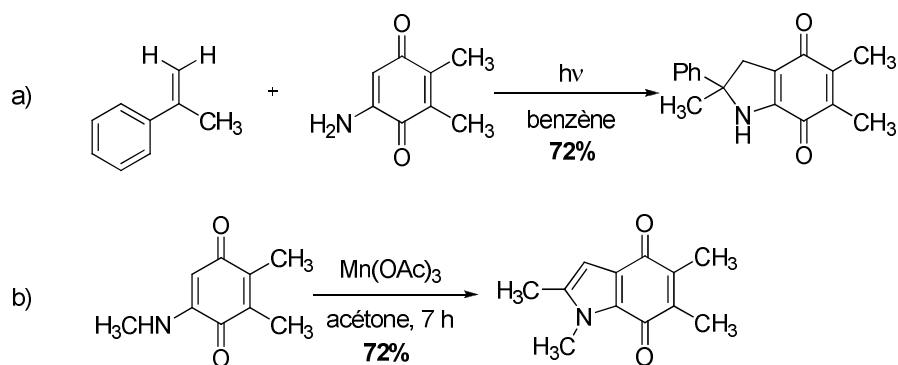


Schéma 3-42

Les deux autres méthodes procèdent par oxydation de dérivés indoliques (Schéma 3-43). En effet, il peut s'agir de l'oxydation du 4-hydroxyindole commercial

¹¹² Kobayashi, K.; Takeuchi, H.; Seko, S.; Kanno, Y.; Kujime, S.; Suginome, H. *Helv. Chim. Acta* **1993**, 76, 2942-2950.

¹¹³ Chuang, C.-P.; Tsai, A.-I. *Tetrahedron* **2007**, 63, 11911-11919.

par le sel de Frémy,^{114,115} ou encore celle du 4,7-diméthoxy-1*H*-indole **127** dont l'atome d'azote a été préalablement protégé sous forme de carbamate.^{116,117} L'indole est alors oxydé par le CAN,^{94,116,118} puis déprotégé en milieu acide.¹¹⁷

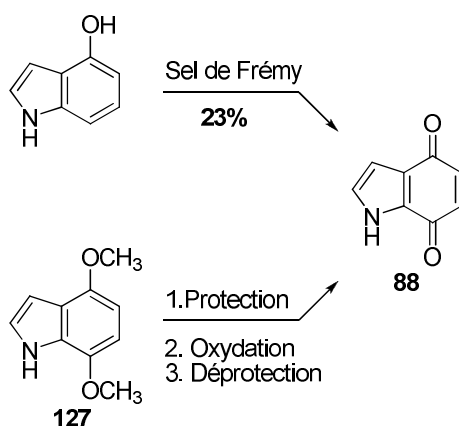
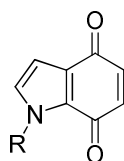


Schéma 3-43

Par ailleurs, il est aussi possible de préparer une indolequinone *N*-substituée (Figure 3-21). Ainsi, on peut avoir accès à de nombreux dérivés.^{63,116, 119,120}

Figure 3-21 : Indolequinone *N*-substituée

Le précurseur **127** est généralement préparé en trois étapes: nitration du 2,5-diméthoxybenzaldéhyde,^{121,122} préparation de l'*ortho*-β-dinitrostyrène,^{121,122,123} puis cyclisation réductrice (Schéma 3-44a).^{121,122} Une autre possibilité est d'alkyler la

¹¹⁴ Carr, G.; Chung, M. K. W.; Mauk, G.; Andersen, R. J. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 2634-2637.

¹¹⁵ Ryu, C.-K.; Lee, J. Y.; Park, R.-E.; Ma, M.-Y.; Nho, J.-H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 127-131.

¹¹⁶ Legentil, L.; Bastide, J.; Delfourne, E. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2473-2475.

¹¹⁷ Kitahara, Y.; Nakahara, S.; Numata, R.; Kubo, A. *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, *33*, 2122-2128.

¹¹⁸ Jackson, Y. A.; Billimoria, A. D.; Sadanandan, E. V.; Cava, M. P. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 5429-5432.

¹¹⁹ Phillips, R. M.; Naylor, M. A.; Jaffar, M.; Doughty, S.W.; Everett, S. A.; Breen, A. G.; Choudry, G. A.; Stratford, I. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4071-4080.

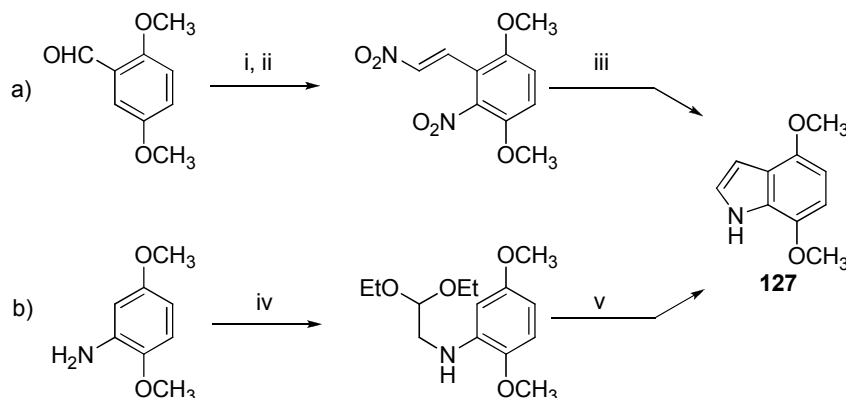
¹²⁰ Tapia, R. A.; Prieto, Y.; Pautet, F.; Walchshofer, N.; Fillion, H.; Fenet, B.; Sarciron, M.-E. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 3407-3412.

¹²¹ Bénéteau, V.; Besson, T. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2673-2676.

¹²² Knölker, H.-J.; Hartmann, K. *Synlett* **1993**, 755-757.

¹²³ Showalter, H. D. H.; Pohlmann, G. *Org. Prep. Proced. Int.* **1992**, *24*, 484-488.

2,5-diméthoxyaniline avec le diéthylacétal du bromoacétaldéhyde. La cyclisation est ensuite réalisée en présence d'acide polyphosphorique (Schéma 3-44b).⁹⁴



Conditions et réactifs: i) HNO₃ 69%, CH₂Cl₂, 0°C, 1 h, **79%**; ii) NH₄OAc, CH₃NO₂, reflux, 1 h, **70%**; iii) Pd/C, EtOH, HCO₂NH₄, reflux, 1 h, **84%**; iv) diéthylacétal du bromoacétaldéhyde, NaHCO₃, DMF, **71%**; v) APP, xylène, reflux, **63%**.

Schéma 3-44

Seuls deux exemples d'indolequinones soufrées sont connus. Lorsque l'indolequinone **88** est placée au reflux de l'éthanol en présence de deux équivalents de thiophénol (Schéma 3-45),¹¹⁵ on parvient en une étape à la quinone dithioalkylée. Par contre, avec un indole *N*-méthylé, il est possible d'obtenir le dérivé monothioalkylé en quatre étapes à partir d'un *N*-méthylpyrrole (Schéma 3-46) comme cela a été le cas dans la série benzo[*b*]thiophènequinone.¹⁰⁰

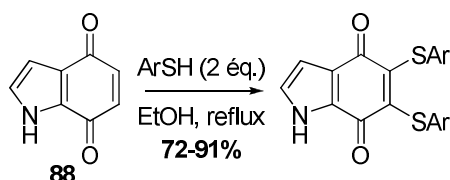


Schéma 3-45

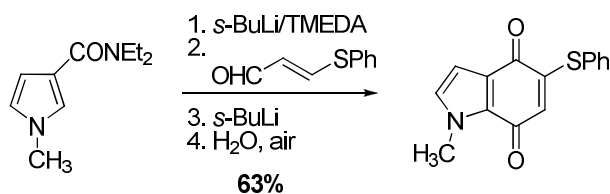


Schéma 3-46

ii. Synthèse

Pour la préparation de **127**, nous avons évalué les deux procédures mentionnées dans le Schéma 3-44. Il s'avère que la méthode impliquant la nitration du 2,5-diméthoxybenzaldéhyde (Schéma 3-44a) se trouve être reproductible à grande échelle ce qui nous a poussés à poursuivre la synthèse par cette voie (Schéma 3-47).

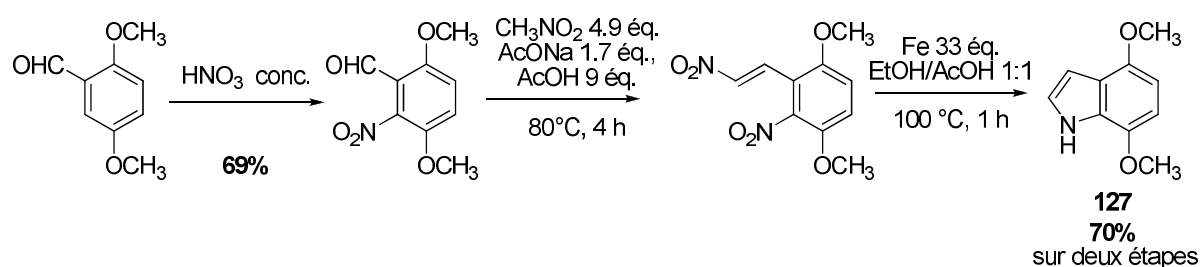


Schéma 3-47

Une fois **127** obtenu, différentes conditions d'oxydation ont été testées. L'oxydation par le CAN,⁹⁴ ou par le PIFA⁶³ conduisaient à la dégradation du produit. Afin d'éviter cela, nous avons protégé l'atome d'azote de **127** par un groupement Boc, puis l'intermédiaire obtenu a été directement oxydé par le CAN puis déprotégé en milieu acide pour conduire à la quinone **88** avec un rendement de 14% sur 3 étapes.

Après purification, la thioalkylation de **88** a conduit directement contre toute attente au produit dithioalkylé sous sa forme quinone **128** (Schéma 3-48). En effet, on note en RMN ¹H, la présence des signaux relatifs aux groupements thioalkyles (4,01 et 3,94 ppm (méthylène), 3,73 et 3,72 ppm (méthyle)) et en RMN ¹³C, on retrouve les signaux correspondants aux deux fonctions carbonyles à 176,6 et 171,2 ppm.

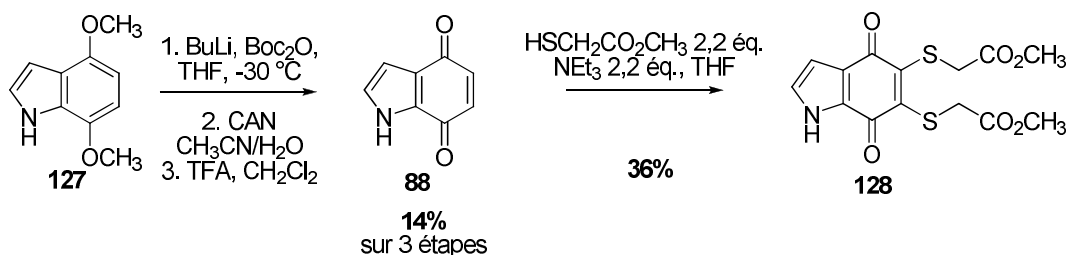


Schéma 3-48

En parallèle, la préparation de l'indole *N*-méthylé a été réalisée par alkylation de **127** avec l'iodure de méthyle et avec un rendement de 67%. L'oxydation en **89** a été effectuée par action du PIFA.⁶³ Avec le CAN, seuls des produits de dégradation ont été obtenus. La thioalkylation de **89** permet d'obtenir **129** en une seule étape avec un rendement non optimisé de 22 % (Schéma 3-49).

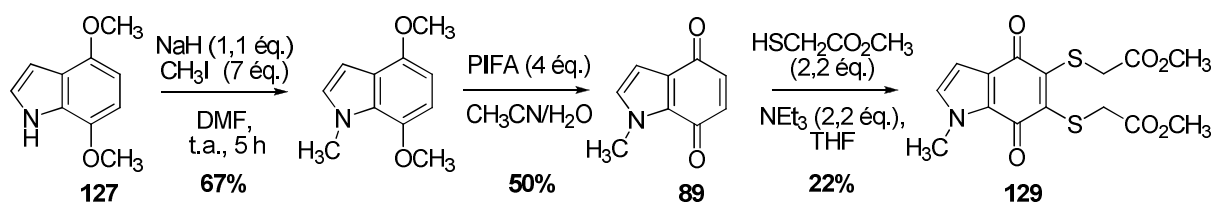


Schéma 3-49

II.4.h. Préparation de la 5,6-bis(1-méthoxycarbonylméthylthio)-4,7-benzothiazolequinone **131**

i. Rappels bibliographiques

Les benzothiazolequinones peuvent être préparées à partir du 2,5-diméthylbenzothiazole en trois étapes: nitration, puis réduction et enfin oxydation par le sel de Frémy (Schéma 3-50).^{22,124,125,126}

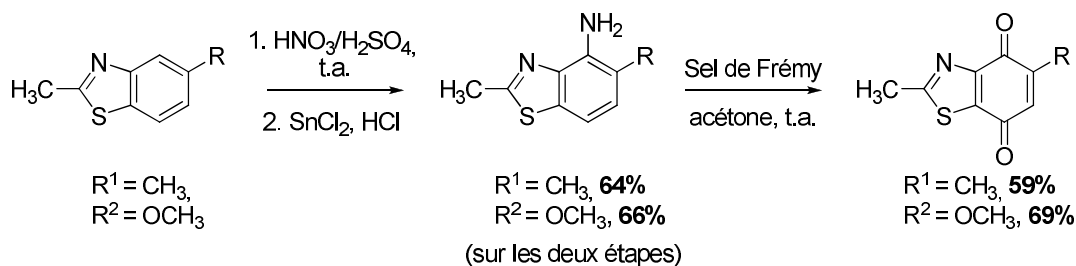


Schéma 3-50

Une autre méthode pour la préparation de ces quinones comportant un groupement phényle en position 2, repose sur la thionation d'un thiobenzamide qui est cyclisé puis transformé en quinone par action du CAN (Schéma 3-51).^{127,128,129}

¹²⁴ Ryu, C.-K.; Kang, H.-Y.; Lee, S. K.; Nam, K. A.; Hong, C. Y.; Ko, W.-G.; Lee, B.-H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 461-464.

¹²⁵ Ryu, C.-K.; Choi, K. U.; Shim, J.-Y.; You, H.-J.; Choi, I. H.; Chae, M. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 4003-4008.

¹²⁶ Newsome, J. J.; Colucci, M. A.; Hassani, M.; Beall, H. D.; Moody, C. J. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 3665-3673.

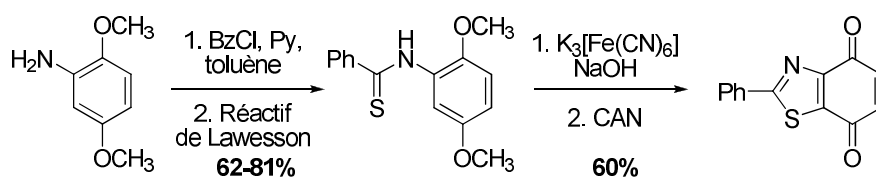


Schéma 3-51

Nous avons décidé d'utiliser cette dernière approche en trois étapes pour préparer la benzothiazolédione **90** à partir de la 2,5-diméthoxyaniline disponible au laboratoire.

Les dérivés thioalkylés sont ensuite généralement obtenus par addition nucléophile d'un thiophénol à des benzothiazolédiones (Schéma 3-52).¹²⁵

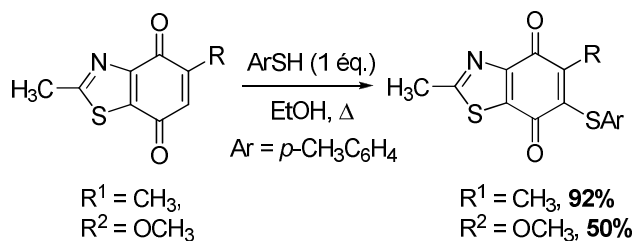


Schéma 3-52

ii. Synthèse

Nous avons préparé le 2-méthyl-4,7-diméthoxy-benzothiazole **130** en trois étapes à partir de la 2,4-diméthoxyaniline commerciale. L'acétylation de la 2,5-diméthoxyaniline par le chlorure d'acétyle en milieu basique¹³⁰ est suivie de la transformation de l'acétamide en thioamide.¹²⁷ La cyclisation de ce dernier a lieu en milieu basique en présence du ferricyanure de potassium (Schéma 3-53).¹³¹

¹²⁷ Lyon, M. A.; Lawrence, S.; Williams, D. J.; Jackson, Y. A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1999**, 437-442.

¹²⁸ Downer-Riley, N. K.; Jackson, Y. A. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 3039-3043.

¹²⁹ Downer-Riley, N. K.; Jackson, Y. A. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 7741-7744.

¹³⁰ Could, S. J.; Shen, B.; Whittle, Y. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 7932-7938.

¹³¹ Fries, K.; Reitz, H. *Liebigs Ann.* **1937**, *527*, 38-60.

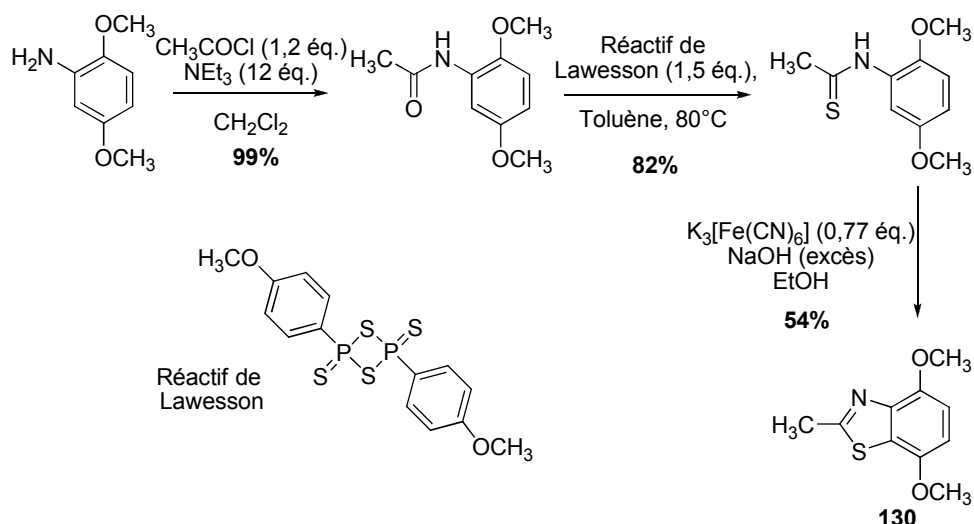


Schéma 3-53

Nous avons ensuite oxydé **130** par action du CAN⁵⁸ en quinone **90** avec un rendement de 55%. Enfin, pour dithioalkyler la 2-méthylbenzothiazolequinone, une séquence de quatre étapes a été nécessaire afin d'isoler **131** avec un rendement de 46%. De façon analogue, au cas de la benzothiophènequinone, l'identification des différents intermédiaires a été réalisée par spectroscopie RMN, IR et spectrométrie de masse (Schéma 3-54).

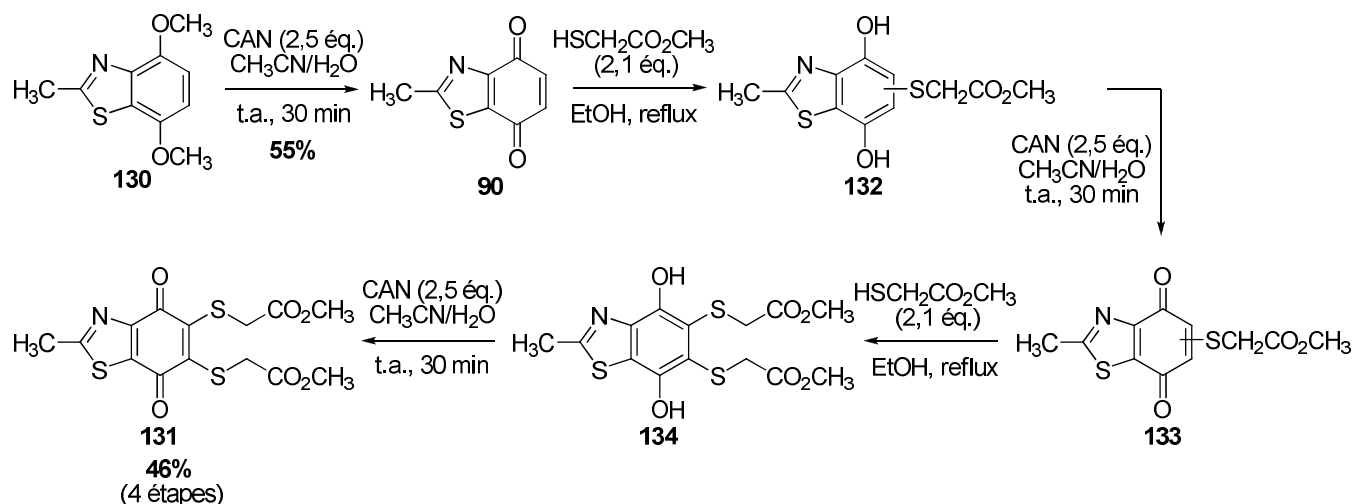


Schéma 3-54

II.5. Conclusion

Nous avons ainsi réalisé la préparation de neuf hétéroquinones dithioalkylées à partir des hétéroquinones correspondantes. En ce qui concerne la réaction de dithioalkylation, les méthodes de synthèse utilisées ont dues être adaptées à chaque série ce qui est en accord avec les données de la littérature où on ne trouve pas de conditions générales.

Nos travaux donnent accès à un panel de composés aux structures variées. L'activité biologique de l'ensemble des dérivés obtenus est actuellement en cours d'évaluation.

III. Synthèse d'hétéroquinones inhibitrices des glutathiones réductases et de thiorédoxines réductases

Le paludisme est une maladie mortelle transmise par le moustique *Anophèles spp.* qui entraîne le décès d'un million de personnes par an. Il est causé par des protozoaires *Plasmodium spp.* (*falciparum*, *vivax*, *malariae* et *ovale*) qui infectent les globules rouges et s'y multiplient. En raison des phénomènes de résistance développés par le parasite aux traitements existants comme la chloroquine (Figure 3-22), la conception de nouveaux médicaments antipaludéens constitue donc un défi thérapeutique.¹³²

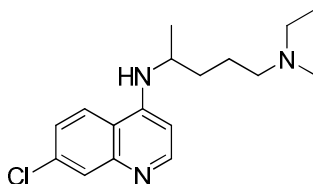


Figure 3-22 : Structure de la chloroquine

Le parasite responsable du paludisme se caractérise par une croissance rapide et sa grande capacité à se reproduire ce qui s'accompagne généralement de la formation

¹³² Sahu, N. K.; Sahu, S.; Kohli, D. V. *Chem. Biol. Drug. Des.* **2008**, *71*, 287-297.

d'espèces toxiques. Ce stress oxydant (*oxidative stress*) peut se traduire d'une part par la dégradation de l'hémoglobine de la cellule hôte. Dans ce cas, la présence des hèmes libres peut causer des dommages dans la cellule, entraîner la lyse des globules rouges ou encore inhiber les enzymes du parasite. D'autre part, ce même stress peut induire la production d'espèces oxygénées réactives (ROS) par le système immunitaire de la cellule hôte, espèces qui sont alors transformées par des enzymes en peroxyde d'hydrogène.¹³³

Pour se défendre, le parasite fait appel à des systèmes antioxydants (glutathione et thiorédoxine) qui lui permettent de maintenir un équilibre rédox.

Après une introduction générale sur les glutathiones réductases et les thiorédoxines réductases ainsi que sur leurs inhibiteurs, nous poursuivrons par des travaux préliminaires qui nous permettront d'identifier la molécule possédant la meilleure activité pour finir par les résultats concernant la préparation d'une terpénylquinone.

III.1. Généralités sur les glutathiones réductases et thiorédoxines réductases

Le système glutathione est constitué d'un tripeptide, la glutathione (GSH) et de la glutathione réductase (GR). La GSH est la forme réduite du couple rédox GSH/GSSG et la glutathione réductase a pour rôle la réduction de l'espèce GSSG en glutathione (GSH). Cette dernière est alors capable de réduire des espèces oxydées comme le peroxyde d'hydrogène.

Quant au système thiorédoxine, il est composé de la thiorédoxine réductase (TrxR) et de la thiorédoxine ($\text{Trx}(\text{SH})_2$) et fonctionne de façon similaire. Ces systèmes sont interdépendants puisqu'il est également possible d'obtenir la glutathione à partir de la $\text{Trx}(\text{SH})_2$ (Schéma 3-55).^{133,134}

¹³³ Becker, K.; Tilley, L.; Vennerstrom, J. L.; Roberts, D.; Rogerson, S.; Ginsburg, H. *Int. J. Parasit.* **2004**, *34*, 163-189.

¹³⁴ Krauth-Siegel, R. L.; Bauer, H.; Schirmer, R. H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 690-715.

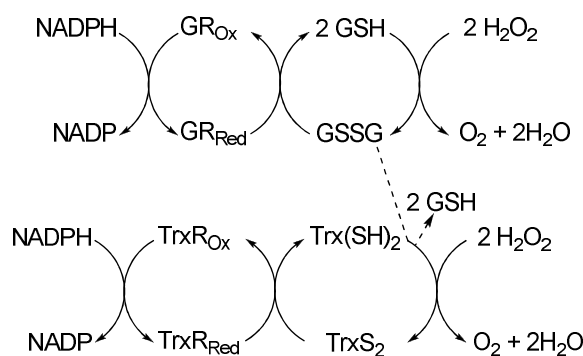


Schéma 3-55

Ces deux processus, basés sur la glutathione et la thiorédoxine, peuvent être décrits comme étant un ensemble de réactions que le parasite utilise comme moyen de défense contre les espèces oxygénées réactives et d'autres formes de stress chimique. C'est la raison pour laquelle les protéines capables de participer au sein du parasite à des processus rédox ont été étudiées comme cibles thérapeutiques.¹³² En effet, en inhibant la transformation de GSSG en glutathione (GSH) par GR, la quantité de GSH disponible pour neutraliser les espèces oxydées provenant des ROS est diminuée. Par conséquent, le système de défense développé par le parasite contre les ROS perd en efficacité, pouvant entraîner sa destruction (Schéma 3-56).^{134,135} Les inhibiteurs de la thiorédoxine réductase agissent de façon analogue.

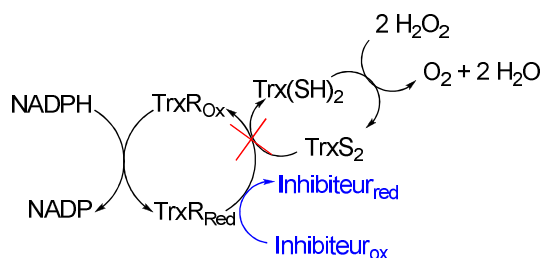


Schéma 3-56

III.2. Les inhibiteurs des glutathiones réductases et thiorédoxines réductases

Différentes possibilités peuvent être considérées pour empêcher la réduction de GSSG ou de TrxS₂ par les enzymes appropriées. En effet, on peut envisager un composé capable d'entrer en compétition avec le substrat naturel sur le site actif de

¹³⁵ Bauer, H.; Fritz-Wolf, K.; Winzer, A.; Kühner, S.; Little, S.; Yardley, V.; Vezin, H.; Palfey, B.; Schirmer, R. H.; Davioud-Charvet, E. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 10784-10794.

l'enzyme (inhibiteurs compétitifs et réversibles) ou pouvant former une liaison covalente avec l'enzyme créant aussi un complexe stable en bloquant le site actif de façon irréversible (inhibiteurs non compétitifs et irréversibles). Des composés ne présentant pas d'analogie structurale avec le substrat peuvent également se fixer sur une autre région de l'enzyme, dont ils modifient alors la conformation bloquant ainsi l'accès au site actif (inhibition allostérique).¹³⁶

Parmi les inhibiteurs compétitifs ou irréversibles de la glutathione réductase et de la thiorédoxine réductase, on trouve des composés tels que des 1,4-naphtoquinones (ménadione ou ses dérivés, JD145), et des phénothiaziniums (bleu de méthylène) (Schéma 3-57).^{44,134}

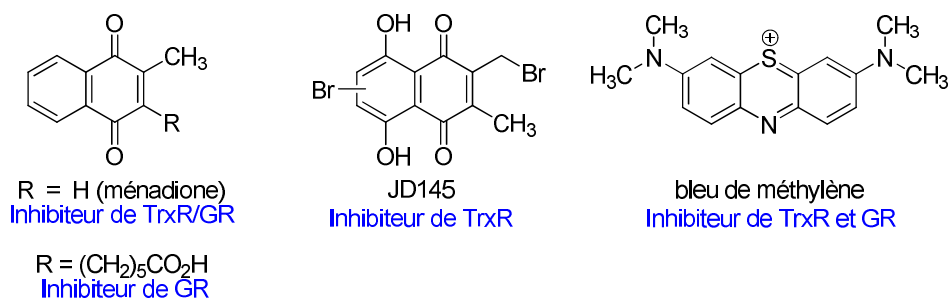


Schéma 3-57

Il est intéressant de noter que des quinones telles que le sterekunthal¹³⁷ ou l'isopinnatal se sont révélés actifs contre *P. falciparum*, le second restant efficace (IC₅₀ = 0,76 µM) sur des souches résistantes à la chloroquine¹³⁸ bien que leurs activités n'aient pas été directement corrélées avec l'inhibition d'oxydo-réductases (Schéma 3-58).

¹³⁶ Patrick, G. L. *An introduction to medicinal chemistry*, 2nd ed., Oxford University Press: New-York, 2001, 43-48.

¹³⁷ Akuigiyili, D. N.; Houghton, P. J. *Phytochemistry* 1993, 32, 1015-1018.

¹³⁸ Weiss, C. R.; Moideen, S. V. K.; Croft, S. L.; Houghton, P. J. *J. Nat. Prod.* 2000, 63, 1306-1309.

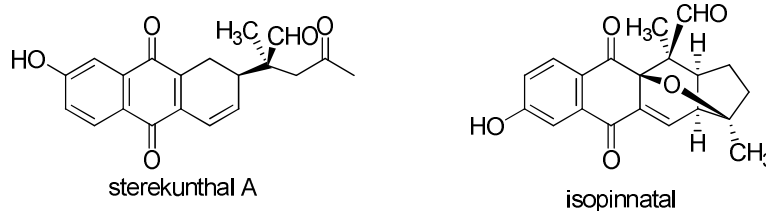


Schéma 3-58

Par contre, des naphthoquinones, substrats de la glutathione réductase, ont été utilisées pour vectoriser des aminoquinoléines apparentées à la chloroquine.^{139,140}

III.3. Travaux préliminaires

L'introduction d'hétéroatomes pouvant moduler le potentiel rédox des quinones, nous avons envisagé la préparation d'hétéroquinones, analogues de la ménadione (Schéma 3-57), afin d'évaluer leurs activités en tant qu'inhibiteurs de GR et TrxR. A cet effet, les dérivés azotés suivants (Figure 3-23) ont été préparés.

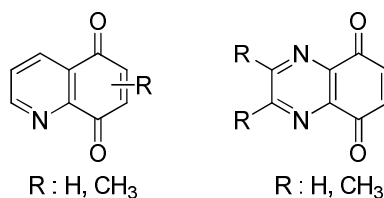


Figure 3-23 : Représentation générale des dérivés azotés préparés.

III.3.a. Préparation des dérivés en série quinoléinequinone

Nous nous sommes intéressés à la synthèse de la quinoléinequinone **71** et de trois méthylquinoléinequinones dans le but de connaître l'influence sur l'activité biologique de la position des méthyles (**135**, **136**) ainsi que l'impact sur les propriétés biologiques dans le cas où la quinone est disubstituée (**137**) et ne se comporte plus comme un accepteur de Michaël (Schéma 3-59). Ces quatre composés ont déjà été obtenus dans la littérature mais à d'autres fins.

¹³⁹ Friebolin, W.; Jannack, B.; Wenzel, N.; Furrer, J.; Oeser, T.; Sanchez, C. P.; Lanzer, M.; Yardley, V.; Becker, K.; Davioud-Charvet, E. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 1260-1277.

¹⁴⁰ Davioud-Charvet, E.; Delarue, S.; Biot, C.; Schwöbel, B.; Boehme, C. C.; Müssigbrodt, A.; Maes, L.; Sergheraert, C.; Grellier, P.; Schirmer, R. H.; Becker, K. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4268-4276.

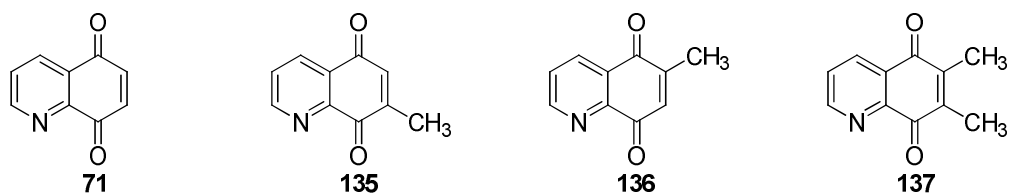


Schéma 3-59

i. Rappels bibliographiques

Plusieurs voies de synthèse ont été décrites pour la formation de ces quinolonequinones. En effet, **71**^{45,46,141} peut être préparée par oxydation comme cela a été développé dans le paragraphe II.4.a.i. Bien que la synthèse des dérivés **135**,^{46,141} **136**,^{46,141,142} et **137**¹⁴³ puisse être réalisée par oxydation d'aminquinolones (Schéma 3-60), l'accès à ces dernières est difficile. Nous avons donc choisi de préparer les quinones **135**, **136**, **137** par une réaction de cycloaddition [4+2] entre la *N,N*-diméthylhydrazone de l'acroléine et une bromoquinone substituée (Schéma 3-61).¹⁴⁴

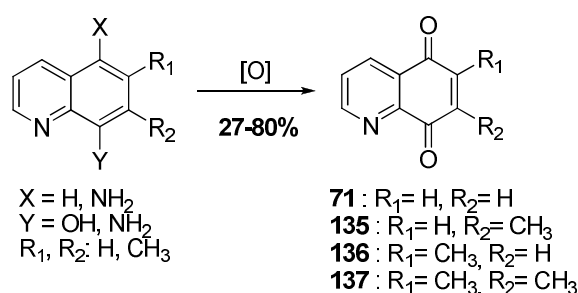


Schéma 3-60

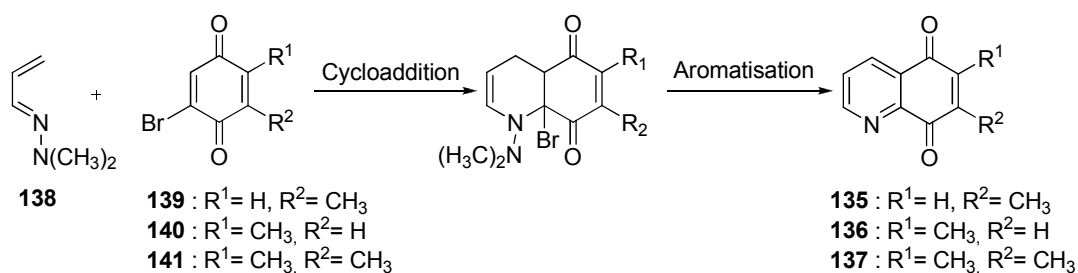


Schéma 3-61

Une limitation de cette réaction de cycloaddition réside dans l'addition éventuelle de la diméthylamine libérée dans le milieu réactionnel sur la benzoquinone

¹⁴¹ Long, R.; Schofield, K. *J. Chem. Soc.* **1953**, 3161-3167.

¹⁴² Christiansen, W. G.; Dolliver, M. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1941**, *63*, 1470.

¹⁴³ Lin, A. J.; Lillis, B. J.; Sartorelli, A. C. *J. Med. Chem.* **1975**, *18*, 917-921.

¹⁴⁴ Pautet, F.; Nebois, P.; Bouaziz, Z.; Fillion, H. *Heterocycles* **2001**, *54*, 1095-1138.

de départ,¹⁴⁵ ou sur la quinoléinequinone¹⁴⁶ formée intermédiairement, ce qui peut conduire à des produits secondaires. Pour éviter cela, une solution consiste à utiliser une quinone bromée puisque, dans ce cas, le bromure d'hydrogène libéré lors de l'étape d'aromatisation peut alors piéger la diméthylamine.¹⁴⁶

ii. Synthèse

La *N,N*-diméthylhydrazone de l'acroléine **138** a été synthétisée par condensation de la *N,N*-diméthylhydrazine avec l'acroléine en catalyse acide selon les conditions de la littérature (Schéma 3-62).¹⁴⁷

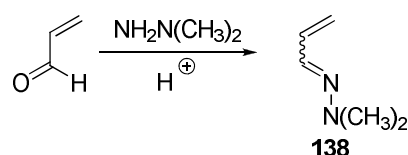


Schéma 3-62

La bromation régiosélective du 2,5-diméthoxytoluène effectuée en milieu tamponné nous a conduits au dérivé **142** avec un rendement de l'ordre de 80%.¹⁴⁸ La déméthylation oxydante de ce dernier par action du CAN a permis l'obtention de la 2-bromo-5-méthyl-1,4-benzoquinone **139** avec un rendement de 91% (Schéma 3-63).¹⁴⁹

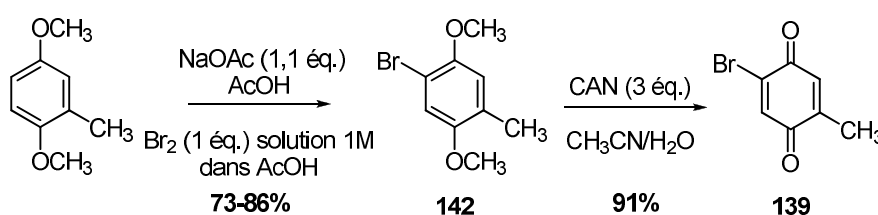


Schéma 3-63

La dibromation¹⁵⁰ de l'*o*-crésol nous a conduits au dibromophénol **143** qui a été oxydé avec CrO₃ pour conduire à l'isomère **140** (Schéma 3-64).¹⁵¹

¹⁴⁵ Pérez, J. M.; Avendaño, C.; Menéndez, J. C. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 6573-6586.

¹⁴⁶ Pérez, J. M.; López-Alvarado, P.; Avendaño, C.; Menéndez, J. C. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 1561-1567.

¹⁴⁷ Gómez-Bengoia, E.; Echavarren, A. M. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 3497-3501.

¹⁴⁸ Wagner, J. M.; McElhinny, C. J.; Lewin, A. H.; Carroll, F. I. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 2119-2125.

¹⁴⁹ Jacob III, P.; Callery, P. S.; Shulgin, A. T.; Castagnoli Jr, N. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 3627-3629.

¹⁵⁰ Gut, L.; Liu, C.; Xu, J.; King, T. E. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 3199-3210.

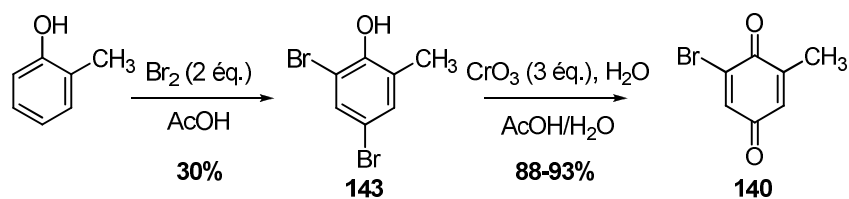


Schéma 3-64

La 2-bromo-5,6-diméthyl-1,4-benzoquinone (**141**) a été préparée en deux étapes à partir du 2,3-diméthylphénol par dibromation radicalaire suivie d'une oxydation par CrO₃ (Schéma 3-65).¹⁵¹

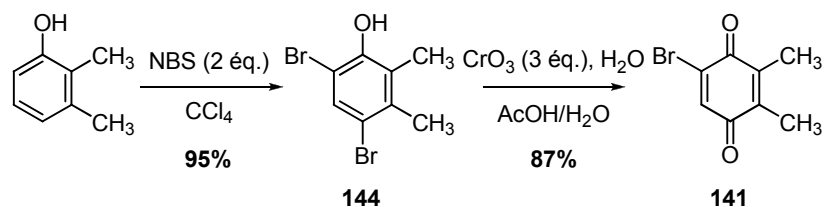


Schéma 3-65

Ces trois bromoquinones **139**, **140** et **141** ont été engagées dans une réaction de Diels-Alder avec la *N,N*-diméthylhydrazone de l'acroléine **138**.

Nous avons obtenu les quinones **135** et **136** après 4 h de réaction dans le toluène à 80 °C avec des rendements de 7 et 10% respectivement (Schéma 3-66). Ces faibles rendements peuvent s'expliquer par le fait que ces quinoléinequinones se dégradent lors de leur purification (colonne de gel de silice ou recristallisation).

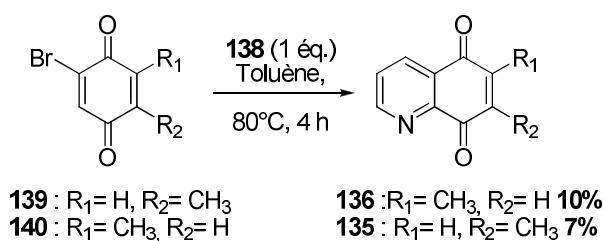


Schéma 3-66

¹⁵¹ Murphy, W. S.; Bertrand, M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 4115-4119.

De façon analogue, la cycloaddition de **141** a été effectuée à 80 °C dans le toluène pendant 33 h et en fin de réaction, **137** a pu être isolé avec un rendement de 41% (Schéma 3-67).

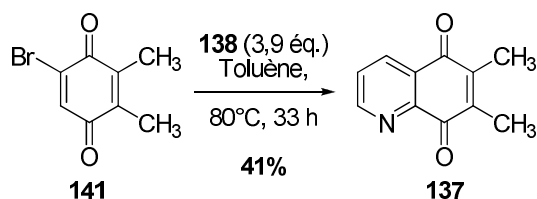


Schéma 3-67

Cette étape de cycloaddition qui pose des problèmes à la fois en termes de rendements de réaction mais surtout en termes de purification, a cependant permis d'obtenir les quinoxalinequinones **71**, **135**, **136** et **137** en quantités suffisantes pour en permettre leur évaluation biologique comme inhibiteurs d'oxydo-réductases.

III.3.b. Préparation des dérivés en série quinoxalinequinones

Comme cela a été présenté précédemment (paragraphe II.4.d), la synthèse des quinoxalinequinones repose sur la condensation d'*ortho* diamines aromatiques avec des composés α -dicarbonylés.

Le composé diaminé **103**¹⁵² conduit ainsi, par condensation¹⁵³ avec le glyoxal ou la butane-2,3-dione, aux quinoxalines **102** et **145** (Schéma 3-68).

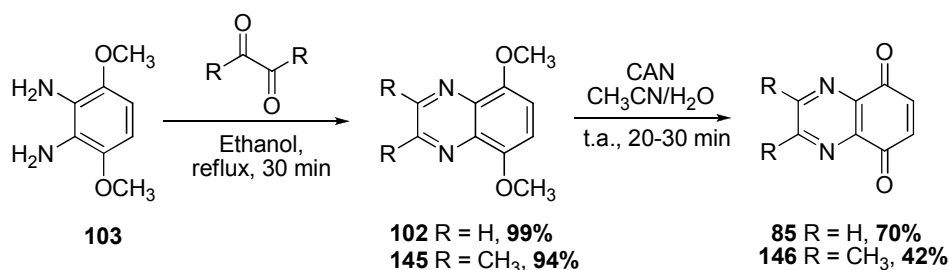


Schéma 3-68

La préparation de **85** par action du CAN à partir de **102** a déjà été présentée et celle de **146** repose sur une réaction analogue. En effet, **145** est déméthylé dans des

¹⁵² Pour la synthèse de la diamine **103**, voir les pages 120-124.

¹⁵³ Bianchini, C.; Lee, H. M.; Mantovani, G.; Meli, A.; Oberhauser, W. *New J. Chem.* **2002**, 26, 387-397.

conditions oxydantes⁵⁸ par action du CAN pour conduire à **146** avec un rendement de 42% après recristallisation. La présence de la quinone a été confirmée par RMN ¹³C par l'apparition d'un signal à 183 ppm et la disparition du signal du groupement méthoxy à 3,95 ppm.

III.3.c. Evaluation biologique : choix de la molécule cible

Tout d'abord, le potentiel d'oxydo-réduction des quinones préparées a été mesuré par Moutet et coll. afin de déterminer lequel de ces dérivés est le plus facile à réduire et d'estimer l'influence de la présence des groupements méthyles. Les composés suivants ont été évalués pour leurs activités en tant qu'inhibiteurs d'oxydo-réductases (Schéma 3-61).⁴⁴

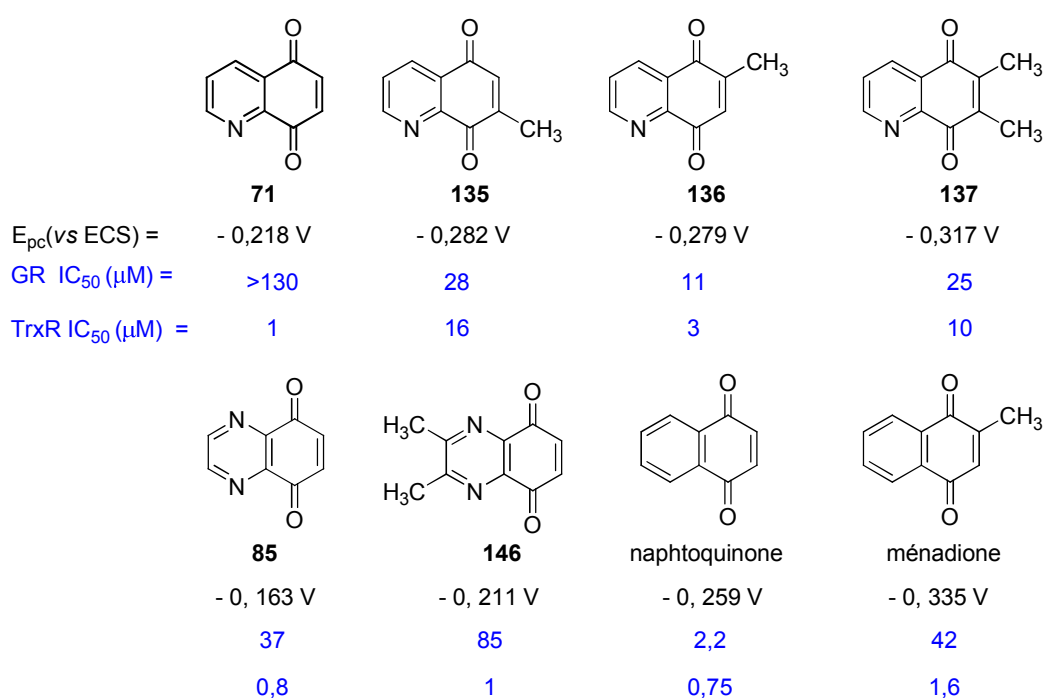


Figure 3-24 : Structure des hétéroquinones évaluées pour leur activité biologique

Si l'on compare les composés parents **71** et **85** avec la naphtoquinone de référence, le potentiel rédox est diminué en présence d'atome(s) d'azote. Le caractère oxydant des quinones diminue par la présence de substituents électrodonneurs comme le montre la comparaison entre la naphtoquinone et la ménadione. Cet effet est

également observé si l'on compare **71** avec **135** et **136** et est d'autant plus marqué pour la quinone 6,7-diméthylée **137** pour laquelle le potentiel de réduction E_{pc} atteint une valeur de -0,32 mV.

Ces hétéroquinones ont donc été évaluées en tant qu'inhibiteurs des GR et TrxR de *P. falciparum*, la 1,4-naphtoquinone et la ménadione étant prises comme références. Dans tous les cas, l'activité des quinones se trouve être inférieure à celle de la 1,4-naphtoquinone, mais de façon générale, les quinoléinequinones sont de meilleurs inhibiteurs des GR que la ménadione chez *P. falciparum*. La quinoxalinequinone est la seule hétéroquinone qui présente une inhibition intéressante à la fois envers la TrxR et la GR en comparaison de la ménadione.

Pour l'ensemble de ces raisons, la quinoxalinequinone **85** a été considérée comme une cible intéressante et a été choisie comme le pharmacophore qui sera couplé par la suite avec un terpène.

III.4. Vers une terpénylquinoxalinequinone

La quinoxalinequinone ayant été identifiée comme étant un inhibiteur de la TrxR et de la GR, nous avons voulu effectuer un couplage avec un terpène afin de voir si cela permet d'améliorer l'activité biologique. Le choix de préparer une terpénylquinone par le couplage entre un terpène et une quinone repose sur les travaux de l'équipe de Del Corral.¹⁵⁴ En effet, ces derniers se sont intéressés à comparer l'activité antinéoplasique d'une quinone avec celle du produit résultant du couplage entre cette quinone et un terpène et il se trouve que l'activité du dérivé couplé est supérieure à celle de la quinone. Au vu de ces résultats prometteurs, un travail similaire a été effectué en 2004 dans notre laboratoire afin d'évaluer des dérivés en tant qu'inhibiteurs de glutathione réductase et de thiorédoxine réductase. En effet, la naphtoquinone étant connue pour être un bon inhibiteur de ces deux oxydo-réductases, il a été envisagé de préparer une quinone terpénique de façon analogue aux travaux de

¹⁵⁴ Del Corral, J. M. M.; Gordaliza, M.; Castro, M. A.; Mahiques, M. M.; Chamorro, P.; Molinari, A.; García-Grávalos, M. D.; Broughton, H. B.; San Feliciano, A. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 1257-1267.

Del Corral. Aussi, un terpène de type labdane a été engagé dans une réaction de Diels-Alder avec la benzoquinone (Schéma 3-69).^{155,156}

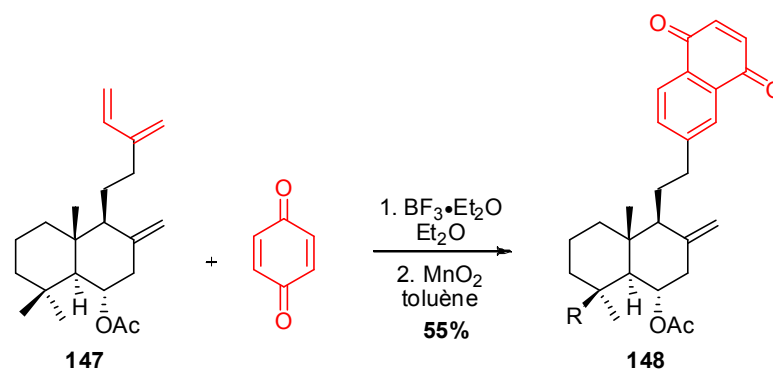


Schéma 3-69

La terpénylquinone **148** a montré une activité similaire à celle de la ménadione vis-à-vis de l'inhibition de la thiorédoxine réductase mais ne présente que peu d'activité en tant qu'inhibiteur de la glutathione réductase (Figure 3-25).¹⁵⁷

	ménéadione	naphtoquinone	148
GR IC_{50} (μM) =	42	2,2	> 100
TrxR IC_{50} (μM) =	1,6	0,75	1,7

Figure 3-25 : IC_{50} de **148** à comparer avec celle des deux molécules de référence (ménadione et naphtoquinone)

Au vu de ces résultats, nous avons choisi de préparer une terpénylquinone similaire mais mettant en jeu une hétéroquinone. Par la suite, seront développés les travaux permettant de préparer la partie qui sera greffée au terpène, puis le travail effectué sur le couplage. Une fois cette terpénylquinone préparée, son activité biologique sera évaluée en tant qu'inhibiteur des glutathiones réductases et des thiorédoxines réductases et les résultats comparés à ceux obtenus dans le cas du couplage avec la naphtoquinone.

¹⁵⁵ Aslaoui, J., Thèse, Université Joseph Fourier, Grenoble, France, **2004**.

¹⁵⁶ Aslaoui, J.; Morin, C. *Lett. Org. Chem.* **2005**, 2, 515-517.

¹⁵⁷ Davioud-Charvet, E. Résultats non publiés.

Pour le couplage, nous avons choisi de réaliser un couplage peptidique entre l'aminométhylquinoxaline **149** avec l'acide terpénique **36** (Schéma 3-70).

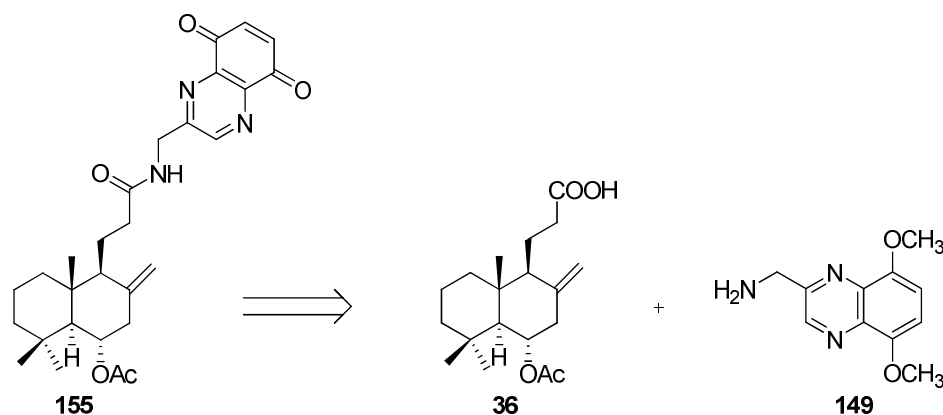


Schéma 3-70

III.4.a. Préparation de l'aminométhylquinoxaline **149**

Nous avons choisi de préparer **149** selon une synthèse similaire à celle utilisée pour la synthèse des dérivés de la famille des quinoxalinequinones (paragraphe II.4.d).

Le squelette hétérocyclique résulte d'une réaction de condensation entre le 1,2-diamino-3,6-diméthoxybenzène **103** et le pyruvaldéhyde ce qui nous a conduits à la quinoxaline **150** avec un rendement de 90% (Schéma 3-71).¹⁵⁸

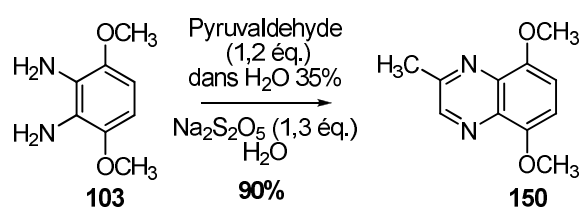


Schéma 3-71

L'obtention de l'aldéhyde correspondant a été dans un premier temps réalisé en présence de dioxyde de sélénium dans l'acide acétique.¹⁵⁹ Cependant, seuls des rendements faibles à moyens (26%-67%) ont été obtenus et cette étape a souffert d'un manque de reproductibilité. Néanmoins, l'obtention de l'aldéhyde **151** a été possible de façon quantitative grâce à l'utilisation d'hydroperoxyde de *tert*-butyle (TBHP) et de

¹⁵⁸ Jones, R. G.; Kornfeld, E. C.; McLaughlin, K. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, 72, 3539-3542.

¹⁵⁹ Goswami, S.; Adak, A. K. *Synth. commun.* **2003**, 33, 475-480.

dioxyde de sélénium dans le 1,4-dioxane.¹⁶⁰ Une fois préparé, il a été engagé dans une réaction de condensation en présence d'une solution aqueuse d'hydroxylamine à 50% pour conduire à l'oxime **152** correspondante (Schéma 3-72).

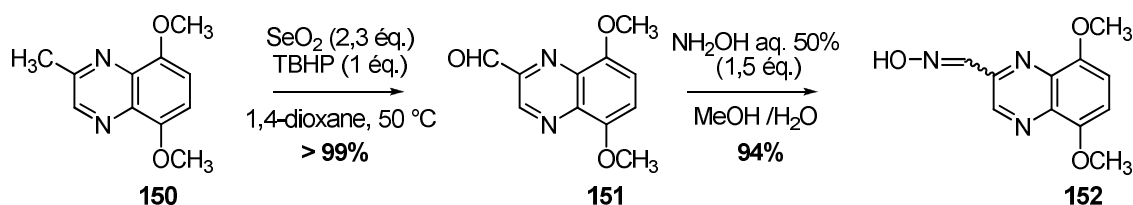
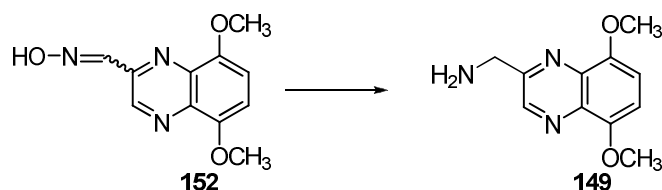


Schéma 3-72

Cette dernière a alors été placée dans des conditions de réduction. Parmi les différentes possibilités pour permettre la réduction de ce type d'oxime en amine primaire correspondante, nous avons choisi de tester les conditions décrites dans le Tableau 3-8.

Tableau 3-8 : Essais effectués pour la réduction de **152**



Entrée	Conditions	Résultats et observations	Réf.
1	H ₂ , 0,4 équ. Pd/C 10%, MeOH, t.a., 1,5 h	Aucune réaction	161
2	H ₂ , 22 équ. Pd/C 10%, AcOEt	Dérivé diaminé 103 majoritaire	/
3	1,1 équ. LiAlH ₄ , THF, t.a., 80 min	Dégradation	/
4	6,3 équ. Zn (poudre), AcOH, t.a. puis 60 °C, 6 h	Aucune réaction	162
5	6,3 équ. Zn activé, AcOH, 10 °C, 15 min	Obtention de l'amine 103	162
6	5,6 équ. Zn activé, CF ₃ CO ₂ H, 10 °C, 15 min	Obtention de l'amine 103	162
7	5 équ. Na ₂ S ₂ O ₄ , NH ₄ OH, EtOH, 85 °C, 45 min	149 avec un faible rendement (5%)	163

Aucune réaction n'est observée lorsque la réduction de l'oxime par H₂, Pd/C 10 % en quantité catalytique (entrée 1). Par contre, un excès de catalyseur (entrée 2) a conduit à l'obtention de **103** issu probablement de la « surréduction » de **152**. L'utilisation de LiAlH₄ à température ambiante (entrée 3) n'a conduit qu'à de la dégradation. **152** a alors été placé en présence de zinc en poudre dans l'acide acétique

¹⁶⁰ Tagawa, Y.; Yamashita, K.; Higuchi, Y.; Goto, Y. *Heterocycles* **2003**, *60*, 953-957.

¹⁶¹ Dallavalle, S.; Ferrari, A.; Merlini, L.; Penco, S.; Carenini, N.; De Cesare, M.; Perego, P.; Pratesi, G.; Zunino, F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 291-294.

¹⁶² Wu, Y.; Ahlberg, P. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 6324-6327.

¹⁶³ Comba, P.; Krämer, R.; Mokhir, A.; Naing, K.; Schatz, E. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, 4442-4448.

à température ambiante puis à 60 °C mais sans réaction (entrée 4). Nous avons alors choisi de travailler en présence de zinc préalablement activé mais quel que soit le solvant utilisé (entrées 5 et 6), le dérivé diaminé **103** a été obtenu. Enfin, **152** a été placé en présence de dithionite de sodium dans l'ammoniaque aqueuse (entrée 7), **149** a pu être obtenu mais avec un très faible rendement ce qui n'a pas permis de considérer ces conditions pour la poursuite de la synthèse.

La réduction de l'oxime n'a donc pas permis l'obtention de l'amine correspondante. En effet, il semble que la molécule sur laquelle on travaille soit très sensible aux conditions de réduction pouvant dans certains cas (Zn activé en milieu acide) conduire au précurseur diaminé **103**. Pour pallier cela, il a été nécessaire de trouver une alternative ne faisant pas intervenir d'étapes de réduction. Par suite, la préparation de l'amine primaire **149** a pu être réalisée grâce à une réaction de Gabriel (Schéma 3-73).

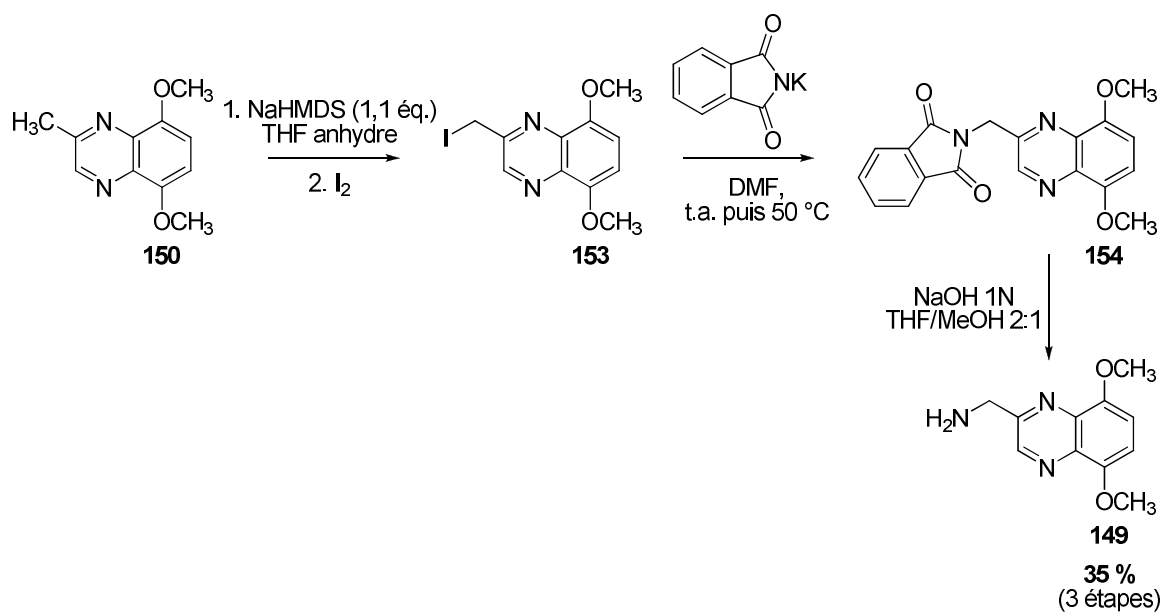


Schéma 3-73

L'iodation¹⁶⁴ sélective de **150** a conduit à l'iodure benzylique **153**. Celui-ci est transformé en *N*-benzylphthalimide par action du phthalimide de potassium dans le DMF. Placé en milieu basique, il a fourni l'amine primaire **149** en trois étapes à partir de **150** avec un rendement de 35%.

¹⁶⁴ Kaiser, E. M. *Tetrahedron* **1983**, 39, 2055-2064.

III.4.b. Etape de couplage

L'acide terpénique nécessaire pour la réaction de couplage a été préparé en trois étapes à partir du larixol avec un rendement de 29% comme cela a été présenté au chapitre II.

Les dérivés **36** et **149** (Schéma 3-74) ont été placés en présence de DMAP cat. (0,1 éq.) et d'EDCI (1 éq.) à température ambiante pendant 24 h ce qui a permis d'obtenir le produit de couplage **155** de façon quantitative.

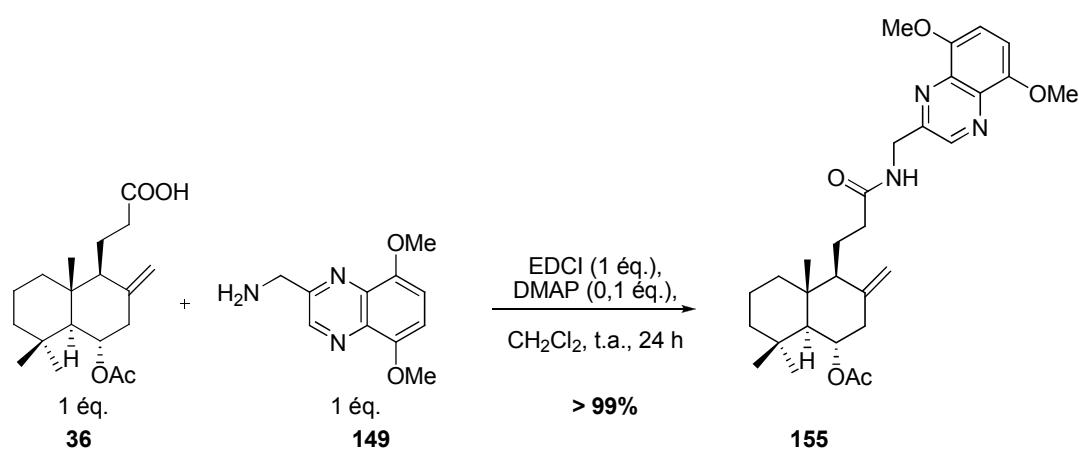


Schéma 3-74

Afin d'accéder à la quinone terpénique cible (Schéma 3-70), **155** a été placé dans des conditions d'oxydation déméthylante. Dans un premier temps, cette étape a été menée par action du CAN à température ambiante et à 0 °C mais dans les deux cas on a observé la coupure de la liaison amide ainsi que l'oxydation de l'éther méthylique de l'hydroquinone en quinone.

Par la suite, d'autres méthodes ont été testées telles que l'oxydation par l'oxyde d'argent (II)^{165,166} mais seule la coupure de la liaison peptidique a été observée. Puis, la transformation de **155** en hydroquinone par action de BBr₃ (6 éq.) a été évaluée mais s'est accompagnée de la dégradation du réactif de départ.

La déprotection n'a pas pu être à ce jour réalisée. Néanmoins il est envisagé d'évaluer l'activité biologique de cette hydroquinone protégée.

¹⁶⁵ Préparation de Ag(II)O : Hammer, R. N. ; Kleinberg, J. *Inorg. Synth.* **1953**, 4, 12-13.

¹⁶⁶ Brimble, M. A.; Houghton, S. I.; Woodgate, P. D. *Tetrahedron* **2007**, 63, 880-887.

III.5. Conclusion

En conclusion, nous avons préparé et évalué des dérivés quinoléinequinones et quinoxalinequinones. Lors de ce travail préliminaire, nous avons ainsi pu identifier une molécule présentant une activité biologique intéressante dont la structure sera présente dans le produit issu du couplage avec un terpène.

Nous avons ensuite pu réaliser le couplage prévu validant ainsi l'approche qui avait été envisagée. Pour l'instant, l'obtention de la quinone n'a pas été possible. Toutefois, la molécule **155** peut être intéressante d'un point de vue biologique et devra être évaluée.

Conclusions et Perspectives

I. En série terpénique

Ce travail de thèse s'est articulé autour de deux projets liés aux quinones. Lors de l'étude portant sur la terpénylhydroquinone célyphanol A, nous avons mis au point une stratégie de synthèse qui nous a permis d'avoir accès à un intermédiaire clé pour l'obtention de la molécule visée. Après optimisation, ce dernier a ainsi été obtenu à partir du larixol en sept étapes avec un rendement global de 10% selon une synthèse énantiosélective (Schéma 1). Ceci constitue une approche originale de la préparation des podocarpanes à partir d'un labdane. En effet, la construction du cycle C par métathèse cyclisante n'a jamais été décrite à ce jour.

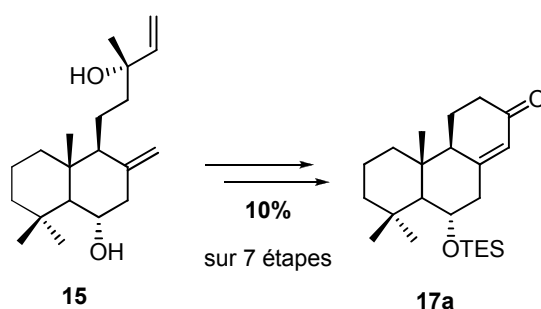


Schéma 1

Etant parvenu à fonctionnaliser l'intermédiaire **17a** en **41**, il est désormais possible de l'envisager comme précurseur dans la préparation non seulement du célyphanol A mais aussi du 6 α -hydroxysugiol (Schéma 2).

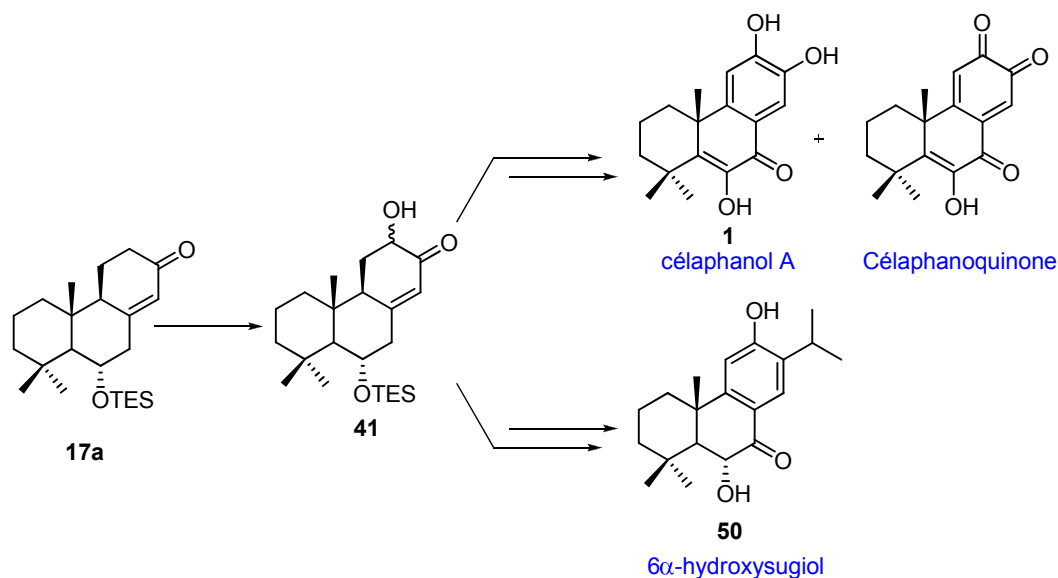


Schéma 2

II. En série hétéroquinone

Inhibiteurs de phosphatases CDC25

En ce qui concerne le travail réalisé sur les hétéroquinones, nous avons préparé neuf nouvelles hétéroquinones dithioalkylées afin d'évaluer leurs activités biologiques en tant qu'inhibiteurs de phosphatases CDC25 (Schéma 3).

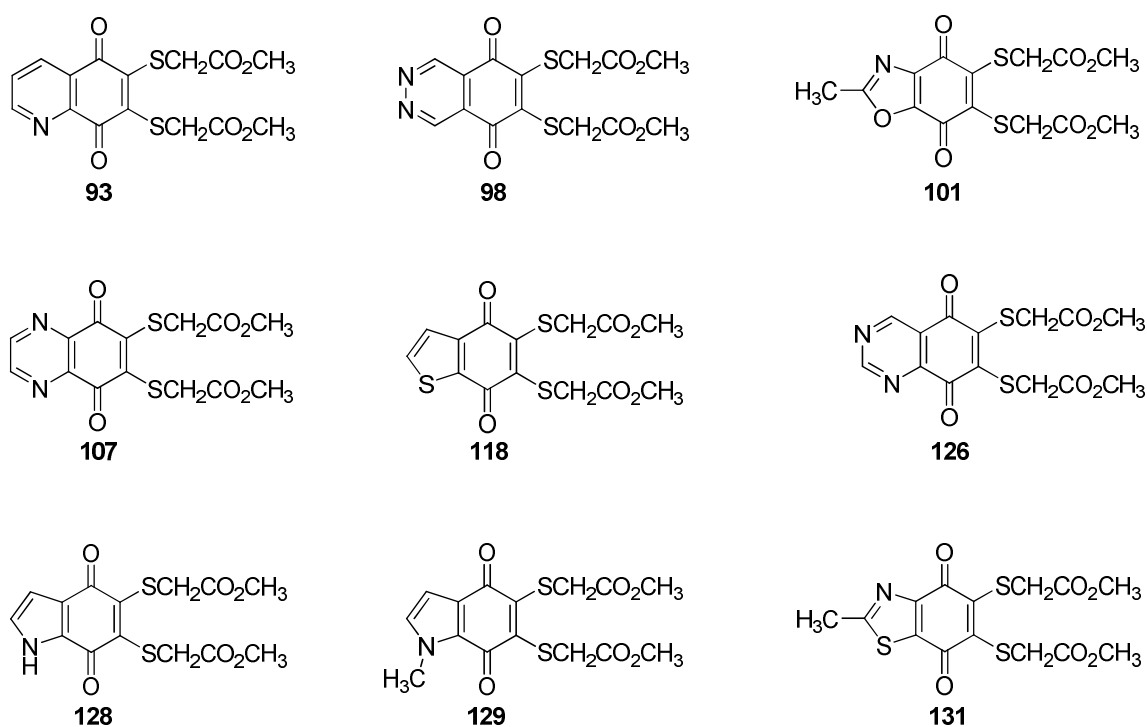


Schéma 3

L'ensemble des hétéroquinones sont actuellement en cours d'évaluation biologique (inhibition de CDC25B), les résultats devant nous orienter pour la suite de nos travaux dans ce domaine.

Nous souhaitons poursuivre dans la synthèse d'autres familles d'hétéroquinones dithioalkylées comme en série benzimidazolequinone (Schéma 4). Des travaux préliminaires ont déjà été effectués, la benzimidazolequinone qui sera dithioalkylée pouvant être obtenue à partir de la diamine **103**.

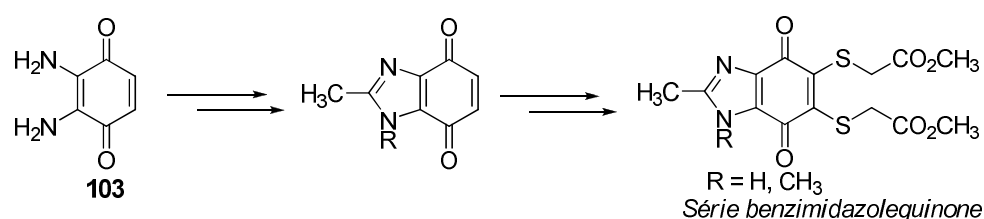


Schéma 4

Inhibiteurs de glutathiones réductases et thiorédoxines réductases

Parallèlement, nous avons synthétisé deux quinoxalinequinones et quatre quinoléinequinones qui ont été évaluées en tant qu'inhibiteurs de glutathiones réductases et de thiorédoxines réductases (Schéma 5).

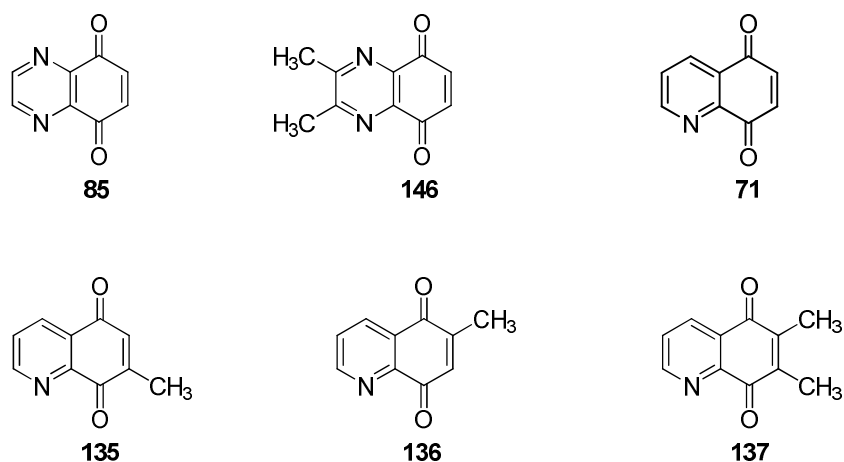


Schéma 5

La quinoxalinequinone **85** s'étant avérée être la plus active, un précurseur de **85** a été engagé dans une réaction de couplage avec l'acide terpénique **36** (Schéma 6). Ainsi, nous sommes parvenus à préparer la terpénylquinone **155** qui fera l'objet de travaux ultérieurs.

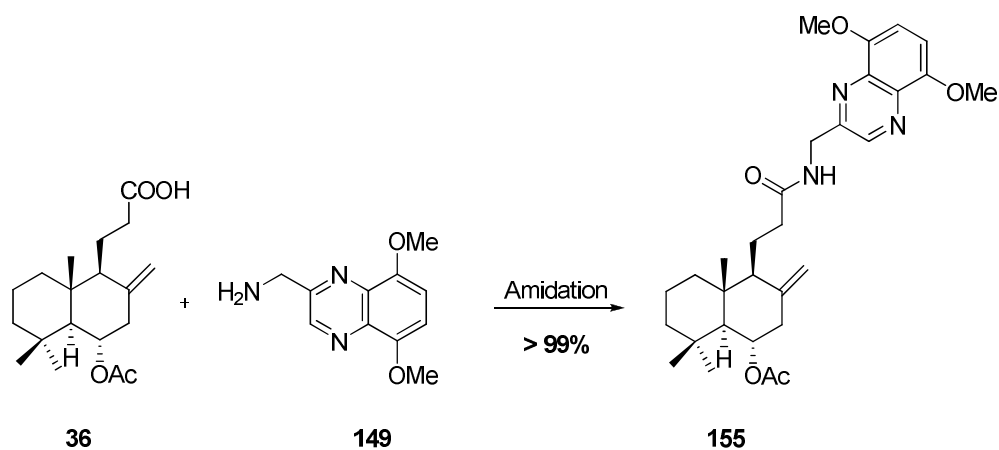


Schéma 6

Il sera nécessaire de travailler sur l'obtention de la quinone issue de **155**. Une fois cette dernière obtenue, son évaluation biologique ainsi que celle de **155** seront effectuées ce qui nous permettra d'orienter nos travaux.

Experimental section

I. General Remarks

All reactions that needed to be performed under anhydrous conditions were performed employing Schlenk techniques,¹ using overnight dried glassware and under argon atmosphere. The solvents (THF, CH₂Cl₂, TEA, dioxane, pyridine...) were distilled and dried according to the literature recommendations.² All commercial chemicals were used as received and the organometallic solutions (*n*-BuLi, CH₂=CHMgBr...) were titrated according to Love and Jones' procedure.³

Materials and Laboratory Instrumental

NMR: ¹H NMR and ¹³C NMR spectra were recorded on a Bruker Avance 300 and a Bruker Avance III 400 spectrometers. The irradiation frequencies are of 300 and 400 MHz for the H¹ nuclei and of 75 and 100 MHz for the C¹³ nuclei respectively. All recorded C¹³ NMR spectra are H-decoupled and the chemical shifts are expressed in parts per million (ppm) according to the solvent's residual peak. Signal splitting is abbreviated as follows: s= singlet, d= doublet, t= triplet, q= quadruplet, m= multiplet. When complex splitting of signals was observed, the shape of each peak is designed as a combination of these abbreviations.

IR: The infrared spectra were recorded on a Nicolet Magna IR-550 FTIR spectrometer. Liquid samples were analyzed using NaCl cells whereas solid samples were analyzed using KBr pellets or using an ATR module.

Chromatography: Qualitative chromatography was performed using Merck 60F₂₅₄ plates of 0.25 mm width. All plates were developed using an ultraviolet light source at 254 nm, then treated with an alcoholic solution of phosphomolybdic acid. Column chromatography purifications were done using Merck Silica Gel 60 (40-60μm).

The specific rotations were determined with a Perkin-Elmer 341 polarimeter and Melting points were measured using a Büchi 500 melting point apparatus; they are reported uncorrected. The Elemental Analyses were determined by the Service d'Analyse du Département de Chimie Moléculaire de Grenoble using an automatic CHN analyzer built by the Service Central d'Analyses (SCA, Vernaison).

The mass spectra were recorded on a Bruker Esquire 3000+ or a ThermoFinnigan PolarisQ ion-trap spectrometer by the mass spectrometry service of the Département de Chimie Moléculaire de Grenoble and the HRMS were recorded on a Thermoquest Orbitrap spectrometer at the LCOSB, UMR 7613 from the University Pierre and Marie Curie at Paris.

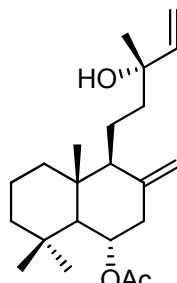
¹ Shriver, D. F.; Drezdson, M. A. *The Manipulation of Air-Sensitive Compounds*, 2nd ed.; John Wiley and Sons: New York, **1986**.

² Armarego, W. L. F.; Perrin, D. D. *Purification of Laboratory Chemicals*, 4th ed.; Butterworth-Heinemann: Oxford; **2000**.

³ Love, B. E.; Jones, E. G. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 3755-3756.

II. Synthesis of compounds described in chapter 2

(1*S*,4*S*,4*aR*)-4-((3*S*)-3-hydroxy-3-methylpent-4-enyl)-4*a*,8,8-trimethyl-3-methylenedecahydronaphthalen-1-yl acetate or larixyl acetate



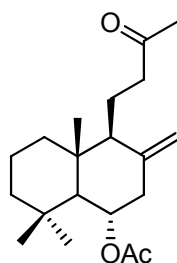
16

[CAS No. 1438-66-0]

To a solution of larixol **15** (5.40 g, 17.6 mmol) in anhydrous pyridine (25 mL) at 0 °C, 8.40 mL (88.9 mmol) of acetic anhydride were added dropwise in 15 minutes. The resulting solution was then stirred at room temperature for 16 h. The reaction was quenched with iced water (25 mL) and the aqueous phase was extracted with methylene chloride (3x25 mL). The organic layers were combined, dried over Na₂SO₄ and evaporated to give **16** as white crystals in 89% yield (5.46 g, 15.7 mmol).

$[\alpha]_D^{20}$: + 55.8 (*c* 1.80, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.89 (dd, 1H, *J* = 17.6, 10.8 Hz), 5.18 (dd, 1H, *J* = 17.6, 0.8 Hz), 5.04 (dd, 1H, *J* = 10.8, 0.8 Hz), 5.03-4.99 (m, 1H), 4.91 (d, 1H, *J* = 1.2 Hz), 4.63 (d, 1H, *J* = 1.2 Hz), 2.66 (dd, 1H, *J* = 12.4, 5.2 Hz), 2.04-1.96 (m, 1H), 2.02 (s, 3H), 1.76-1.72 (m, 2H), 1.63-1.17 (m, 10H), 1.26 (s, 3H), 1.11-0.99 (m, 1H), 0.97 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.72 (s, 3H) ppm. ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 170.1, 145.2, 144.3, 111.6, 109.5, 73.4, 73.2, 57.6, 56.4, 44.2, 43.5, 41.3, 39.8, 39.1, 36.1, 33.5, 27.7, 22.5, 21.9, 19.0, 18.0, 16.0 ppm. IR (KBr): ν 3487, 3392, 3081, 2953, 2927, 2847, 1736, 1642, 1464, 1444, 1379, 1365, 1248, 1028, 889 cm⁻¹. MS (ESI⁺) *m/z* 371 [(M+Na)⁺]. HRMS (ESI⁺) calculated for C₂₂H₃₆O₃Na (M+Na)⁺: 371.25567, found: 371.25544.

(1*S*,4*S*,4*aR*)-4*a*,8,8-trimethyl-3-methylene-4-(3-oxobutyl)decahydronaphthalen-1-yl acetate



20

[CAS No. 179917-92-1]

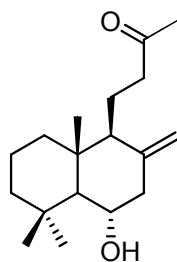
Preparation of *n*-Bu₄NMnO₄: An aqueous 1 M solution of *n*-Bu₄NBr (11 mL) is added to an aqueous 1 M solution of KMnO₄ (10 mL). The purple precipitate is filtered, washed with cold water (25 mL) and air dried to give 2.61 (7.22 mmol) of the oxidant in 72% yield.

To a solution of larixyl acetate **16** (20.0 g, 57.5 mmol) in dry CH₂Cl₂ (1.2 L) were added Pb(OAc)₄ 95 % (25.51 g, 63.2 mmol) and Na₂CO₃ (12.2 g, 11.5 mmol). After cooling to -15 °C, *n*-Bu₄NMnO₄ (41.5 g, 11.5 mmol) was added in one portion (exothermic reaction). The reaction mixture was stirred at -15 °C for 30 minutes, and then allowed to warm to room temperature in 3.5 hours. Then, the reaction was monitored by TLC and 10 % mol extra of Pb(OAc)₄ and *n*-Bu₄NMnO₄ were added if needed.

The reaction was quenched by a slow and careful addition of a 5% w/w aqueous solution of oxalic acid (1 L), then a saturated aqueous Na₂SO₃ solution was added until the mixture became milky, (when not the case, it was necessary to add more of the oxalic acid solution until the solution got whitish). The layers were separated and the aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (3×100 mL). The combined organic layers were washed with brine (50 mL), dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under vacuum to give the crude product. This compound was purified by column chromatography on silica gel (CH₂Cl₂/ethyl acetate, 99:1 then CH₂Cl₂/ethyl acetate, 5:1) to afford **20** as a colorless oil (11.06 g, 34.5 mmol) in a 60% yield.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.01 (dt, 1H, *J* = 11.8, 5.2 Hz), 4.92 (d, 1H, *J* = 1.2 Hz), 4.54 (d, 1H, *J* = 1.2 Hz), 2.67 (dd, 1H, *J* = 12.2, 5.2 Hz), 2.59-2.53 (m, 1H), 2.36-2.30 (m, 1H), 2.09 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.01-1.97 (m, 1H), 1.94-1.84 (m, 1H), 1.65-1.31 (m, 7H), 1.29-1.18 (m, 1H), 1.17-1.07 (m, 1H), 0.99 (s, 3H), 0.85 (s, 3H), 0.73 (s, 3H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 208.4, 170.0, 144.0, 109.2, 73.1, 57.4, 55.2, 44.1, 43.4, 42.7, 39.7, 39.0, 36.1, 33.5, 30.0, 22.4, 22.0, 19.0, 17.6, 15.8 ppm. **IR (film):** ν 2926, 1731, 1648, 1462, 1444, 1365, 1242, 1024 cm⁻¹. **MS (ESI⁺)** *m/z* 343 [(M+Na)⁺]. **HRMS (ESI⁺)** calculated for C₂₀H₃₂O₃Na (M+Na)⁺: 343.22437, **found:** 343.22389.

4-((1*S*,4*S*,8*aR*)-4-hydroxy-5,5,8*a*-trimethyl-2-methylenedecahydronaphthalen-1-yl)butan-2-one

**21**

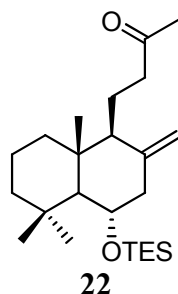
[CAS No. 888712-66-1]

To a solution of **20** (1.04 g, 3.20 mmol) in absolute ethanol (10 mL) was added a 1 M aqueous LiOH solution (10.4 mL, 10.4 mmol). The resulting mixture was stirred at 50 °C for 39 hours. Once cooled down to room temperature, water was added (20 mL) and the reaction mixture was acidified to pH 6 by addition of aqueous 1 N HCl. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3×20 mL) and the combined organic layers were washed with brine (25 mL), dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under vacuum to give 802 mg of **21** (2.88 mmol) in 90% yield. This compound was engaged in the next step without any further purification.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 4.88 (s, 1H), 4.50 (s, 1H), 3.82 (dt, 1H, *J* = 10.5, 4.8 Hz), 2.69-2.53 (m, 2H), 2.37-2.26 (m, 1H), 2.09 (s, 3H), 1.91-1.84 (m, 1H), 1.81-1.72 (m, 1H),

1.61-1.34 (m, 10H), 1.15 (s, 3H), 0.99 (s, 3H), 0.69 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 209.1, 145.3, 108.2, 71.6, 60.4, 55.4, 49.0, 43.7, 42.8, 39.4, 39.2, 36.6, 33.9, 30.0, 22.3, 19.1, 17.7, 15.9 ppm. MS (ESI $^+$) m/z 301 [(M+Na) $^+$].

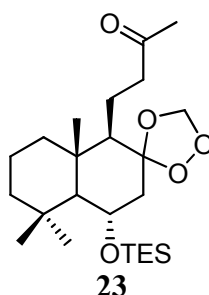
4-((1*S*,4*S*,8*aR*)-5,5,8*a*-trimethyl-2-methylene-4-(triethylsilyloxy)decahydronaphthalen-1-yl)butan-2-one



To a solution of 776 mg of **21** (2.78 mmol) in anhydrous pyridine (21 mL) were added 1.60 mL of freshly distilled TESECl (9.10 mmol) and 10 mg of DMAP (0.09 mmole). The reaction mixture was stirred at room temperature and monitored by TLC (4 days at room temperature and 2 days at 60 °C). When the reaction was finished (5 days), the mixture was quenched by the addition of water (20 mL). The phases were separated and the aqueous layer was extracted with methylene chloride (3x20 mL). Once the organic layers mixed, they were washed with brine (20 mL), dried over Na_2SO_4 , filtered and evaporated to give a yellowish oil. The crude product was purified by column chromatography and 764 mg (2.78 mmol) of **22** were obtained as a colorless oil in 70% yield.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 4.75 (s, 1H), 4.38 (s, 1H), 3.79 (td, 1H, $J = 10.5, 4.6$ Hz), 2.53-2.42 (m, 2H), 2.26-2.15 (m, 1H), 1.97 (s, 3H), 1.84-1.09 (m, 12H), 1.05 (s, 3H), 0.93 (s, 3H), 0.59 (s, 3H), 0.89 (t, 9H, $J = 8.0$ Hz), 0.57 (q, 6H, $J = 8.0$) ppm. ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 208.4, 145.4, 107.5, 72.3, 59.8, 55.3, 49.1, 43.8, 42.4, 39.2, 38.9, 36.1, 33.4, 29.5, 22.1, 18.8, 17.5, 15.7, 6.8, 6.4 ppm.

4-((1*R*,4*S*,8*aS*)-5,5,8*a*-trimethyl-4-(triethylsilyloxy)octahydro-1*H*-spiro[naphthalene-2,3'-[1,2,4]trioxolane]-1-yl)butan-2-one

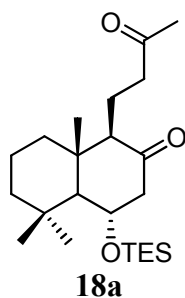


A solution of **22** (30 mg, 0.076 mmole) in CH_2Cl_2 (5 mL) was cooled to -78 °C under nitrogen and a mixture of O_3/O_2 was slowly bubbled at -78 °C until a blue coloration persisted. The reaction was monitored by TLC and when finished the system was flushed with O_2 and then with argon until the disappearance of the blue color prior to the addition of Me_2S (3.00 mL, 40 mmol). The resulting solution was let to warm up to room temperature and the

volatiles were removed under reduced pressure to give **23** (30 mg, 0.068 mmol) in 89% yield. This product was used in the next step without any further purification.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 5.22 (s, 1H), 4.84 (s, 1H), 4.00 (dt, 1H, $J = 10.7, 4.0$ Hz), 2.36-2.34 (m, 2H), 2.33 (dd, 1H, $J = 13.2, 4.0$ Hz), 2.09 (s, 3H), 1.81-1.18 (m, 14H), 1.11 (s, 3H), 0.97 (t, 9H, $J = 7.7$ Hz), 0.84 (s, 3H), 0.63 (q, 6H, $J = 7.7$ Hz) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 208.8, 111.0, 93.6, 69.2, 60.2, 55.8, 47.6, 46.2, 44.4, 40.0, 39.5, 36.7, 33.9, 30.2, 22.6, 18.6, 17.6, 16.2, 7.4, 5.9 ppm.

(1R,4S,8aS)-5,5,8a-trimethyl-1-(3-oxobutyl)-4-(triethylsilyloxy)octahydronaphthalen-2(1H)-one

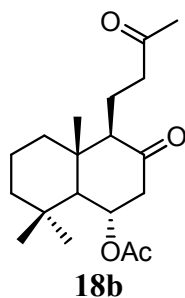


To a solution of 595 mg of **23** (1.35 mmol) in CH_2Cl_2 (6.3 mL) were added 444 mg (1.69 mmol) of triphenylphosphine. The resulting solution was stirred at room temperature for 3 hours and then it was let to stand at 0 °C overnight (refrigerator).

The next day, the white precipitate was filtered off, the solvent was evaporated under reduced pressure and the resulting oil was purified by column chromatography (CH_2Cl_2 to $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1) to give 219 mg (0.55 mmole) of **18a** as a colorless oil in 42% yield.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 4.06 (td, 1H, $J = 10.3, 5.5$ Hz), 2.66 (dd, 1H, $J = 13.0, 5.5$ Hz), 2.61-2.50 (m, 1H), 2.39-2.31 (m, 1H), 2.21-2.10 (m, 1H), 2.02 (m, 3H), 1.72-1.15 (m, 10H), 1.10 (s, 3H), 0.93 (s, 3H), 0.89 (t, 9H, $J = 7.7$ Hz), 0.62 (s, 3H), 0.57 (q, 6H, $J = 7.7$ Hz) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 208.9, 208.8, 71.6, 62.4, 59.5, 53.4, 43.9, 42.7, 39.6, 39.5, 36.2, 34.0, 29.9, 22.2, 18.4, 16.4, 16.1, 7.0, 5.5 ppm. **IR (film):** ν 2953, 2877, 1713, 1459, 1413, 1118, 1089, 1005 cm^{-1} . **MS (ESI⁺)** m/z 417 [(M+Na)⁺], 263 [(M+H-Et₃SiOH)⁺].

(1S,4R,4aS)-4a,8,8-trimethyl-3-oxo-4-(3-oxobutyl)decahydronaphthalen-1-yl acetate



[CAS No. 110594-99-5]

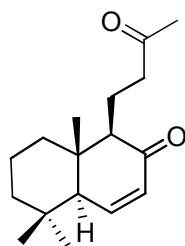
A solution of **20** (296 mg, 0.92 mmol) in CH_2Cl_2 (5 mL) was cooled to -78 °C under nitrogen and a mixture of O_3/O_2 was slowly bubbled at -78 °C until a blue coloration persisted. The

reaction was monitored by TLC and when finished the system was flushed with O₂ and then with argon until the disappearance of the blue color prior to the addition of Me₂S (3.00 mL, 40 mmol). The resulting solution was let to warm up to room temperature and the volatiles were removed under reduced pressure. The resulting oil was dissolved in CH₂Cl₂ (6 mL) and 368 mg of polymer supported triphenylphosphine (2.5 mmol/g, 0.92 mmole) were added. The resulting solution was stirred at room temperature for 3 hours and then it was let to stand at 0 °C overnight (refrigerator).

The next day, the precipitate was filtered off, the solvent was evaporated under reduced pressure and the resulting oil was purified by column chromatography (CH₂Cl₂ to CH₂Cl₂/MeOH, 9:1) to give 80 mg (0.25 mmol) of **18b** as a colorless oil in 27% yield.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 5.16 (dq, 1H, *J* = 9.8, 6.0 Hz), 2.77 (dd, 1H, *J* = 13.9, 6.0 Hz), 2.63-2.53 (m, 1H), 2.28-2.16 (m, 2H), 2.01 (s, 3H), 1.97 (s, 3H), 1.76-1.14 (m, 10H), 0.98 (s, 3H), 0.84 (s, 3H), 0.69 (s, 3H) ppm. ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 208.6, 207.3, 169.4, 71.2, 62.0, 56.4, 47.9, 43.0, 42.3, 39.6, 38.8, 35.6, 33.6, 29.7, 22.1, 21.5, 18.2, 16.2, 15.7 ppm. MS (ESI⁺) *m/z* 345 [(M+Na)⁺].

(1*R*,8*aS*)-5,5,8*a*-trimethyl-1-(3-oxobutyl)-4*a*,5,6,7,8,8*a*-hexahydronaphthalen-2(1*H*)-one

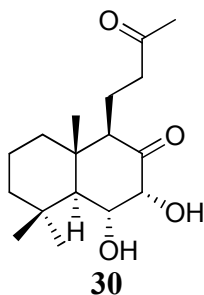


24

[CAS No. 110659-25-1]

250 mg (0.777 mmole) of **18b** were dissolved in 66 mL of dioxane and the solution was brought to reflux. Then 2.50 g of basic alumina were added and the reaction was kept at reflux temperature over 8 hours. Once the reaction completed, the solution was cooled down to room temperature and filtered through cotton. The filtrate was evaporated to give 190 mg (0.72 mmole) of **24** as a colorless oil in 93% yield.

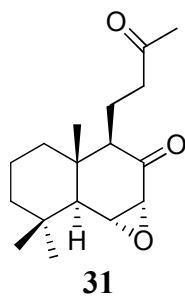
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.77 (d, 1H, *J* = 10.3 Hz), 5.86 (dd, 1H, *J* = 10.3, 3.2 Hz), 2.72-2.62 (m, 1H), 2.38-2.24 (m, 2H), 1.96 (s, 3H), 1.70-1.09 (m, 9H), 0.88 (s, 3H), 0.76 (s, 3H), 0.66 (s, 3H) ppm. ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 208.6, 201.2, 148.8, 129.7, 61.7, 56.3, 44.0, 43.0, 40.5, 37.1, 32.4, 32.1, 29.6, 22.0, 18.1, 16.4, 13.3 ppm. MS (ESI⁺) *m/z* 285 [(M+Na)⁺].

(1*R*,3*R*,4*R*,8*aS*)-3,4-dihydroxy-5,5,8*a*-trimethyl-1-(3-oxobutyl)octahydronaphthalen-2(1*H*)-one

Preparation of OsO₄ solution in *t*-BuOH: 51 mg of OsO₄ (0.2 mmol) were dissolved in 1.98 g of *t*-BuOH. After dissolution, 32 mL of pyridine (0.4 mmol) were added and the resulting solution was stirred at room temperature for 5 minutes.

A stream of nitrogen was bubbled through a solution of **24** (78 mg, 0.3 mmol) in acetone/water 8:1 (2.53 mL) for 1 h. Then, *N*-methylmorpholine *N*-oxide (130 mg, 1.1 mmol) and 370 μL of the OsO₄ solution prepared as above, were successively added. The mixture was stirred at room temperature for 4 h and then was treated with 40% aqueous NaHSO₃ (10 mL). The resulting solution was stirred for 20 min. It was then acidified by addition of a saturated aqueous solution of NH₄Cl (20 mL) and extracted with Et₂O (3x10 mL). The combined organic extracts were dried with anhydrous MgSO₄ and the solvent was evaporated. The residue was purified by column chromatography (pentane/EtOAc, 7:3) to give 3.6 mg (0.012 mmol) of **30** as a white solid in 4% yield.

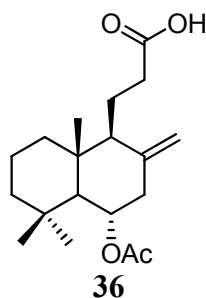
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.46 (d, 1H, *J* = 5.6 Hz), 4.17 (t, 1H, *J* = 6.2 Hz), 2.86-2.78 (m, 1H), 2.66-2.58 (m, 2H), 2.15 (s, 3H), 2.03-1.99 (m, 2H), 1.85-1.77 (m, 3H), 1.67-1.48 (m, 6H), 1.07 (s, 3H), 1.05 (s, 3H), 1.03 (s, 3H) ppm. MS (ESI⁺) *m/z* 319 [(M+Na)⁺].

(1*aR*,3*R*,3*aS*,7*bR*)-3*a*,7,7-trimethyl-3-(3-oxobutyl)octahydronaphtho[1,2-*b*]oxiren-2(1*aH*)-one

To an ice chilled solution of **24** (14.4 mg, 0.055 mmol) and of H₂O₂ 35% (60 μL) in 100 μL of methanol, were added 9 μL (0.054 mmol) of a 6 N NaOH solution. The resulting solution was stirred at room temperature for 4 hours before the addition of Et₂O (1 mL) and H₂O (1 mL). The phases were separated and the aqueous layer was extracted with Et₂O (3x1 mL). Once combined, the organic phases were washed with water (1 mL), brine (1 mL), dried over Na₂SO₄ and evaporated to give 11 mgs of a crude containing a 1:2 mixture of **24** and **31**. The crude was purified by column chromatography over silica gel (CH₂Cl₂/MeOH, 99:1) to give 1.1 mg (0.004 mmol, 7% yield) of pure **31** as a colorless oil.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3.40 (dd, 1H, *J* = 4.0, 1.2 Hz), 3.29 (d, 1H, *J* = 4.0 Hz), 2.70-2.62 (m, 1H), 2.34 (dd, 1H, *J* = 10.5, 2.5 Hz), 2.26-2.17 (m, 1H), 2.11 (s, 3H), 1.75 (br s, 1H), 1.71-1.56 (m, 7H), 1.15 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.79 (s, 3H) ppm. **MS (ESI⁺)** *m/z* 301 [(M+Na)⁺].

3-((1*S*,4*S*,8*aR*)-4-acetoxy-5,5,8*a*-trimethyl-2-methylenedecahydronaphthalen-1-yl)propanoic acid



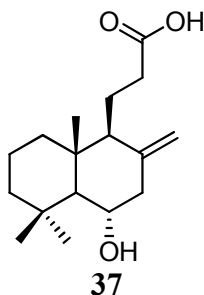
[CAS No. 179818-79-2]

In a two-necked round bottomed flask equipped with an addition funnel, a solution of NaOH (9.86 g, 246 mmol) in H₂O (83 mL) was cooled to -5 °C and Br₂ (3.60 mL, 70.0 mmol) was added dropwise. The temperature was kept at -5 °C and previously cooled 1,4-dioxane (57 mL) was added.

In a second three-necked round bottomed flask, a solution of **20** (6.05 g, 18.9 mmol) in 1,4-dioxane (240 mL) and H₂O (76 mL) was kept below 10 °C (internal temperature). The freshly prepared solution of “NaOBr” was added dropwise for 30 minutes. The reaction mixture was stirred and the temperature was maintained strictly below 10 °C until completion according to TLC monitoring (approx. 6 hours). When the starting material was consumed, a 10% aqueous solution of Na₂SO₃ (200 mL) was added slowly and the reaction mixture was concentrated under vacuum. Et₂O (100 mL) and water (100 mL) were added. The phases were separated and the organic layer was washed with water (2×50 mL). The combined aqueous layers were acidified with a 1N aqueous HCl solution until pH 2 and extracted with Et₂O (3×100 mL). The final organic layers were combined, washed with brine, dried (50 mL) over Na₂SO₄, filtered and concentrated under vacuum to give the crude product. Purification by column chromatography over silica gel using Et₂O as eluent afforded 3.3 g of a pseudo-crystalline solid as a mixture of **36** and **37** (10.4 mmol) in 55% yield.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.91 (br s, 1H), 5.00 (dt, 1H, *J* = 12.0, 4.0 Hz), 4.92 (s, 1H), 4.57 (s, 1H), 2.65 (dd, 1H, *J* = 12.0, 8.0 Hz), 2.52-2.45 (m, 1H), 2.23-2.15 (m, 1H), 2.03-1.85 (m, 2H), 2.00 (s, 3H), 1.74-1.29 (m, 7H), 1.21 (dt, 1H, *J* = 12.0, 4.0 Hz), 1.12-1.04 (m, 1H), 0.97 (s, 3H), 0.83 (s, 3H), 0.71 (s, 3H) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ 180.0, 170.2, 143.5, 109.4, 73.1, 57.3, 55.1, 43.9, 43.3, 39.6, 38.9, 36.1, 33.4, 32.9, 22.4, 21.8, 19.0, 18.9, 15.8 ppm. **IR (film):** ν 2927, 1737, 1709, 1649, 1444, 1378, 1242, 1025 cm⁻¹. **MS (ESI⁺)** *m/z* 345 [(M+Na)⁺]. **HRMS (ESI⁺)** calculated for C₁₉H₃₀O₄Na (M+Na)⁺: 345.20363, **found:** 345.20349.

3-((1*S*,4*S*,8*aR*)-4-hydroxy-5,5,8*a*-trimethyl-2-methylenedecahydronaphthalen-1-yl)propanoic acid

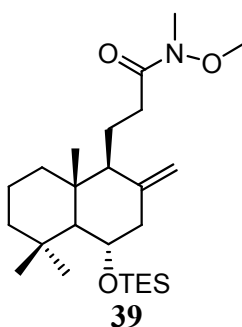


[CAS No. 10391-67-0]

A THF solution (40 mL) containing 3.03 g of the mixture of compounds **36** and **37** was added to 96 mL of a freshly prepared 1 M aqueous solution of LiOH·H₂O. The reaction mixture was heated at 80 °C for 15 hours until total consumption of **36**. The mixture is cooled to room temperature and then acidified with a 1 M aqueous solution of HCl until the pH decreases to 2. The resulting acidic solution was diluted with water (50 mL) and Et₂O (50 mL), the layers were separated and the aqueous phase was extracted with Et₂O (3×30 mL). The organic layers were combined and washed with brine (50 mL), dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under vacuum to give the crude compound as an amorphous solid (2.61 g, 9.30 mmol, 89%) that was directly used in the next step without any further purification.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.02 (br s, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.57 (s, 1H), 3.76 (dt, 1H, *J* = 12.0, 4.0 Hz), 3.74-3.69 (m, 1H), 2.65 (dd, 1H, *J* = 12.0, 8.0 Hz), 2.49-2.38 (m, 1H), 2.20-1.15 (m, 12H), 1.11 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.66 (s, 3H) ppm. ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 179.0, 144.7, 108.3, 71.5, 60.1, 55.2, 48.5, 43.7, 39.2, 39.1, 36.5, 33.7, 32.9, 22.2, 19.0, 18.9, 15.8 ppm. IR (film): ν 3407, 3017, 2929, 1709, 1647, 1443, 1389, 1216, 758 cm⁻¹. MS (ESI⁺) *m/z* 263 [(M+H-H₂O)⁺], 303 [(M+Na)⁺].

***N*-methoxy-*N*-methyl-3-((1*S*,4*S*,8*aR*)-5,5,8*a*-trimethyl-2-methylene-4-(triethylsilyloxy)decahydronaphthalen-1-yl)propanamide**



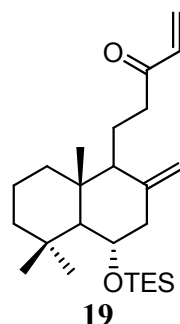
N,*O*-dimethylhydroxylamine hydrochloride (1.24 g, 12.7 mmol) and DMAP (110 mg, 0.98 mmole) were added at room temperature to a solution of **37** (2.61 g, 9.30 mmol) in 38 mL of dried CH₂Cl₂. The mixture was cooled to 0 °C before the addition of anhydrous triethylamine (3.90 mL, 27.9 mmol) and EDAC (1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide) (2.16 g, 11.3 mmol). The reaction mixture was stirred at this temperature for 1 hour, then it was allowed to warm to room temperature and then stirred for 20 hours until completion as monitored by TLC. Once the starting material was totally consumed, dried triethylamine

(1.70 mL, 12.1 mmol) and TESCOI (4.70 mL, 28.0 mmol) were added in one portion and the reaction mixture was stirred for additional 18 hours at room temperature.

The reaction was quenched by the addition of water (40 mL). The organic layer was separated and the aqueous phase was extracted with Et₂O (3×40 mL). Then the combined organic layers were washed with brine (50 mL), dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under vacuum to give the crude product as a yellow oil that was purified by column chromatography using silica gel (Et₂O/pentane, 6:4) to afford 2.85 g of **39** (6.50 mmol) as a colorless oil in 70% yield.

$[\alpha]_D^{25}$: + 29.3 (*c* 1.03, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.87 (s, 1H), 4.58 (s, 1H), 3.89 (dt, 1H, *J* = 10.4, 4.8 Hz), 3.63 (s, 3H), 3.16 (s, 3H), 2.60 (dd, 1H, *J* = 12.0, 4.8 Hz), 2.56-2.49 (m, 1H), 2.32-2.24 (m, 1H), 2.10 (t, 1H, *J* = 11.4 Hz), 1.95-1.88 (m, 1H), 1.76-1.17 (m, 9H), 1.10 (s, 3H), 0.97 (s, 3H + t, *J* = 8.0 Hz, 9H), 0.69 (s, 3H), 0.63 (q, 6H, *J* = 8.0 Hz) ppm. ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 174.4, 145.9, 107.8, 72.6, 61.2, 59.9, 55.7, 49.4, 44.0, 39.4, 39.3, 36.3, 33.8, 31.0, 30.5, 22.4, 19.1, 18.9, 16.1, 7.1, 5.6 ppm. IR (film): ν 2950, 2876, 1667, 1650, 1462, 1414, 1384, 1239, 1089, 741 cm⁻¹. MS (ESI⁺) *m/z* 460 [M+Na]⁺. Elemental Anal. calculated for C₂₅H₄₇NOSi: C, 68.60; H, 10.83; N, 3.20, found: C, 68.62; H, 10.69; N, 3.25.

5-((1*S*,4*S*,8*aR*)-5,5,8*a*-trimethyl-2-methylene-4-(triethylsilyloxy)decahydronaphthalen-1-yl)pent-1-en-3-one



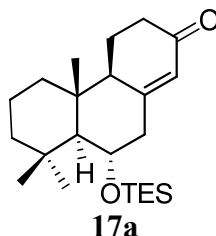
To a solution of **39** (2.58 g, 5.90 mmol) in anhydrous THF (24 mL), a 0.73 M solution vinylmagnesium bromide in THF (16.2 mL, 11.8 mmol) was added dropwise at -15 °C and the reaction mixture was stirred at this temperature for 30 minutes. Then, the reaction was allowed to warm to room temperature and stirred for 2 hours until reaction completion.

The reaction was quenched with 25 mL of a saturated NH₄Cl aqueous solution. The aqueous layer was extracted with Et₂O (3×50 mL). The organic layers were combined, washed with brine (50 mL), dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated to give crude **19** as an oil that was purified by column chromatography over silica gel (pentane/CH₂Cl₂, 6:4) to afford 1.92 g (4.74 mmol) of the vinylketone as a colorless oil in 80% yield.

$[\alpha]_D^{25}$: + 40.5 (*c* 0.68, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.32 (dd, 1H, *J* = 18.0, 10.4 Hz), 6.18 (dd, 1H, *J* = 18.0, 1.2 Hz), 5.79 (dd, 1H, *J* = 10.4, 1.2 Hz), 4.87 (d, 1H, *J* = 1.2 Hz), 4.51 (d, 1H, *J* = 1.2 Hz), 3.89 (td, 1H, *J* = 10.4, 4.4 Hz), 2.71-2.38 (m, 3H), 2.09 (t, 1H, *J* = 11.2 Hz), 1.93-1.83 (m, 1H), 1.74-1.12 (m, 9H), 1.09 (s, 3H), 0.98 (s, 3H), 0.93 (t, 9H, *J* = 8.0 Hz), 0.68 (s, 3H), 0.61 (q, 6H, *J* = 8.0 Hz) ppm. ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 201.1, 145.8, 136.7, 127.7, 107.8, 72.6, 60.1, 55.6, 49.3, 44.1, 39.5, 39.2, 38.7, 36.3, 33.8, 22.4, 19.0,

17.9, 16.1, 7.1, 5.6 ppm. **IR (film) ν** : 2951, 1703, 1682, 1644, 1616, 1461, 1411, 1240, 1089, 739 cm^{-1} . **MS (ESI⁺) m/z** 427 [(M+Na)⁺]. **Elemental Anal. Calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{44}\text{O}_2\text{Si}$** : C, 74.20; H, 10.96, **found**: C, 74.25; H, 11.24.

(4a*S*,4b*R*,9*S*)-4b,8,8-trimethyl-9-(triethylsilyloxy)-4,4a,4b,5,6,7,8,8a,9,10-decahydrophenanthren-2(3*H*)-one

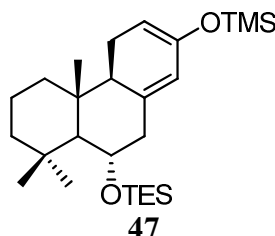


To a solution of **19** (1.84 g, 4.5 mmol) in degassed dry CH_2Cl_2 under argon, a solution of Grubbs II catalyst (200 mg, 0.23 mmole, 5% mol) in degassed and dry CH_2Cl_2 (14 mL) was added dropwise via cannula. The reaction mixture was heated at 40 °C for 45 min and was monitored by TLC. Then extra 5% mol of Grubbs II catalyst in CH_2Cl_2 (14 mL) were added. This operation was repeated regularly until the reaction was completed.

At the end, the reaction mixture was brought to room temperature and the volatiles were evaporated to give a dark brown oil. This residue was purified by column chromatography over silica gel (pentane/ Et_2O , 8:2) to give 1.14 g (3.00 mmol) of **17a** as a brown oil in a 66% yield.

$[\alpha]_{\text{D}}^{26}$: + 33.2 (*c* 0.25, CHCl_3). **^1H NMR (300 MHz, CDCl_3)** δ 5.79 (br s, 1H), 3.99 (dt, 1H, *J* = 9.9, 5.1 Hz), 2.68 (dd, 1H, *J* = 15.3, 5.1 Hz), 2.33-2.26 (m, 2H), 2.19-1.90 (m, 3H), 1.62-1.15 (m, 8H), 1.08 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), 0.92 (t, 9H, *J* = 8.1 Hz), 0.72 (s, 3H), 0.61 (q, 6H, *J* = 8.1 Hz) ppm. **^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3)** δ 199.2, 163.2, 126.0, 70.0, 59.0, 50.7, 45.9, 43.7, 39.8, 38.8, 36.7, 36.1, 33.5, 22.3, 21.0, 18.3, 16.4, 6.9, 5.5 ppm. **IR (film): ν** 2952, 2876, 1681, 1621, 1457, 1243, 1118, 1095, 739 cm^{-1} . **MS (DCI, NH_3 /isobutane) m/z** 377 [(M+H)⁺]. **Elemental Anal. Calculated for $\text{C}_{23}\text{H}_{40}\text{O}_2\text{Si}$** : C, 73.35; H, 10.71, **found**: C, 73.37; H, 10.81.

triethyl((4a*S*,4b*R*,9*S*)-4b,8,8-trimethyl-2-(trimethylsilyloxy)-4,4a,4b,5,6,7,8,8a,9,10-decahydrophenanthren-9-yloxy)silane

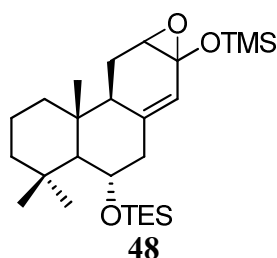


To a freshly prepared solution of LDA (0.292 mmole) in 300 μL of THF at -30 °C were added 100 mg of **17a** (0.265 mmole) as a solution in 1 mL of THF. The solution was stirred at -30 °C for ten minutes and freshly distilled TMSCl (71 μL , 0.557 mmole) was added with a microsyringe. After the addition, the reaction was allowed to warm up to room temperature and stirred for 2.5 additional hours.

The reaction was diluted by the addition of CH₂Cl₂ (1.2 mL) and then was washed with a saturated solution of NaHCO₃ until pH 9. The aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (3x2 mL) and the combined organic layers were washed with brine (2 mL), dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under vacuum to give 64 mg (0.143 mmole) of **47** as an oil with a 54% yield.

¹H NMR (300.12 MHz, CDCl₃) δ 5.38 (d, 1H, *J* = 1.9 Hz), 4.60 (br s, 1H), 3.94 (td, 1H, *J* = 9.9, 4.9 Hz), 2.59 (dd, 1H, *J* = 13.2, 4.9 Hz), 2.31-2.26 (m, 2H), 2.20-2.13 (m, 1H), 2.07-2.00 (m, 1H), 1.71-1.67 (m, 2H), 1.46-1.40 (m, 2H), 1.11 (s, 3H), 0.99 (t, 9H, *J* = 7.6 Hz), 0.98 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.89 (s, 3H), 0.64 (q, 6H, *J* = 7.6 Hz), 0.17 (s, 9H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 146.3, 139.8, 120.3, 99.7, 71.3, 60.3, 48.6, 45.9, 44.1, 40.0, 38.6, 36.3, 33.7, 22.5, 21.9, 18.6, 16.1, 7.1, 5.6, 0.2 ppm. **MS (ESI⁺)** *m/z* 449.3 [(M+H)⁺].

triethyl((5*S*,9*aS*,9*bR*)-4,4,9*b*-trimethyl-7*a*-(trimethylsilyloxy)-1,2,3,4,4*a*,5,6,7*a*,8*a*,9,9*a*,9*b*-dodecahydrophenanthro[3,2-*b*]oxiren-5-yloxy)silane

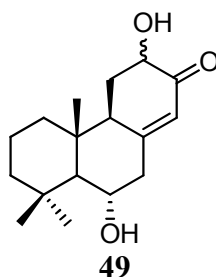


To a solution containing 64 mg (0.14 mmol) of **47** in anhydrous CH₂Cl₂ (1.4 mL) under argon and at -10 °C, were added 28 mg (0.16 mmole) of *m*-CPBA⁴ and the resulting solution was stirred at room temperature for 2 hours.

The reaction was diluted with diethyl ether (5 mL), filtered through a celite pad, washed with a saturated solution of NaHCO₃ until pH 8-9, with brine (5 mL) and dried over Na₂SO₄. The solvent was removed under reduced pressure to give 63 mg of an oily mixture of **41** and **48** (*vide infra*) in a 2.7:1 ratio. The crude mixture was purified by column chromatography (CH₂Cl₂/pentane, 8:2) to give 30 mg (0.065 mmol) of **41** and 9 mg of **48** (0.023 mmol) in 46% yield and 17% respectively.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.80 (br s, 1H), 4.09-4.00 (m, 2H), 2.74 (dd, 1H, *J* = 14.6, 4.6 Hz), 2.48-2.30 (m, 2H), 2.09-2.00 (m, 1H), 1.78-1.26 (m, 8H), 1.17 (s, 3H), 1.04 (s, 3H), 0.99 (t, 9H, *J* = 8.2 Hz), 0.80 (s, 3H), 0.66 (q, 6H, *J* = 8.2 Hz), 0.12 (s, 9H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 199.6, 164.2, 122.3, 71.7, 69.3, 60.0, 50.6, 47.9, 44.0, 40.9, 40.7, 36.5, 33.8, 29.2, 22.4, 18.8, 18.0, 7.1, 5.6, 0.2 ppm. **MS (ESI⁺)** *m/z* 487 [(M+Na)⁺].

⁴ *m*-CPBA was dissolved in CH₂Cl₂ and washed several times with a saturated solution of NaHCO₃ until the washings had a pH around 7-8. The solution was then dried over MgSO₄ and evaporated to give 3-chlorobenzoic acid free *m*-CPBA prior every use.

(4a*S*,4b*R*,9*S*)-3-hydroxy-4b,8,8-trimethyl-9-(triethylsilyloxy)-4,4a,4b,5,6,7,8,8a,9,10-decahydrophenanthren-2(3*H*)-one

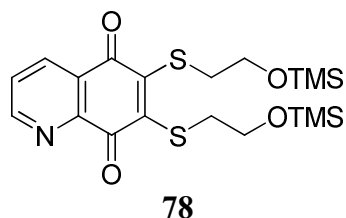
To a solution of 11 mg (0.024 mmol) of **48** in a 3:1 mixture of THF/H₂O (400 μL) at room temperature, were added 5 mg (0.028 mmole) of PTSA and the resulting mixture was stirred at room temperature overnight.

The reaction mixture was diluted with CH₂Cl₂ (5 mL) and quenched by the addition of an aqueous saturated solution of NaHCO₃ (1 mL). The aqueous layer was extracted with methylene chloride (3x5 mL) and the combined organic layers were washed with brine (5 mL), dried over Na₂SO₄, filtrated and evaporated to give **49** in a quantitative yield and in analytical purity.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 5.86 (br s, 1H), 4.06 (td, 1H, *J* = 9.9, 5.1 Hz), 2.75 (dd, *J* = 15.6, 5.2 Hz), 2.34-1.96 (m, 5H), 1.70-1.27 (m, 8H), 1.15 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 0.98 (t, 9H, *J* = 7.6 Hz), 0.79 (s, 3H), 0.65 (q, 6H, *J* = 7.6 Hz) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 199.6, 164.2, 122.0, 71.7, 69.3, 60.0, 50.5, 47.9, 44.0, 40.9, 40.7, 36.5, 33.8, 29.2, 22.3, 18.7, 18.0, 7.00, 5.6 ppm. **MS (ESI⁺)** *m/z* 417 [(M+Na)⁺].

III. Synthesis of compounds described in chapter 3

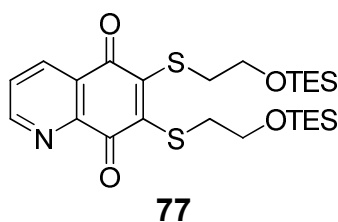
6,7-bis(2-(trimethylsilyloxy)ethylthio)-5,8-quinolinequinone



To a solution of 2-(trimethylsilyloxy)ethanethiol⁵ (278 mg, 1.84 mmol) in 3 mL of THF were added 257 μ L of NEt₃ (1.84 mmol). The resulting mixture was stirred at room temperature under argon for 15 minutes before being added to a suspension of 6,7-dichloro-5,8-quinolinequinone⁶ **75** (189 mg, 0.84 mmol) in THF (1.25 mL) under argon. A red precipitate was formed quite instantaneously and the mixture was stirred at room temperature for 4 hours under inert atmosphere. After this time, a large excess of diethyl ether was added (10 mL) and the insolubles were removed by filtration. The filtrated solution was concentrated under reduced pressure and the crude product was purified by chromatography on neutral alumina (activity IV, pentane-ether, 1:1 then ether) to afford 311 mg (0.68 mmol) of **78** as a dark red oil in 81% yield.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.90 (dd, 1H, $J = 4.8, 1.8$ Hz), 8.30 (dd, 1H, $J = 7.8, 1.8$ Hz), 7.58 (dd, 1H, $J = 7.8, 4.8$ Hz), 3.81 (t, 2H, $J = 6.3$ Hz), 3.78 (t, 2H, $J = 6.3$ Hz), 3.42 (t, 2H, $J = 6.3$ Hz), 3.36 (t, 2H, $J = 6.3$ Hz), -0.05 (s, 9H), -0.04 (s, 9H) ppm. ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 177.9, 177.2, 154.0, 149.4, 148.5, 145.8, 134.6, 129.8, 127.2, 62.8, 62.7, 36.8, 36.5, -0.8, -0.7 ppm. IR (film): ν 2954, 2898, 2862, 1660, 1583, 1484, 1410, 1283, 1251, 1202, 1141, 1095, 907, 841 cm⁻¹. MS (ESI⁺): m/z 456 [(M+H)⁺], 478 [(M+Na)⁺]. Elemental Anal. calculated for C₁₉H₂₉NO₄S₂Si₂: C, 50.08; H, 6.42; N, 3.08, found: C, 49.82; H, 6.22; N, 3.16.

6,7-bis(2-(triethylsilyloxy)ethylthio)-5,8-quinolinequinone



This compound was prepared as described for the preparation of **78** starting from 172 mg (0.90 mmol) of 2-(triethylsilyloxy)ethanethiol,⁷ 123 μ L of triethylamine (0.88 mmol) and 91

⁵ Prepared according to the procedure described by Wada, M.; Sato, S.-I.; Aritomi, M.; Harakawa, M.; Okawara, R. *J. Organometal. Chem.* **1972**, *39*, 99-106.

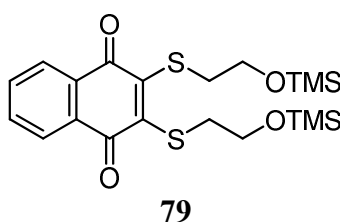
⁶ Prepared according to the procedure described by Shaikh, I. A.; Johnson, F.; Grollman, A. P. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 1329-1340.

⁷ Prepared according to the procedure described by Kniess, T.; Spies, H.; Isabel Santos, I.; Zablotska, A. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2002**, *45*, 629-636.

mg (0.40 mmol) of 6,7-dichloro-5,8-quinolinequinone **75** to afford 162 mg of **77** in 75% yield after 16 hours of reaction.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.88 (dd, 1H, *J* = 4.7, 1.5 Hz), 8.28 (dd, 1H, *J* = 7.8, 1.5 Hz), 7.56 (dd, 1H, *J* = 7.8, 4.7 Hz), 3.83 (t, 2H, *J* = 6.0 Hz), 3.79 (t, 2H, *J* = 6.0 Hz), 3.40 (t, 2H, *J* = 6.3 Hz), 3.34 (t, 2H, *J* = 6.3 Hz), 0.81 (t, 18H, *J* = 7.8 Hz), 0.43 (q, 12H, *J* = 7.8 Hz) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 177.8, 177.1, 153.9, 149.1, 148.4, 145.9, 134.4, 129.7, 127.1, 63.0, 62.9, 37.1, 36.7, 6.5, 6.3, 4.5, 4.1 ppm. **IR (film):** ν 2954, 2910, 2875, 1660, 1651, 1583, 1462, 1415, 1283, 1202, 1140, 1097, 1016 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** *m/z* 541 [(M+H)⁺], 563 [(M+Na)⁺]. **Elemental Anal. calculated for C₂₅H₄₁NO₄S₂Si₂:** C, 55.62; H, 7.66; N, 2.60, **found:** C, 55.62; H, 7.65; N, 2.72.

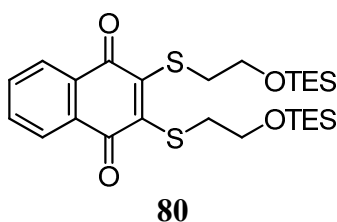
2,3-bis(2-(trimethylsilyloxy)ethylthio)-1,4-naphthoquinone



This compound was prepared as described for the preparation of **78** starting from 73 mg (0.48 mmol) of 2-(trimethylsilyloxy)ethanethiol,¹ 74 μL of triethylamine (0.48 mmol) and 50 mg (0.22 mmol) of 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone⁸ **73** to afford 98 mg (0.215 mmol) of **79** in 98% yield after 16 hours of reaction.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.0.1 (dd, 1H, *J* = 5.7, 3.3 Hz), 7.67 (dd, 1H, *J* = 5.7, 3.3 Hz), 3.81 (t, 4H, *J* = 6.3 Hz), 3.41 (t, 4H, *J* = 6.3 Hz), 0.01 (s, 18 H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 179.1, 148.0, 133.3, 133.1, 126.8, 62.9, 36.6, -0.7 ppm. **IR (film):** ν 2955, 2898, 2859, 1658, 1592, 1492, 1469 1273, 1251, 1140, 1086 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** *m/z* 455 [(M+H)⁺], 477 [(M+Na)⁺]. **Elemental Anal. calculated for C₂₀H₃₀O₄S₂Si₂:** C, 52.83; H, 6.65, **found:** C, 53.06; H, 6.43.

2,3-bis(2-(triethylsilyloxy)ethylthio)-1,4-naphthoquinone



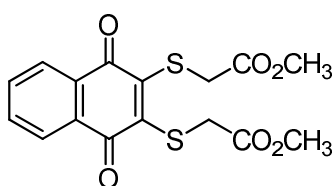
The title compound was prepared as described for the preparation of **77** starting from 140 mg (0.73 mmol) of 2-(triethylsilyloxy)ethanethiol,² 102 μL of triethylamine (0.73 mmol) and

⁸ Prepared according to the procedure described by Shi, S.; Katz, T. J.; Yang, B. V.; Liu, L. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 1285-1297.

75 mg (0.33 mmol) of 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone **73** to afford 98 mg (0.182 mmol) of **80** in 55% yield.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.01 (dd, 2H, *J* = 5.6, 3.2 Hz), 7.66 (dd, 2H, *J* = 5.6, 3.2 Hz), 3.84 (t, 4H, *J* = 6.4 Hz), 3.39 (t, 4H, *J* = 6.4 Hz), 0.88 (t, 18H, *J* = 7.6 Hz), 0.50 (q, 12H, *J* = 7.6 Hz) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 178.8, 147.6, 133.7, 133.1, 127.0, 63.2, 36.9, 6.84, 4.27 ppm. **IR (film):** ν 2953, 2910, 2875, 1659, 1592, 1464, 1272, 1140, 1095, 1016 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** *m/z* 539 [(M+H)⁺], 561 [(M+Na)⁺]. **Elemental Anal. calculated for C₂₆H₄₂O₄S₂Si₂:** C, 57.95; H, 7.86, **found:** C, 57.97; H, 7.98.

2,3-bis(1-methoxycarbonylmethylthio)-1,4-naphthoquinone

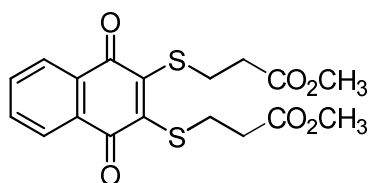


81

To a mixture of 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone **73** (50 mg, 0.22 mmol) and pyridine (50 μL, 0.62 mmol) in 1.1 mL of ethanol at 0°C were added 43 μL (0.484 mmol) of methyl thioglycolate. The resulting mixture was stirred at 5°C for 68 hours before being diluted with ethanol and filtered. The filtrate was recrystallized from hot acetone to give pure product as dark violet needles (35 mg, 43%).

m.p.: 113.3 °C. **¹H NMR (400.13 MHz, CDCl₃)** δ 8.03 (m, 2H), 7.68 (m, 2H), 4.02 (s, 4H), 3.70 (s, 6H) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ 178.8, 169.3, 146.2, 133.7, 132.8, 127.0, 52.7, 35.5 ppm. **IR (film):** ν 2939, 1738, 1650, 1583, 1435, 1276, 1164, 1140 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** *m/z* 367 [(M+H)⁺], 389 [(M+Na)⁺]. **Elemental Anal. calculated for C₁₆H₁₄O₆S₂:** C, 52.45; H, 3.86, **found:** C, 52.71; H, 4.23.

2,3-bis(2-methoxycarbonylethylthio)-1,4-naphthoquinone



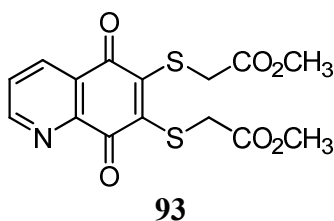
82

To a mixture of 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone **73** (200 mg, 0.88 mmol) and pyridine (200 μL, 2.48 mmol) in 4.4 mL of ethanol at 0°C were added 220 μL (1.94 mmol) of methyl 3-mercaptopropionate. The resulting mixture was stirred at 5°C for 13 hours before being diluted with ethanol and filtered. The solid residue was recrystallized from hot ethanol to give pure product as orange solid (202 mg, 0.51 mmol, 58%).

m.p.: 68.7 °C. **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 8.05 (m, 2H), 7.70 (m, 2H), 3.67 (s, 6H), 3.49 (t, 4H, *J* = 7.2 Hz), 2.73 (t, 4H, *J* = 7.2 Hz). **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ 178.8, 171.8, 147.4, 133.7, 132.8, 127.0, 51.9, 35.3, 29.8 ppm. **IR (KBr):** ν 1732, 1657, 1415, 1361, 1273,

1236 cm^{-1} . **MS (ESI⁺):** m/z 395 [(M+H)⁺], 417 [(M+Na)⁺]. **Elemental Anal. calculated for C₁₈H₁₈O₆S₂:** C, 54.81; H, 4.60, **found:** C, 54.85; H, 4.79.

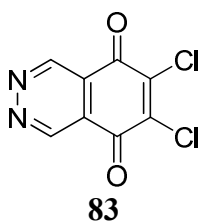
6,7-bis(1-methoxycarbonylmethylthio)-5,8-quinolinequinone



The title compound was prepared as described for the preparation of **78** starting from 100 mg (0.44 mmol) of 6,7-dichloro-5,8-quinolinequinone **75**, 135 μL of triethylamine (0.97 mmol) and 98 μL (0.97 mmol) of methyl thioglycolate to afford 83 mg (0.22 mmol) of **93** as a red oil in 51% yield after 1 hour of reaction.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.94 (dd, 1H, $J = 4.5, 1.5$ Hz), 8.34 (dd, 1H, $J = 7.8, 1.5$ Hz), 7.62 (dd, 1H, $J = 7.8, 4.5$ Hz), 4.08 (s, 2H), 4.00 (s, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.67 (s, 3H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 177.9, 177.2, 169.0, 168.9, 154.3, 148.2, 147.8, 144.4, 134.8, 129.7, 127.4, 52.7, 52.6, 35.3, 35.2 ppm. **MS (ESI⁺):** m/z 368 [(M+H)⁺], 390 [(M+Na)⁺]. **HRMS (ESI⁺)** calculated for C₁₅H₁₄O₆NS₂ (M+H)⁺: 368.02571, **found:** 368.02591. **Elemental Anal. calculated for C₁₅H₁₃NO₆S₂:** C, 49.04; H, 3.57; N, 3.81, **found:** C, 50.57; H, 3.78; N, 3.70.

6,7-dichloro-5,8-phthalazinequinone

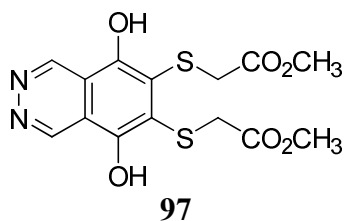


[CAS No. 102072-85-5]

Sodium chlorate (367 mg, 3.45 mmol) was added in small portions over a period of 30 minutes to a stirred solution of 5-aminophthalazine (50 mg, 0.34 mmol) in 37% HCl (3.5 mL) at room temperature. After addition, the reaction mixture was heated at 60 °C for one hour. Then the temperature of the reaction mixture was let to cool down to room temperature and then was diluted with CH₂Cl₂ and washed with a saturated Na₂CO₃ aqueous solution until a pH 8-9. The layers were separated and the aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (3×5 mL). The organic layers were combined, washed with brine, dried over Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure to afford a crude which was which was purified by chromatography on silica gel (AcOEt) to afford 8 mg (0.035 mmol) of **83** as a dark purple solid in 10% yield.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.90 (s, 2H) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ 175.3, 146.4, 143.8, 123.2 ppm. **IR (KBr):** ν 3293, 2920, 1692, 1551, 1434, 1290, 1129, 837 cm^{-1} . **MS (ESI⁺):** m/z 230 [(M+H)⁺].

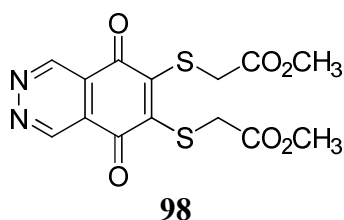
6,7-di(1-methoxycarbonylmethylthio)-5,8-dihydroxyphthalazine



To a solution of methyl thioglycolate (26 μ L, 0.28 mmol) and triethylamine (40 μ L, 0.28 mmol) in 0.7 mL of THF stirred at room temperature during 15 minutes was added **83** (30 mg, 0.13 mmol). The reaction mixture was stirred for 2 hours, then CH_2Cl_2 and distilled water were added then the aqueous layers were extracted with CH_2Cl_2 three times. The combined organic layers were washed with brine, dried over Na_2SO_4 and evaporated under reduced pressure to afford 37 mg of **97** a brown oil that was engaged in the next step without any further purification.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.82 (s, 2H), 3.67 (s, 4H), 3.65 (s, 6H) ppm. **IR (film):** ν 3383, 2953, 2924, 1737, 1435, 1291, 1197, 1162, 1127 1009 cm^{-1} . **MS (ESI⁺):** m/z 371 [(M+H)⁺].

6,7-di(1-methoxycarbonylmethylthio)-5,8-phthalazinequinone

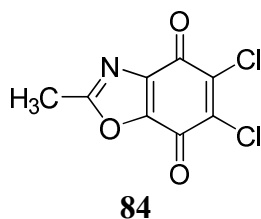


To a solution of 11.0 mg of **97** (0.030 mmol) in 200 μ L of acetonitrile-water (1:1) was added dropwise a solution of 41 mg of cerium ammonium nitrate (0.075 mmol) in 320 μ L of a solution of acetonitrile-water (20:1). The mixture was stirred at room temperature for 30 minutes before being diluted with an ice-water slurry (5 mL) and CH_2Cl_2 (5 mL).

The layers were separated and the aqueous phase was extracted with CH_2Cl_2 (3 \times 5 mL), the organic phases were combined organic, washed with brine (5 mL), dried over Na_2SO_4 and evaporated under reduced pressure to afford the crude as a purple oil that was purified with preparative TLC (Et_2O) to afford 1.1 mg **98** as a red oil in 10% yield over the two steps.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.75 (s, 2 H), 4.08 (s, 4H), 3.72 (s, 6H). **^{13}C NMR** (100 MHz, CDCl_3) δ 177.5, 168.9, 146.3, 146.1, 125.4, 52.9, 35.1. **IR (film):** ν 3054, 2986, 2955, 2925, 1738, 1666, 1461, 1438, 1265, 1158, 896 cm^{-1} . **MS (ESI⁺):** m/z 369 [(M+H)⁺]. **Elemental Anal.** calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2$: C, 45.65; H, 3.28, N, 7.60, **found:** C, 45.41; H, 3.85; N, 6.66.

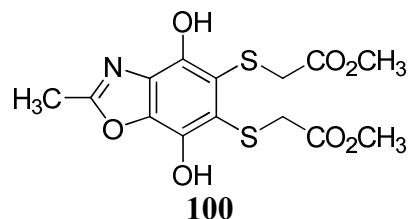
5,6-dichloro-2-methyl-4,7-benzo[d]oxazolequinone



Sodium chlorate (1.06 g, 10.0 mmol) was added in small portions over a period of 30 minutes to a stirred solution of **99** (200 mg, 1.34 mmol) in concentrated HCl (8 mL) at 65 °C. The reaction mixture was allowed to stir at this temperature for 3 additional hours. Then it was let to cool down before dilution with distilled water (20 mL) and CH₂Cl₂ (20 mL). The layers were separated and the aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (3×10 mL). The organic phases were combined, washed with brine (10 mL), dried over Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure to afford the crude as an orange solid, that was recrystallized from CH₂Cl₂/MeOH to give 80 mg (0.34 mmol) of **84** as a yellow solid in 25% yield.

m.p.: 197-199 °C. **¹H NMR (400.13 MHz, CD₃OD)** δ 2.58 (s, 3H) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, Acetone)** δ 173.4, 167.7, 165.6, 159.9, 144.2, 142.4, 120.6, 11.4 ppm. **IR (KBr):** ν 3387, 1688, 1616, 1543, 1174, 812 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** *m/z* 233 [(M+H)⁺]. **Elemental Anal.** calculated for C₈H₃Cl₂NO₃: C, 41.42; H, 1.31, N, 6.04, **found:** C, 41.29; H, 1.54; N, 5.67.

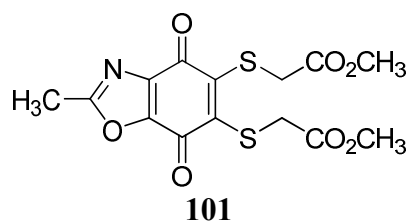
5,6-di(1-methoxycarbonylmethylthio)-2-methyl-4,7-dihydroxybenzo[d]oxazole



To a solution of **84** (80 mg, 0.34 mmol) in ethanol (1.7 mL) was added pyridine (80 μL, 0.99 mmol). The reaction mixture was cooled to 0 °C and 70 μL (0.76 mmol) of methyl thioglycolate were added. Then the reaction mixture was stirred at room temperature for 18 hours before diluted with CH₂Cl₂ (5 mL) and distilled water (5 mL). The layers were separated and the aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (3x 5mL). The organic phases were combined, washed with brine, dried over Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure to afford 25 mg of a mixture of **100** and of **101** as a burgundy oil. This mixture of isomers was engaged in the next step without any further purification.

¹H NMR (400.13 MHz, CDCl₃) δ 8.62 (br s, 2H), 4.05 (s, 2H), 3.73 (s, 3H), 2.66 (s, 3H) ppm.

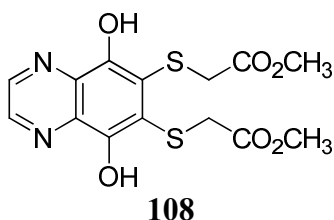
2-methyl-5,6-di(1-methoxycarbonylmethylthio)-4,7-benzoxazolequinone



A stirred solution of crude **100** (25 mg, 0.067 mmol) in 220 μL of a 1:1 mixture of $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ was cooled to 0°C before the addition of a solution of $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (122 mg, 0.45 mmol) in water (110 μL). The mixture was stirred at room temperature for 30 minutes and then it was diluted with CH_2Cl_2 (5 mL) and water (5 mL). The aqueous layers were extracted with CH_2Cl_2 (3 \times 5 mL) and the combined organic layers were washed with brine (5 mL), dried over Na_2SO_4 and the volatiles were removed under reduced pressure to afford a dark purple oil that was purified by column chromatography over silica gel (Et_2O /pentane, 1:1) to give pure **101** as a dark red oil (10 mg, 0.026 mmol, 79 % over the last two steps).

^1H NMR (400.13 MHz, CDCl_3) δ 4.05 (s, 2 H), 3.99 (s, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 2.55 (s, 3H). **^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3)** δ 175.3, 169.0, 168.9, 168.5, 163.8, 158.0, 147.6, 141.9, 119.6, 52.8, 52.8, 35.8, 35.2, 10.6. **IR (KBr):** ν 3054, 2987, 1739, 1678, 1421, 1265 cm^{-1} . **MS (ESI $^+$):** m/z 372 [(M+H) $^+$], 394 [(M+Na) $^+$]. **HRMS (ESI $^+$)** calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_7\text{NS}_2$ (M+H) $^+$: 372.02062, found: 372.02112. **Elemental Anal.** calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{NO}_7\text{S}_2$: C, 45.28; H, 3.53, N, 3.77, found: C, 46.60; H, 3.96; N, 3.64.

5,8-dihydroxy-6,7-di(1-methoxycarbonylmethylthio)quinoxaline

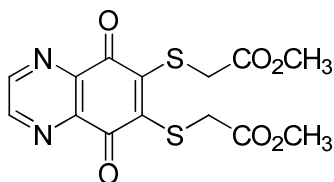


Methylthioglycolate (25 μL , 0.275 mmol) and triethylamine (38 μL , 0.275 mmol) were mixed in THF (620 μL) at room temperature and the resulting mixture was stirred for 15 minutes before 20 mg (0.125 mmol) of **85** were added. The reaction mixture was stirred for 12h at room temperature and then the volatiles were evaporated under reduced pressure. The residue was dissolved in water and it was extracted with CH_2Cl_2 (3 \times 10 mL). The combined organic layers were washed with brine (15 mL), dried over Na_2SO_4 and evaporated under reduced pressure to afford the crude as a yellow solid. Purification by column chromatography over silica gel (Et_2O -MeOH, 94:6) gave **108** as a yellow solid that was recrystallized from hot ethanol to afford 17 mg (0.046 mmol) of the title compound **108** as a yellow solid in 37% yield.

m.p.: 129-130 $^\circ\text{C}$. **^1H NMR (300.13 MHz, CDCl_3)** δ 8.83 (s, 2H), 8.01 (s, 2H), 3.86 (s, 4H), 3.68 (s, 6H) ppm. **^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3)** δ 170.4, 147.3, 144.3, 133.6, 119.3, 52.7, 36.7

ppm. **IR (KBr):** ν 1720, 1439, 1400, 1278, 1154, 1121, 1100 cm^{-1} . **HRMS (ESI⁺)** calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺: 393.01855, **found:** 393.01857.

6,7-di(1-methoxycarbonylmethylthio)-5,8-quinoxalinequinone

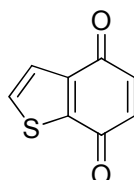


107

To a stirred solution of **108** (17 mg, 0.046 mmol) in a 1:1 mixture of acetonitrile-water (500 μL) was added dropwise a solution of cerium ammonium nitrate (55 mg, 0.101 mmol) in acetonitrile-water (20:1, 950 μL). The mixture was stirred at room temperature for 30 minutes before dilution with an ice-water slurry (5 mL) and with CH_2Cl_2 (5 mL). The aqueous phase was extracted with CH_2Cl_2 (4 \times 5 mL) and the combined organics were washed with brine (5 mL), dried over Na_2SO_4 and evaporated under reduced pressure to afford the crude product a dark purple oil. Purification by column chromatography over silica gel (CH_2Cl_2 then $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 95:5) gave 4 mg (0.011 mmol) of **107** as an orange oil in 24% yield.

¹H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.69 (s, 2H), 4.12 (s, 4H), 3.70 (s, 6H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl_3)** δ 176.7, 169.0, 148.6, 146.6, 144.6, 52.8, 35.2 ppm. **IR (film):** ν 3003, 2954, 2924, 2851, 1731, 1667, 1530, 1485, 1435, 1286, 1191 1004 cm^{-1} . **MS (ESI⁺):** m/z 369 [($\text{M}+\text{H}$)⁺], 391 [($\text{M}+\text{Na}$)⁺]. **Anal. Calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2$:** C, 45.65; H, 3.28, N, 7.60, **found:** C, 45.89; H, 3.22, 7.23

Benzo[b]thiophenequinone



86

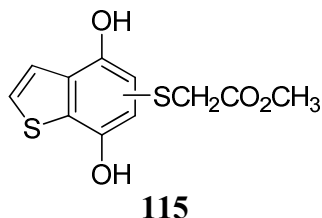
[CAS No. 73630-87-2]

To a stirred solution of 4,7-dimethoxybenzo[b]thiophene **113** (100 mg, 0.51 mmol) in a 1:1 mixture of acetonitrile-water (2.8 mL) at room temperature, was added dropwise a solution of ceric ammonium nitrate (706 mg, 1.29 mmol) in 5.8 mL of acetonitrile-water (20:1). The mixture was stirred at room temperature for 1 h 30 before dilution with an ice-water slurry (6 mL) and with CH_2Cl_2 (10 mL). The phases were separated and the aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3 \times 10 mL). The organic phases were combined and washed with brine (10 mL), dried over Na_2SO_4 and evaporated under reduced pressure to afford a light brown solid which was purified by column chromatography over silica gel (CH_2Cl_2 /pentane, 1:1) to give pure 49 mg (0.30 mmol) of **86** as a yellow solid in 58% yield.

¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.60 (ABq, 2H, $J = 5.2$ Hz), 6.80 (ABq, 2H, $J = 10.4$ Hz) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, CDCl_3)** δ 181.3, 179.6, 142.6, 140.9, 138.0, 137.6, 133.4, 126.0

ppm. **IR (film):** ν 1660, 1650, 1514, 1432, 1398, 1309, 1265, 1099, 1017 cm^{-1} . **MS (ESI⁺):** m/z 165 [(M+H)⁺].

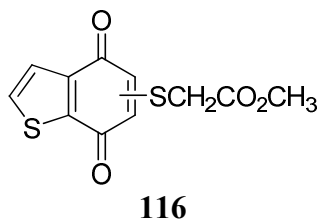
**4,7-dihydroxy-5-(1-methoxycarbonylmethylthio)benzo[*b*]thiophene and
4,7-dihydroxy-6-(1-methoxycarbonylmethylthio)benzo[*b*]thiophene**



A solution of compound **86** (49 mg, 0.30 mmol) in 6 mL of 95% EtOH was added to a solution of methyl thioglycolate (56 μL , 0.62 mmol) in 6 mL of 95% EtOH. The resulting solution was refluxed for 70 minutes and after cooling, it was diluted with distilled water (10 mL) and CH_2Cl_2 (10 mL). The layers were separated and the aqueous phase was extracted with CH_2Cl_2 (3 \times 10 mL). Once the organic phases combined, they were washed with brine (10 mL), dried over Na_2SO_4 and evaporated under reduced pressure to afford a 70 mg (0.26 mmol) of light yellow oil containing **115** as a mixture of regioisomers that was used in the next step without any further purification.

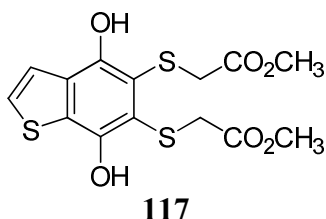
IR (film): ν 3396, 2953, 1721, 1503, 1444, 1302, 1201, 1170 1064 cm^{-1} . **MS (ESI⁺):** m/z 271 [(M+H)⁺].

**5-(1-methoxycarbonylmethylthio)-4,7-benzo[*b*]thiophenedione and
6-(1-methoxycarbonylmethylthio)-4,7-benzo[*b*]thiophenedione**



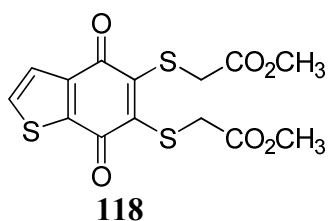
To a stirred solution of **115** (70 mg, 0.26 mmol) in a 1:1 mixture of acetonitrile-water (1.4 mL) was added dropwise a solution of cerium ammonium nitrate (321 mg, 0.58 mmol) in 2.7 mL of acetonitrile-water (20:1). The mixture was stirred at room temperature for 30 minutes before dilution with an ice-water slurry (5 mL) and with CH_2Cl_2 (5 mL). The phases were separated and the aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3 \times 5 mL). The organic phases were combined and washed with brine (5 mL), dried over Na_2SO_4 and evaporated under reduced pressure to afford 60 mg (0.22 mmol) of **116** as a red solid (mixture of regioisomers) that was engaged in the next step without any further purification.

¹H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.70 (d, H, $J = 5.0$ Hz), 7.48 (d, H, $J = 5.0$ Hz), 6.42 (s, 1H), 3.78 (s, 2H), 3.71 (s, 3H). **For the second isomer:** 7.62 (d, H, $J = 5.2$ Hz), 7.55 (d, H, $J = 5.2$ Hz), 6.49 (s, 1H), 3.78 (s, 2H), 3.66 (s, 3H). **IR (KBr):** ν 3102, 2946, 1736, 1659, 1637, 1432, 1397, 1265 cm^{-1} . **MS (ESI⁺):** m/z 291 [(M+Na)⁺].

4,7-dihydroxy-5,6-di-(1-methoxycarbonylmethylthio)benzo[*b*]thiophene

A solution **116** (60 mg, 0.224 mmol) in 4.5 mL of 95% EtOH was added to a solution of methyl thioglycolate (42 μ L, 0.47 mmol) in 4.5 mL of 95% EtOH. The resulting solution was then refluxed for 2h20. After cooling, the solution was diluted with distilled water (10 mL) and CH_2Cl_2 (10 mL). The layers were separated and the aqueous phase was extracted with CH_2Cl_2 (3 \times 10 mL). The organic phases were combined, washed with brine (10 mL), dried over Na_2SO_4 and evaporated under reduced pressure to afford 91 mg of crude **117** as brown oil that was used in the next step without any further purification.

$^1\text{H NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3) δ 7.94 (br s, 1H), 7.81 (br s, 1H), 7.47 (ABq, 2H, $J = 5.6$ Hz), 3.66 (s, 3H), 3.65 (s, 3H), 3.62 (s, 2H), 3.61 (s, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 171.5, 171.4, 148.8, 148.1, 132.2, 132.1, 127.9, 122.0, 113.6, 113.5, 53.0, 52.9, 39.2, 39.1. **IR (film):** ν 3389, 2953, 2924, 1731, 1485, 1434, 1415, 1301, 1200, 1169, 996, 958 cm^{-1} . **MS (ESI $^+$):** m/z 375 [(M+H) $^+$], 396 [(M+Na) $^+$].

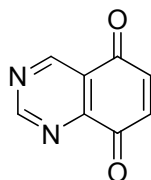
5,6-bis(1-methoxycarbonylmethylthio)-4,7-benzo[*b*]thiophenequinone

To a stirred solution of **117** (91 mg, 0.24 mmol) in acetonitrile-water (1:1, 1.4 mL) was added dropwise a solution of ceric ammonium nitrate (333 mg, 0.61 mmol) in 2.7 mL of acetonitrile/water (20:1). The mixture was stirred at room temperature for 30 minutes before dilution with an ice/water slurry (5 mL) and with CH_2Cl_2 (5 mL). The phases were separated and the aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3 \times 5 mL). The organic phases were combined and washed with brine (5 mL), dried over Na_2SO_4 and evaporated under reduced pressure to afford a dark purple oil that was purified by column chromatography over silica gel (CH_2Cl_2) to give 45 mg (0.121 mmol) of pure **118** as a purple oil in 40 % in four steps from **86**.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.62 (d, 1H, $J = 4.8$ Hz), 7.48 (d, 1H, $J = 4.8$ Hz), 4.00 (s, 2H), 3.99 (s, 2H), 3.71 (br s, 6H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 174.9, 173.5, 169.2, 169.1, 145.1, 144.8, 143.3, 141.6, 133.7, 126.7, 52.7, 52.6, 35.7, 35.6 ppm. **IR (film):** ν 3054, 2987, 2955, 1736, 1663, 1437, 1265, 1147 cm^{-1} . **MS (ESI $^+$):** m/z 372 [(M+H) $^+$], 394 [(M+Na) $^+$].

HRMS (ESI⁺) calculated for C₁₄H₁₂O₆S₃Na (M+Na)⁺: 394.96882, **found**: 394.96943.
Elemental Anal. Calculated for C₁₄H₁₂O₆S₃: C, 45.15; H, 3.25, **found**, C, 45.82; H, 3.64.

5,8-quinazolinequinone



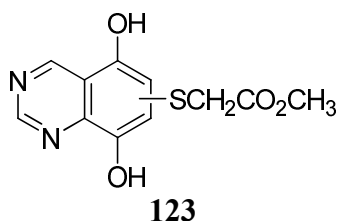
87

[CAS 24271-82-7]

To a stirred solution of **119** (100 mg, 0.56 mmol) in 2.8 mL of a mixture of acetonitrile-water (1:1), was added dropwise a solution of cerium ammonium nitrate (722 mg, 1.32 mmol) in 5.3 mL of acetonitrile-water (20:1). The mixture was stirred at room temperature for 30 minutes before being diluted with an ice-water slurry (10 mL) and CH₂Cl₂ (10 mL). The layers were separated and the aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (3×10 mL), the organic phases were combined organic, washed with brine (10 mL), dried over Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure to afford the crude as a yellow solid (44 mg, 0.27 mmol, 52%) of **87** that was used in the next step without any further purification.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.68 (s, 1H), 9.52 (s, 1H), 7.17 (ABq, 2H, *J* = 10.8 Hz) pm.
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 183.1, 182.5, 163.0, 157.4, 152.2, 139.1, 138.1, 124.2 ppm.
IR (KBr): ν 3033, 1687, 1670, 1601, 1567, 1310, 1082, 1026 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** *m/z* 161 [(M+H)⁺].

6-(1-methoxycarbonylmethylthio)-5,8-dihydroxyquinazoline and 7-(1-methoxycarbonylmethylthio)-5,8-dihydroxyquinazoline

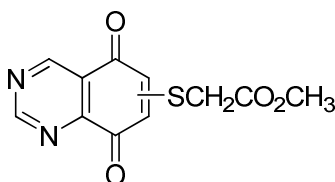


123

To a solution of methyl thioglycolate (25 μL, 0.28 mmol) in 95 % EtOH (2.5 mL) was added a solution of **87** (21 mg, 0.13 mmol) in 95 % EtOH (2.5 mL). The resulting solution was refluxed for 4 h. Then it was let to cool down before dilution with distilled water (3 mL) and CH₂Cl₂ (3 mL). The layers were separated and the aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (3×3 mL). After mixing, the combined organic phases were washed with brine (10 mL), dried over Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure to afford a dark oil that was purified by column chromatography over silica gel (EtOAc/Pentane, 6/4) to give 22 mg (0.08 mmol, 30%) of a mixture of two regioisomers **123**.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.77 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 8.31 (br s, 1H), 8.30 (br s, 1H), 7.43 (s, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.59 (s, 2H) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ 172.0, 157.0, 154.8, 148.6, 144.6, 141.3, 120.6, 116.2, 113.5, 55.37, 39.1 ppm. **IR (film):** ν 3316, 2960, 2924, 1735, 1609, 1465, 1465, 1414, 1372, 1269, 1116 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** *m/z* 267 [(M+H)⁺].

**6-(1-methoxycarbonylmethylthio)-5,8-quinazolinequinone and
7-(1-methoxycarbonylmethylthio)-5,8-quinazolinequinone**

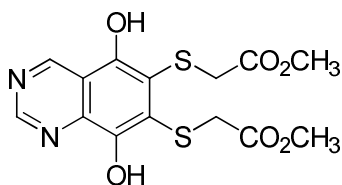


124

To a stirred solution of **123** (22 mg, 0.08 mmol) in 460 μL of a mixture of acetonitrile-water (1:1) was added dropwise a solution of cerium ammonium nitrate (113 mg, 0.206 mmol) in 850 μL of acetonitrile/water (20:1). The mixture was stirred at room temperature for 30 minutes before dilution with an ice/water slurry (5 mL) and with CH₂Cl₂ (5 mL). The phases were separated and the aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (3×5 mL). The organic phases were combined and washed with brine (5 mL), dried over Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure to afford 24 mg of a mixture of isomers **124** that was used in the next step without any further purification.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9.64 (s, 1H), 9.50 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 3.80 (s, 2H), 3.74 (s, 3H). **For the other isomer:** 9.65 (s, 1H), 9.49 (s, 1H), 6.92 (s, 1H), 3.79 (s, 2H), 3.73 (s, 3H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 179.4, 178.8, 167.4, 163.3, 157.6, 154.5, 128.2, 127.3, 124.0, 53.2, 32.7 ppm. **IR (film):** ν 2956, 2924, 1737, 1687, 1650, 1567, 1436, 1314, 1263, 1198, 1164 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** *m/z* 265 [(M+H)⁺], 287 [(M+Na)⁺].

6,7-di(1-methoxycarbonylmethylthio)-5,8-dihydroxyquinazoline



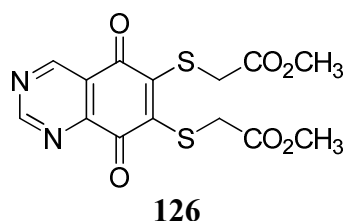
125

A solution of compound **124** (24 mg, 0.09 mmol) in 1.8 mL of 95% EtOH was added to a solution of methyl thioglycolate (17 μL, 0.19 mmol) in 1.8 mL of 95% EtOH. The resulting solution was then refluxed for 4 h. The reaction was let to cool down before dilution with distilled water (5 mL) and CH₂Cl₂ (5 mL). The layers were separated and the aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (3×5 mL). The organic phases were combined, washed with brine (5 mL), dried over Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure to afford 26 mg of a brown oil that was used in the next step without any further purification.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9.70 (s, 1H), 9.26 (s, 1H), 8.47 (br s, 1H), 8.04 (br s, 1H), 4.06 (s, 2H), 3.77 (s, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.64 (s, 3H) ppm. **IR (film):** ν 3397, 3053, 2986,

2955, 1736, 1604, 1582, 1407, 1265, 1126 cm^{-1} . **MS (ESI⁺):** m/z 371 [(M+H)⁺], 393 [(M+Na)⁺].

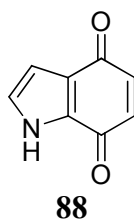
6,7-di(1-methoxycarbonylmethylthio)-5,8-quinazolinequinone



To a stirred solution of **125** (26 mg, 0.070 mmol) in 400 μL of a 1:1 mixture of acetonitrile-water was added dropwise a solution of cerium ammonium nitrate (96 mg, 0.175 mmol) in 744 μL of acetonitrile-water (20:1). The mixture was stirred at room temperature for 30 minutes before dilution with an ice-water slurry (3 mL) and with CH_2Cl_2 (3 mL). The phases were separated and the aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3 \times 5 mL). The organic phases were combined and washed with brine (5 mL), dried over Na_2SO_4 and evaporated under reduced pressure to afford a dark red oil that was purified by column chromatography over silica gel (CH_2Cl_2) to give 15 mg (0.04 mmol) of **126** in 31% yield from **87**.

¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.58 (s, 1H), 9.42 (s, 1H), 4.09 (s, 2H), 4.07 (s, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.68 (s, 3H). **¹³C NMR (100 MHz, CDCl_3)** δ 176.8, 176.4, 168.9, 168.8, 162.5, 157.2, 153.5, 147.3, 145.5, 125.3, 52.9, 52.8, 35.2, 35.1. **IR (film):** ν 2996, 2954, 1737, 1666, 1566, 1435, 1280 cm^{-1} **MS (ESI⁺):** m/z 369 [(M+H)⁺], 391 [(M+Na)⁺]. **Elemental Anal. calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2$:** C, 45.65; H, 3.28, N, 7.60, **found:** C, 45.60; H, 3.65; N, 7.03.

4,7-indolequinone



[CAS No. 20342-64-7]

To a chilled solution of 4,7-dimethoxy-1H-indole **127** (100 mg, 0.56 mmol) in THF (10 mL) at -20°C were added 308 μL of *n*-BuLi in hexanes (1.2 M, 0.67 mmol). The resulting yellow solution was stirred for 30 minutes at -20°C before a solution of Boc_2O (148 mg, 0.67 mmol) in THF (5 mL) was added dropwise. After the addition, the green solution was removed from the cooling bath and it was stirred at room temperature for 1 hour.

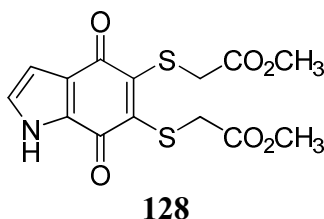
The reaction was quenched by the addition of a saturated solution of NH_4Cl (5 mL) and of diethyl ether (5 mL). The layers were separated and the aqueous phase was extracted with diethyl ether (2 \times 5 mL). The organic phases were combined, dried over MgSO_4 and

evaporated to afford a green oil that dissolved in a 1:1 mixture of acetonitrile-water (6 mL) was added dropwise a solution of cerium ammonium nitrate (675 mg, 1.23 mmol) in acetonitrile-water (20:1, 11.6 mL). The mixture was stirred at room temperature for 30 minutes before dilution with an ice-water slurry (15 mL) and with CH₂Cl₂ (15 mL). The aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (4×25 mL) and the combined organics were washed with brine (50 mL), dried over Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure to afford the crude product a dark purple oil that was used in the next step without any further purification.

The purple solid obtained as above, was dissolved in methylene chloride (5 mL) and 64 μL (0.84 mmol) of TFA were added. The resulting mixture was stirred at room temperature for 30 minutes and the reaction was hydrolysed by the addition of a saturated aqueous solution of NaHCO₃ until pH 8-9. The layers were separated and the aqueous phase was washed with brine (10 mL), dried over Na₂SO₄ and evaporated to give the crude product as a brown oil. Purification by column chromatography over silica gel (CH₂Cl₂) gave 13 mg (0.08 mmol) of pure **88** in 14% yield.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 10.6 (br s, 1H), 7.08 (t, 1H, *J* = 2.6 Hz), 6.64 (t, 1H, *J* = 2.6 Hz), 6.60 (br s, 1H), 6.59 (br s, 1H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 183.3, 177.6, 138.1, 136.1, 130.7, 125.8, 125.7, 108.3 ppm. **IR (film):** ν 3203, 2925, 1644, 1582, 1493, 1391, 1151, 1105, 1074 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** *m/z* 148 [(M+H)⁺]. **HRMS (ESI⁺) calculated for C₈H₆NO₂:** 148.03930, **found:** 148.03896.

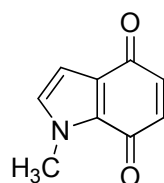
5,6-di(1-methoxycarbonylmethylthio)-4,7-indolequinone



Methylthioglycolate (94 μL, 1.05 mmol) and triethylamine (150 μL, 1.0 mmol) were mixed in THF (4.8 mL) at room temperature and the resulting mixture was stirred for 15 minutes before 70 mg (0.476 mmol) of 4,7-indolequinone **88** were added. The reaction mixture was stirred for 16 h at room temperature and then it was diluted with water (5 mL) and CH₂Cl₂ (5 mL). The layers were separated and the aqueous phase was extracted with methylene chloride (3×10 mL). The organic layers were combined, were washed with brine (15 mL), dried over Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure to afford the crude product that was purified by column chromatography over silica gel (CH₂Cl₂/AcOEt, 94:6) to give 61 mg (0.171 mmol) of **128** as a violet oil in 36% yield.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 10.28 (br s, 1H), 7.01 (d, 1H, *J* = 2.7 Hz), 6.55 (d, 1H, *J* = 2.7 Hz), 4.01 (s, 2H), 3.94 (s, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.72 (s, 3H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 176.6, 171.2, 169.8, 169.6, 146.8, 141.5, 130.8, 126.2, 126.0, 109.4, 52.7, 52.6, 36.1, 35.8 ppm. **IR (KBr):** ν 3300, 2953, 2926, 1737, 1649, 1435, 1381, 1292, 1194, 1157, 1124, 1008 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** *m/z* 356 [(M+H)⁺], 378 [(M+Na)⁺]. **HRMS (ESI⁺) calculated for C₁₄H₁₄O₆NS₂ (M+H)⁺:** 356.02571, **found:** 356.02617. **Elemental Anal. calculated for C₁₄H₁₃NO₆S₂:** C, 47.31; H, 3.69; N, 3.94, **found:** C, 47.89; H, 3.85; N, 3.76.

***N*-methyl-4,7-indolequinone**



89

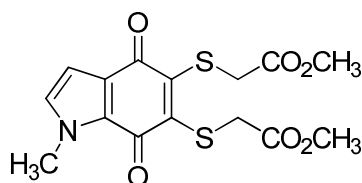
[CAS No. 250783-93-8]

To a stirred solution of 4,7-dimethoxyindole **127** (200 mg, 1.13 mmol) in DMF (1 mL) were added 50 mg (1.25 mmol) of a 60% suspension of NaH. The resulting mixture was stirred at room temperature for 90 minutes before the addition of 500 μ L of methyl iodide (8.03 mmol). The whitish solution was stirred at room temperature for 5 additional hours. The reaction was quenched by the addition of water (5 mL) and ether (5 mL). The layers were separated and the aqueous phase was extracted with a 1:1 mixture of diethyl ether/pentane (3x10 mL). The organic phases were combined, washed with brine (20 mL), dried over Na₂SO₄ and evaporated to give the crude product that was purified by column chromatography over silica gel (CH₂Cl₂/cyclohexane, 6:4) to give 145 mg (0.76 mmol, 67%) of *N*-methyl-4,7-dimethoxyindole.

To a solution of *N*-methyl-4,7-dimethoxyindole obtained as above (145 mg, 0.76 mmol) in a 1:1 mixture of CH₃CN-H₂O were added dropwise 50 mL of a solution of PIFA (1.31 g, 3.04 mmol) in a 1:1 mixture of CH₃CN/H₂O. The resulting mixture was stirred at room temperature over 30 minutes before being extracted with methylene chloride (3x20 mL). The organic phase was washed with water (2x20 mL) and dried over Na₂SO₄. Purification by column chromatography over silica gel (cyclohexane/CH₂Cl₂, 2:8) gave 61 mg (0.38 mmol, 50%) of the title compound.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.74 (d, 1H, *J* = 2.8 Hz), 6.39 (m, 3H), 3.84 (s, 3H) ppm. **MS (ESI⁺):** *m/z* 162 [(M+H)⁺], 184 [(M+Na)⁺].

***N*-methyl-5,6-di(1-methoxycarbonylmethylthio)-4,7-indolequinone**



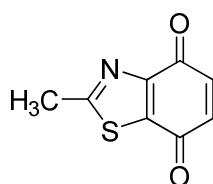
129

Methylthioglycolate (25 μ L, 0.28 mmol) and triethylamine (37 μ L, 0.26 mmol) were mixed in THF (200 μ L) at room temperature and the resulting mixture was stirred for 15 minutes before 20 mg (0.12 mmol) of *N*-methyl-4,7-indolequinone **89** were added. The reaction

mixture was stirred for 3.5 h at room temperature and then it was diluted with water (5 mL) and CH₂Cl₂ (5 mL). The layers were separated and the aqueous phase was extracted with methylene chloride (3x10 mL). The organic layers were combined, were washed with brine (15 mL), dried over Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure to afford the crude product that was purified by column chromatography over silica gel (CH₂Cl₂/MeOH, 99:1) to give 10 mg (0.027 mmol) of **129** in 22% yield.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.78 (d, 1H, 2.7 Hz), 6.56 (d, 1H, *J* = 2.7 Hz), 4.00 (s, 2H), 3.94 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.72 (s, 6H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 176.6, 171.8, 169.5, 169.5, 146.7, 142.3, 130.9, 129.4, 127.2, 108.4, 52.6, 52.6, 36.5, 36.0, 35.9 ppm. **IR (KBr):** ν 3227, 3123, 2951, 2916, 1743, 1716, 1642, 1438, 1382, 1327, 1192, 1167, 808 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** *m/z* 370 [(M+H)⁺].

2-methyl-4,7-benzo[*d*]thiazolequinone



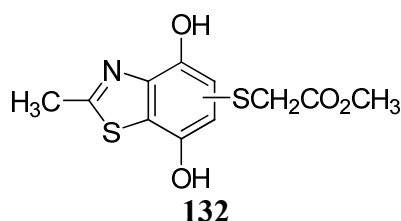
90

[CAS No. 839675-46-6]

To a stirred solution of 4,7-dimethoxybenzothiazole **130** (100 mg, 0.48 mmol) in a 1:1 mixture of acetonitrile-water (2.6 mL) was added dropwise a solution of cerium ammonium nitrate (655 mg, 1.195 mmol) in acetonitrile-water (20:1, 4.8 mL). The mixture was stirred at room temperature for 30 minutes, before being diluted with an ice-water slurry (3 mL) and CH₂Cl₂ (10 mL). The aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (3x10 mL) and the combined organics were washed with brine (10 mL), dried over Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure to afford the crude product which was purified by column chromatography over silica gel (CH₂Cl₂ then Et₂O) to give pure 26 mg of **90** in 55% yield.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.83 (ABq, 2H, *J* = 10.4 Hz), 2.82 (s, 3H). **IR (KBr):** ν 3057, 1678, 1657, 1649, 1310, 1202, 1105, 1035 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** 180 [(M+H)⁺], 202 [(M+Na)⁺]. **HRMS (ESI⁺)** calculated for C₈H₅NO₂SNa (M+Na)⁺: 201.99340, **found:** 201.99332.

2-methyl-4,7-dihydroxy-5-(1-methoxycarbonylmethylthio)benzo[*d*]thiazole and 2-methyl-4,7-dihydroxy-6-(1-methoxycarbonylmethylthio)benzo[*d*]thiazole

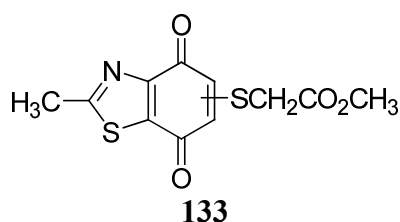


A solution of compound **90** (20 mg, 0.11 mmol) in 0.66 mL of 95% EtOH was added to a solution of methylthioglycolate (21 μL, 0.24 mmol) in 0.22 mL of 95% EtOH. The resulting solution was refluxed for 5 h and after cooling, the reaction mixture was diluted with distilled water (5 mL) and CH₂Cl₂ (5 mL). The aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (3x5 mL)

and the combined organic phases were washed with brine, dried over Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure to afford the crude as brown oil (30 mg) that was used in the next step without any further purification.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.93 (br s, 2H), 7.10 (s, 1H), 3.72 (s, 2H), 3.55 (s, 3H), 2.81 (s, 3H) ppm. **For the other isomer:** 7.66 (br s, 2H), 6.96 (s, 1H), 3.67 (s, 2H), 3.54 (s, 3H), 2.80 (s, 3H) ppm. **IR (film):** ν 3386, 2953, 2844, 1731, 1472, 1435, 1297, 1263, 1182, 1085 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** 286 [(M+H)⁺], 308 [(M+Na)⁺].

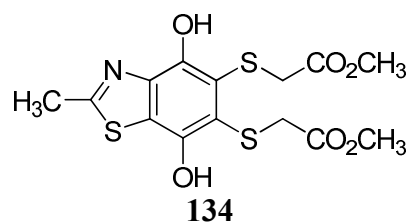
**2-methyl-5-(1-methoxycarbonylmethylthio)-4,7-benzo[d]thiazolequinone and
2-methyl-6-(1-methoxycarbonylmethylthio)-4,7-benzo[d]thiazolequinone**



To a stirred solution of **132** (30 mg, 0.105 mmol) in a 1:1 mixture of acetonitrile-water (600 μL) was added dropwise a solution of cerium ammonium nitrate (144 mg, 0.263 mmol) in acetonitrile-water (20:1, 1.07 mL). The mixture was stirred at room temperature for 30 minutes before being diluted with an ice-water slurry (2 mL) and CH₂Cl₂ (2 mL). The aqueous layers were extracted with CH₂Cl₂ (3×5 mL) and the combined organics were washed with brine (5 mL), dried over Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure to afford 22 mg of **133** as a red oil that was engaged in the next step without any further purification.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.51 (s, 1H), 3.78 (s, 2H), 3.68 (s, 3H), 2.84 (s, 3H) ppm. **For the other isomer:** 6.46 (s, 1H), 3.77 (s, 2H), 3.67 (s, 3H), 2.83 (s, 3H) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ 176.6, 173.0, 152.3, 152.1, 147.2, 146.4, 144.7, 125.9, 53.1, 32.9, 20.1 ppm. **IR (film):** ν 3054, 2987, 1741, 1668, 1648, 1437, 1421, 1265 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** *m/z* 306 [(M+Na)⁺].

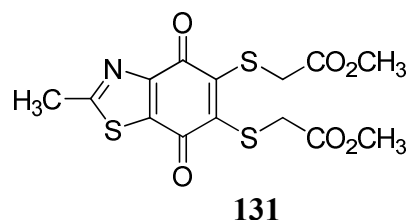
2-methyl-4,7-dihydroxy-5,6-di(1-methoxycarbonylmethylthio)benzo[d]thiazole



A solution of compound **133** (22 mg, 0.078 mmol) in 1.5 mL of 95% EtOH was added to a solution of methylthioglycolate (15 μL, 0.163 mmol) in 1.5 mL of 95% EtOH. The resulting solution was then refluxed for 1h. After cooling, the solution was diluted with water (5 mL) and CH₂Cl₂ (5 mL). The aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (3x5 mL) and the combined organic phases were washed with brine (10 mL), dried over Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure to afford 35 mg of the crude as a brown oil that was used in the next step without any purification.

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 171.7, 170.7, 169.0, 147.3, 146.6, 144.9, 126.8, 117.3, 115.2, 52.9, 39.2 ppm. IR (film): ν 3381, 2994, 2953, 2925 1731, 1516, 1434, 1403, 1300, 1170, 1004 cm^{-1} . MS (ESI $^+$): m/z 390 [(M+H) $^+$], 412 [(M+Na) $^+$].

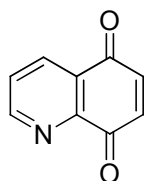
2-methyl-5,6-di(1-methoxycarbonylmethylthio)-4,7-benzo[d]thiazolequinone



To a stirred solution of **134** (35 mg, 0.09 mmol) in a 1:1 mixture of acetonitrile/water (500 μL) was added dropwise a solution of cerium ammonium nitrate (123 mg, 0.225 mmol) in acetonitrile/water (20:1, 960 μL). The mixture was stirred at room temperature for 30 minutes before dilution with an ice-water slurry (3 mL) and with CH_2Cl_2 (5 mL). The aqueous phase was extracted with CH_2Cl_2 (4 \times 5 mL) and the combined organics were washed with brine (5 mL), dried over Na_2SO_4 and evaporated under reduced pressure to afford the crude product a dark purple oil. Purification by column chromatography over silica gel (CH_2Cl_2 then $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 95:5) gave 20 mg of **131** as a violet oil (0.052 mmol, 46 % over four steps).

^1H NMR (400.13 MHz, CDCl_3) δ 4.04 (s, 2H), 3.97 (s, 2H), 3.71 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 2.81 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 173.7, 173.4, 173.3, 169.1, 169.0, 153.2, 145.3, 143.5, 140.0, 52.8, 52.7, 35.7, 35.6, 20.0 ppm. IR (film): ν 3053, 2986, 1739, 1671, 1422, 1265 cm^{-1} . MS (ESI $^+$): m/z 410 [(M+Na) $^+$]. HRMS (ESI $^+$) calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_6\text{NS}_3$ (M+H) $^+$: 387.99778, found: 387.99872. Elemental Anal. Calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{NO}_6\text{S}_3$: C, 43.40; H, 3.38, N, 3.62, found: C, 43.99; H, 3.68; N, 3.13.

Quinoline-5,8-dione



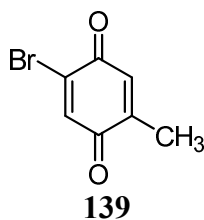
71

[CAS No. 10470-83-4]

To a solution of bis(trifluoroacetoxy)iodobenzene (2.5 g, 2.3 mmol) in a mixture of acetonitrile-water (6 mL, 2:1) at 4 $^\circ\text{C}$, was added **74** (290 mg, 2.0 mmol) in portions. The resulting mixture was stirred for at room temperature for 3 h or until all starting material had been consumed. After filtration of the insolubles fraction, water (10 mL) was added and the acetonitrile was evaporated under reduced pressure. The aqueous concentrate was extracted with methylene chloride (3 \times 10 mL) and the organic layers were thoroughly washed with water, dried over MgSO_4 and evaporated to give 283 mg (1.82 mmol) of **71** as crystals in 91% yield.

m.p.: 105 °C (dec.). **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ 9.00 (dd, 1H, *J* = 4.7, 1.7 Hz), 8.37 (dd, 1H, *J* = 8.0, 1.7 Hz), 7.64 (dd, 1H, *J* = 8.0, 4.7 Hz), 7.05 (ABq, 2H, *J* = 10.3 Hz) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 184.5, 183.1, 154.8, 147.4, 139.1, 138.0, 134.5, 129.1, 127.8 ppm. **IR (ATR):** ν 2970, 1668, 1578 cm⁻¹. **λ_{max} (EtOH):** 240.1 nm. **MS (DCI⁺):** 160.1 ([M+H]⁺). **Elemental Anal. calculated for C₉H₅NO₂:** C, 67.93; H, 3.17; N, 8.81, **found:** C, 67.96; H, 3.21; N, 8.69.

2-Bromo-5-methyl-1,4-benzoquinone

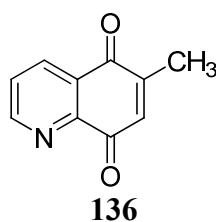


[CAS No. 13070-25-2]

To a stirred solution of 4-bromo-2,5-dimethoxytoluene⁹ **142** (300 mg, 1.30 mmol) in acetonitrile (6 mL) was added dropwise a solution of cerium ammonium nitrate (2.139 g, 2.90 mmol) in water (6 mL). After 30 minutes at room temperature, the mixture was extracted with CHCl₃ (3×10 mL) and the organic layer was washed with water (10 mL), dried over MgSO₄ and concentrated to afford 237 mg (1.18 mmol) of the title compound in 91% yield.

m.p.: 94-95 °C. **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 7.27 (s, 1H), 6.79 (q, 1H, *J* = 1.5 Hz), 2.07 (d, 3H, *J* = 1.5 Hz) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ 185.1, 179.4, 146.4, 138.1, 137.4, 132.5, 15.6 ppm. **IR (ATR):** ν 3039, 1646, 1626, 1585, 670 cm⁻¹. **MS (DCI):** 200.3, 2002.2 ([M]⁺). **Elemental Anal. calculated for C₇H₅BrO₂:** C, 41.83; H, 2.51, **found:** C, 41.91; H, 2.19.

6-Methylquinoline-5,8-dione



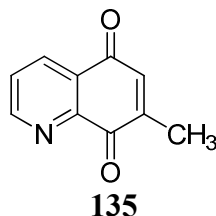
[CAS No. 18633-03-9]

To a solution of 60 mg (0.298 mmol) of 2-bromo-5-methyl-1,4-benzoquinone **139** in 2 mL of toluene, were added 30 mg (0.306 mmol) of acrolein *N,N*-dimethylhydrazone **138** and the reaction mixture was stirred at 80 °C for 4 h. After cooling and evaporation of the volatiles, the crude residue was purified by chromatography on silica gel (ethyl ether/ethanol 100:0 → 0:100) to give 5 mg of **136** in 10% yield.

⁹ Prepared according to the procedure described by Wagner, J. M. ; Mc Elhinny, C. J. ; Lewin, A. H.; Carroll, F. I. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 2119-2125.

m.p.: 141 °C (dec.). **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ 9.03 (dd, 1H, *J* = 4.7, 1.8 Hz), 8.39 (dd, 1H, *J* = 7.8, 1.8 Hz), 7.66 (dd, 1H, *J* = 7.8, 4.7 Hz), 6.92 (q, 1H, *J* = 1.5 Hz), 2.27 (d, 3H, *J* = 1.5 Hz) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ 184.2, 183.7, 154.5, 149.1, 147.8, 135.0, 134.3, 129.1, 127.5, 16.7 ppm. **IR (ATR):** ν 3061, 2924, 1676, 1660, 1575 cm⁻¹. **λ_{max} (EtOH):** 260.0, 240.1 nm. **MS (ESI⁺):** 173.9 ([M+H]⁺).

7-Methylquinoline-5,8-dione

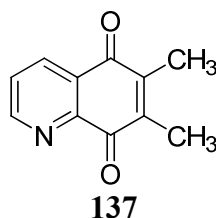


[CAS No. 872827-00-4]

This compound was prepared as described for the preparation of **136**. Starting from 101 mg (0.5 mmol) of 2-bromo-6-methyl-1,4-benzoquinone¹⁰ **140** and 49 mg (0.5 mmol) of acrolein dimethylhydrazone **138** to give 6 mg of **135** (0.03 mmol, 7% yield).

m.p.: 131 °C (dec.). **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ 9.02 (dd, 1H, *J* = 4.7, 1.7 Hz), 8.44 (dd, 1H, *J* = 7.9, 1.7 Hz), 7.67 (dd, 1H, *J* = 7.9, 4.7 Hz), 7.01 (m, 1H), 2.23 (d, 3H, *J* = 1.5 Hz) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 185.0, 183.3, 154.5, 147.8, 136.1, 134.6, 129.5, 127.5, 16.3 ppm. **MS (ESI⁺):** 173.9 ([M+H]⁺).

6,7-Dimethylquinoline-5,8-dione



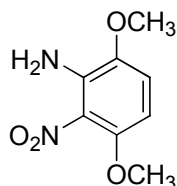
[CAS No. 56932-11-7]

This compound was prepared as described for the preparation of **136**. Starting from 109 mg (0.51 mmol) of 2-bromo-5,6-dimethyl-1,4-benzoquinone^{10b} and 195 mg (1.99 mmol) of acrolein dimethylhydrazone **138** to give 39 mg of **137** (0.21 mmol, 41% yield).

m.p.: 153 °C. **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 8.92 (dd, 1H, *J* = 4.5, 1.5 Hz), 8.33 (dd, 1H, *J* = 8.0, 1.5 Hz), 7.58 (dd, 1H, *J* = 8.0, 4.5 Hz), 2.18 (s, 3H), 2.14 (s, 3H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 184.1, 183.1, 154.1, 147.5, 144.4, 142.9, 134.2, 128.8, 127.2, 13.0, 12.7 ppm. **IR (ATR):** ν 3005, 1667, 1616, 1578 cm⁻¹. **MS (DCI⁺):** 189.4 ([M+H]⁺). **Elemental Anal. calculated for C₁₁H₉NO₂:** C, 70.58; H, 4.85; N, 7.49, **found:** C, 70.88; H, 4.85; N, 7.55.

¹⁰ Prepared in two steps according to the procedures described by: a) Gut, L.; Liu, C.; Xu, J.; King, T. E. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 3199-3210. b) Murphy, W. S.; Bertrand, M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1998**, 4115-4119.

3,6-Dimethoxy-2-nitroaniline



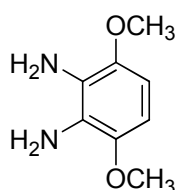
112

[CAS No. 26002-57-3]

Palladium (10%/C, 0.53 g) was added to a 9:1 mixture of 1,4-dimethoxy-2,3-dinitro-benzene **109** and its 2,5-dinitro isomer **110** (5.00 g, 21.90 mmol) dissolved in EtOAc (100 mL). The resulting mixture was stirred under hydrogen at atmospheric pressure and the course of the reaction was followed by tlc. When the starting materials were totally consumed, the mixture was filtered through a Celite Pad and the volatiles were evaporated to give a dark red residue. Purification of the crude by column chromatography on silica gel (pentane/ethyl acetate 4:1 → 1:1) gave **112** (3.372 g, 78%).

m.p.: 67-68 °C. **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ 6.74 (d, 1H, *J* = 8.9 Hz), 6.16 (d, 1H, *J* = 8.9 Hz), 5.35 (br s, 2H), 3.82 (s, 6H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 148.5, 141.5, 135.1, 127.4, 112.6, 98.2, 56.6, 56.4 ppm. **IR (ATR):** ν 3495, 3451, 2841, 1621, 1595, 1518, 1472, 1344 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** 198.9 ([M+H]⁺).

1,2-Diamino-3,6-dimethoxybenzene

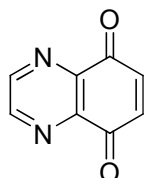


103

[CAS No. 40328-95-8]

To a solution of **112** (3.372 g, 17.01 mmol) in EtOAc (60 mL) were added 360 mg of Pd (10%/C) and the mixture was stirred under hydrogen at atmospheric pressure for 5 h. After filtration through a celite pad and evaporation of the volatiles, **103** was obtained as a cream-coloured solid (2.782 g, 16.5 mmol, 97%), which was used directly in the next step.

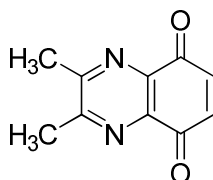
m.p.: 68-69 °C. **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ 6.31 (s, 2H), 3.81 (s, 6H), 3.50 (br s, 4H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 143.2, 124.6, 100.8, 56.0 ppm. **IR (ATR):** ν 3423, 3403, 3391, 2830, 1634, 1487 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** 168.9 ([M+H]⁺). **Elemental Anal. calculated. for C₈H₁₂N₂O₂:** C, 57.13; H, 7.20; N, 16.66 **found:** C, 57.24; H, 7.12; N, 16.79.

Quinoxaline-5,8-dione**85****[CAS No. 15250-38-1]**

To a solution of **103** (199 mg, 1.18 mmol) in ethanol (5 mL) was added glyoxal trimer dihydrate (92 mg, 0.44 mmol) and the mixture was heated at reflux for 30 min. The solvent was removed under reduced pressure to afford 239 mg (99% yield) of 5,8-dimethoxyquinoxaline **102** that was used in the next step without any further purification. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) 8.83 (s, 2H), 6.97 (s, 2H), 4.06 (s, 6H) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) 148.8, 143.9, 135.6, 107.5, 56.2 ppm.

The crude quinoxaline **102** obtained as above (1.18 mmol) was dissolved in 5 mL of an acetonitrile/water mixture (1:1) and a suspension of cerium ammonium nitrate (1.606 g, 2.99 mmol) in 11 mL of acetonitrile/water (20:1) was added portionwise. The resulting mixture was stirred at room temperature for 20 minutes and then it was diluted with 20 mL of an ice-water slurry and extracted with methylene chloride (3×20 mL). The organic layers were washed with water (20 mL), dried over MgSO_4 and the volatiles removed under reduced pressure to afford **85** as an orange solid (0.132 g, 70%), which was recrystallized twice from $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}$.

m.p.: 145-148 °C (dec.) $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 9.05 (s, 2H), 7.25 (s, 2H) ppm. $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 182.5, 149.0, 143.7, 138.7 ppm. **IR (ATR):** ν 1671 cm^{-1} . λ_{max} (EtOH) 275.0, 249.9, 215.0 nm. **MS (ESI⁺):** 161.3 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). **Elemental Anal. calculated for $\text{C}_8\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2$:** C, 60.01; H, 2.52; N, 17.50, **found:** C, 59.78; H, 2.55; N, 17.27.

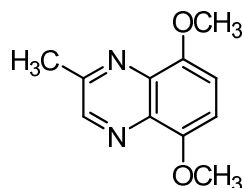
2,3-Dimethylquinoxaline-5,8-dione**146****[CAS No. 2768-63-0]**

This compound was prepared as described for the preparation of **85**. Starting from 1.00 g (5.94 mmol) of 1,2-diamino-3,6-dimethoxybenzene **103** and 600 μL (6.86 mmol) of freshly

distilled 2,3-butanedione to give 1.050 g (5.58 mmol) **146** as yellow solid. Purification by recrystallization from CH₂Cl₂/Et₂O gave 469 mg (2.49 mmol) of the title compound in 42% yield.

m.p.: 174-175 °C (dec.) **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ 7.13 (s, 2H), 2.79 (s, 6H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 183.4, 159.0, 141.1, 138.2, 23.0 ppm **IR (ATR):** ν 1671 cm⁻¹. **λ_{max} (EtOH)** 290.0, 255.0, 230.0 nm. **MS (DCI⁺):** 189.4 ([M+H]⁺). **Elemental Anal. calculated for C₁₀H₈N₂O₂:** C, 63.83; H, 4.29; N, 14.89, **found:** C, 63.96; H, 4.70; N, 14.50.

5,8-dimethoxy-2-methylquinoxaline



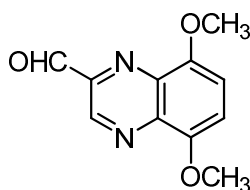
150

[CAS No. 303733-39-3]

Pyruvaldehyde (1.5 mL, 35%, 8.74 mmol) is added to a solution of Na₂S₂O₅ (1.781 g, 9.37 mmol) in water (3.6 mL) under argon. The resulting solution was added to a solution of 1,2-diamino-3,6-dimethoxybenzene **103** (1786 mg, 8.74 mmol) in 5 mL of a mixture of THF-water (1:1.3). After mixing, the reaction was heated at 60 °C for 3.5 h. The reaction was then cooled down and diluted with EtOAc (5 mL). The layers were separated and the aqueous phase was extracted with EtOAc (5x 10 mL). The organics were mixed, dried over Na₂SO₄ and evaporated to give 1.606 g (7.87 mmol) of **150** as a yellow solid in analytical purity and in 84% yield.

m.p.: 138.7 °C. **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 8.71 (s, 1H), 6.91 (ABq, 2H, *J* = 8.6 Hz), 3.99 (s, 6H), 2.77 (s, 3H). **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ 153.7, 149.4, 148.6, 145.4, 135.4, 134.2, 108.0, 106.8, 56.5, 56.4, 23.3. **IR (KBr):** ν 2957, 2834, 1610, 1566, 1490, 1460, 1440, 1368, 1300, 1265, 1109, 1096, 815 cm⁻¹. **Elemental Anal. calculated for C₁₁H₁₂N₂O₂:** C, 64.69; H, 5.92; N, 13.72, **found:** C, 64.50; H, 5.79; N, 13.37.

5,8-dimethoxyquinoxaline-2-carbaldehyde



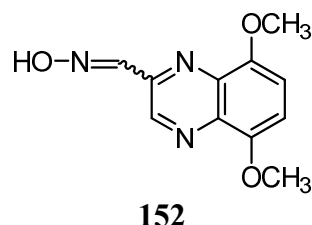
151

The title compound was prepared according to the procedure of Goto et al¹¹ starting from 104 mgs (0.509 mmol) of **150** and 130 mgs (1.171 mmol) of SeO₂ to give the desired product in analytical quality and quantitative yield.

¹¹ Tagawa, Y.; Yamashita, K.; Higuchi, Y.; Goto, Y. *Heterocycles* **2003**, *60*, 953-957.

m.p.: 169.8 °C. **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)** δ 10.32 (s, 1 H), 9.39 (s, 1H), 7.13 (ABq, 2H, *J* = 8.7 Hz), 4.08 (s, 3H), 4.05 (s, 3H). **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 192.5, 149.4, 148.8, 144.7, 141.3, 136.7, 134.5, 110.9, 108.6, 56.5, 56.4. **IR (KBr):** ν 3003, 2938, 2829, 1694, 1606, 1483, 1267, 1240, 1099 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** 219 ([M+H]⁺), 241 ([M+Na]⁺). **HRMS (ESI⁺) calculated for C₁₁H₁₀N₂O₃Na (M+Na)⁺:** 241.05836, **found:** 241.05845.

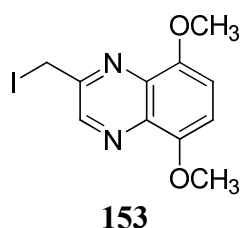
5,8-dimethoxyquinoxaline-2-carbaldehyde oxime



A solution of NH₂OH (9 μL, 50%, 0.141 mmol) was added to **151** (28 mg, 0.128 mmol) dissolved in 500 μL of EtOH. The resulting mixture was brought to reflux and stirred for 30 minutes. After cooling, the volatiles were evaporated under reduced pressure to give 28 mg (0.120 mmol) of the title compound in analytical purity and in 94% yield.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 12.26 (s, 1 H), 9.27 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 7.22 (br s, 2H), 3.96 (s, 3H), 3.95 (s, 3H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 148.5, 148.4, 147.7, 146.2, 141.1, 133.8, 133.7, 109.4, 109.3, 56.1, 55.9 ppm. **IR (KBr):** ν 3582, 2918, 1603, 1435, 1315, 1260, 1098, 1012 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** 234 ([M+H]⁺), 256 ([M+Na]⁺). **HRMS (ESI⁺) calculated for C₁₁H₁₁N₃O₃Na (M+Na)⁺:** 256.06926, **found:** 256.06922.

2-(iodomethyl)-5,8-dimethoxyquinoxaline

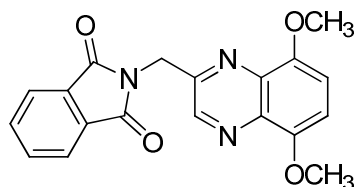


A solution of **150** (183 mg, 0.896 mmol) in THF (3 mL) and under Ar, is cooled to -5 °C before the addition of a solution of sodium bis(trimethylsilyl)amide (560 μL, 2M) in THF. The resulting dark purple solution was stirred at -5 °C for 30 minutes and then it was let to warm up to room temperature before the addition of 5 mL a THF solution of iodine (280 mgs, 1.10 mmol).

The reaction was stirred at room temperature overnight then it was quenched by the addition of a saturated solution of NH₄Cl (5 mL) and 10 mL of ethyl ether. The layers were separated, and the colored organic phase was washed with 10% NaHSO₃ solution (2x5 mL), with water (5 mL), with brine (5 mL) and dried over MgSO₄. The volatiles were evaporated and the crude was used in the next step without any further purification.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.68 (s, 1H), 6.83 (ABq, 2H, *J* = 8.7 Hz), 3.91 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.54 (s, 2H). **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ 155.0, 149.1, 148.7, 144.8, 135.0, 134.1, 108.0, 106.8, 56.5, 56.2, 35.2 ppm.

***N*-((5,8-dimethoxyquinoxalin-2-yl)methyl)phthalimide**

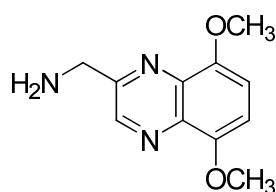


154

To a solution of **153** (30 mg, 0.091 mmol) in 5 mL of DMF were added 17 mg (0.092 mmol) of phthalimide potassium salt and the resulting mixture was stirred at room temperature for 4 days and then at 50 °C for 2 days. The reaction mixture was then diluted with water (5 mL) and CH₂Cl₂ (10 mL). The layers were separated and the organic phase was washed with a 5% solution of LiCl (2x5 mL), water (5 mL) and it was dried over MgSO₄. After evaporation of volatiles under reduced pressure, 32 mg of **154** were obtained as a yellow solid in quantitative yield. This product was used in the next step without any further purification.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.76 (s, 1H), 7.79-7.78 (m, 2H), 7.66-7.63 (m, 2H), 6.91 (ABq, 2H, *J* = 8.4 Hz), 3.98 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.62 (s, 2H) ppm. **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)** δ 166.9, 162.6, 155.0, 153.2, 149.1, 148.7, 144.9, 135.0, 134.2, 131.7, 108.1, 106.7, 56.5, 56.2, 35.2 ppm.

2-aminomethyl-5,8-dimethoxyquinoxaline

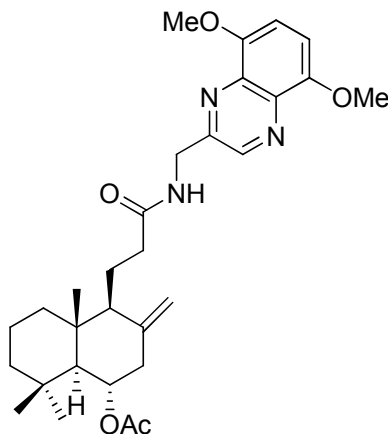


149

To a solution of **154** (32 mg, 0.091 mmol) in a THF-MeOH (15 mL, 2:1) was added NaOH (5 mL, 1 N, 5 mmol) and the resulting mixture was stirred at room temperature until total consumption of the starting materials.

The reaction was treated by diluting with methylene chloride (10 mL) and the organic phase was dried over MgSO₄ and evaporated to give a yellow amorphous solid that was purified by column chromatography using silica gel (CH₂Cl₂/EtOAc 1:1 then EtOAc) to give 7 mgs (0.032 mmol) of pure **149** in 35% yield.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.83 (s, 1H), 6.98 (ABq, 2H, *J* = 8.6 Hz), 4.05 (s, 3H), 4.03 (s, 3H), 3.69 (s, 2H), 3.49 (br s, 2H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 155.0, 145.1, 148.7, 144.8, 135.0, 134.1, 108.0, 106.8, 56.5, 56.2, 35.2 ppm. **IR (KBr):** ν 3441, 3019, 2999, 2937, 2897, 2829, 1610, 1560, 1493, 1483, 1267, 1172, 1142, 1105, 977 cm⁻¹. **MS (ESI⁺):** 220 ([M+H]⁺).

(1*S*,4*S*,4*aR*)-4-(3-((5,8-dimethoxyquinoxalin-2-yl)methylamino)-3-oxopropyl)-4*a*,8,8-trimethyl-3-methylenedecahydronaphthalen-1-yl acetate**155**

In a 10 mL flask containing 3 mL of dry methylene chloride, were dissolved 25 mg (0.114 mmol) of **149**, 34 mg (0.114 mmol) of EDC, 1.4 mg (0.011 mmol) of DMAP, and 37 mg (0.114 mmol) of **36**. The resulting mixture was stirred at room temperature for 24 hours before being diluted with water (5 mL). The layers were separated and the organic phase was washed with water (2x5 mL), with brine (5 mL), dried over MgSO₄. Evaporation of the volatiles gave 60 mg (0.114 mmol) of **155** in analytical quality and in quantitative yield.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.82 (s, 1H), 6.96 (ABq, 2H, *J* = 8.7 Hz), 5.01 (td, 1H, *J* = 11.0, 5.2 Hz), 4.93 (s, 1H), 4.59 (s, 1H), 4.02 (s, 3H), 4.00 (s, 3H), 3.67 (s, 2H), 2.67 (dd, 1H, *J* = 11.0, 5.2 Hz), 2.54-2.45 (m, 1H), 2.26-2.14 (m, 1H), 2.02 (s, 3H), 1.96-1.87 (m, 3H), 1.47-1.05 (m, 9H), 0.99 (s, 3H), 0.84 (s, 3H), 0.73 (s, 3H) ppm. **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)** δ 170.0, 155.0, 149.0, 148.6, 148.2, 144.7, 143.6, 134.9, 133.9, 109.4, 107.9, 106.8, 73.0, 57.3, 56.4, 56.1, 55.1, 43.9, 43.3, 39.6, 38.9, 36.5, 36.0, 35.1, 33.4, 22.3, 21.8, 19.1, 18.8, 15.8 ppm.

Annexes

Annexe 1

Récapitulatif des principales structures des molécules

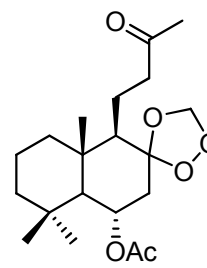
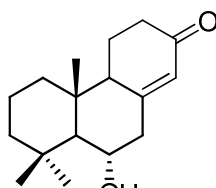
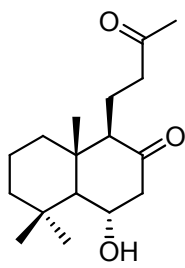
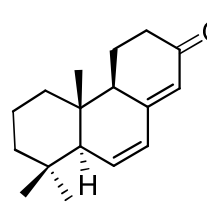
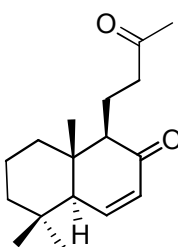
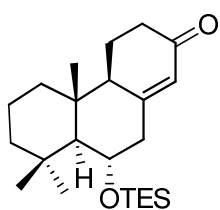
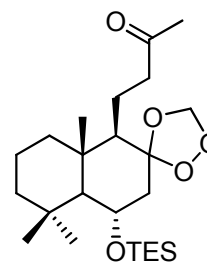
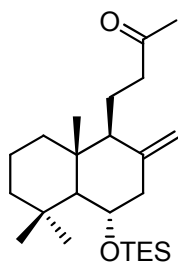
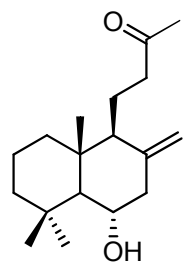
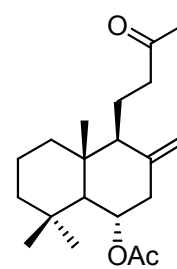
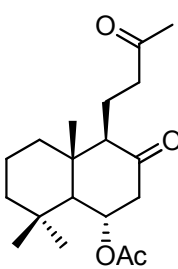
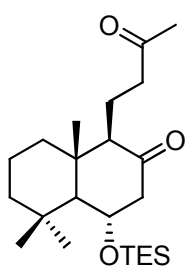
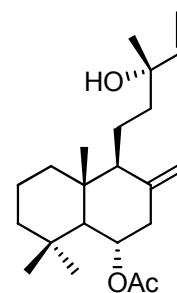
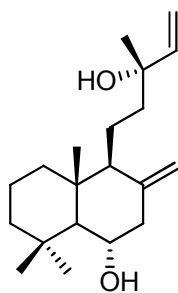
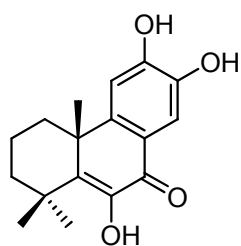
Annexe 2

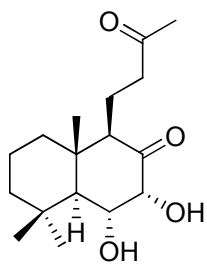
Le chapitre 3 a fait l'objet de deux publications :

The aza-analogues of 1,4-naphthoquinones are potent substrates and inhibitors of plasmodial thioredoxin and glutathione reductases and of human erythrocyte glutathione reductase. Christophe Morin, Tatiana Besset, Jean-Claude Moutet, Martine Fayolle, Margit Brückner, Danièle Limosin, Katja Becker and Elisabeth Davioud-Charvet *Org. Biomol. Chem.* **2008**, 6, 2731-2742.

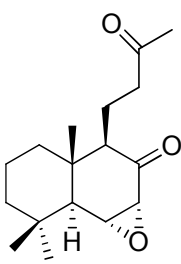
Synthesis of 3,6-Dimethoxybenzene-1,2-diamine and of 4,7-Dimethoxy-2-methyl-1H-benzimidazole. Tatiana Besset, Christophe Morin *Synthesis* **2009**, 1753-1756.

Structures des molécules du chapitre 2

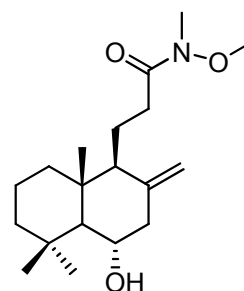




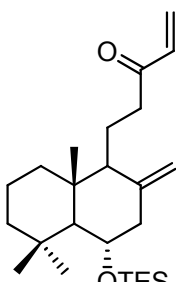
30



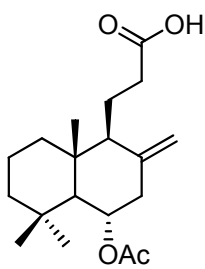
31



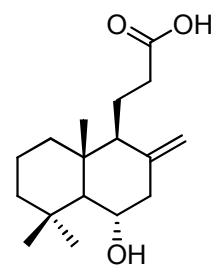
38



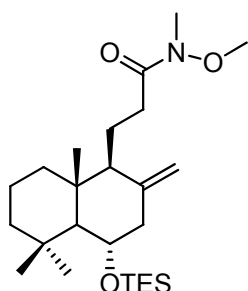
19



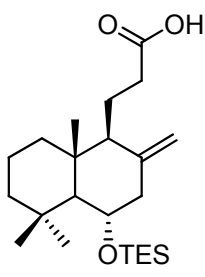
36



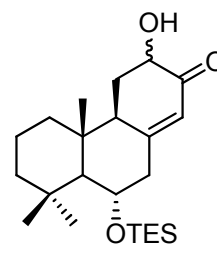
37



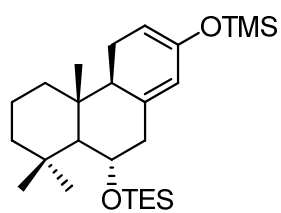
39



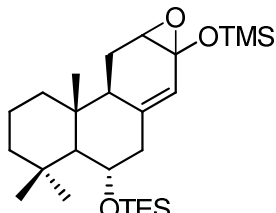
40



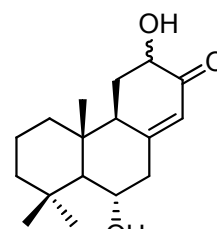
41



47

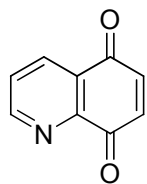


48

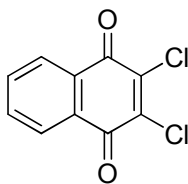


49

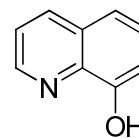
Structures des molécules du chapitre 3



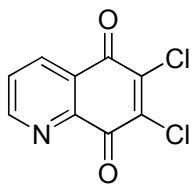
71



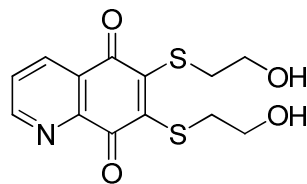
73



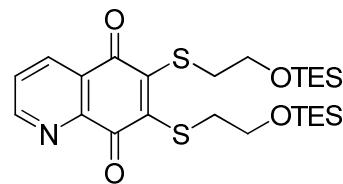
74



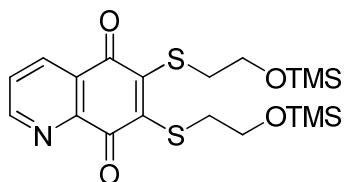
75



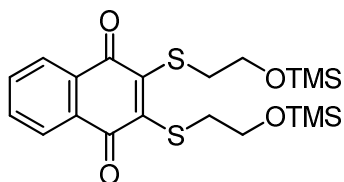
76



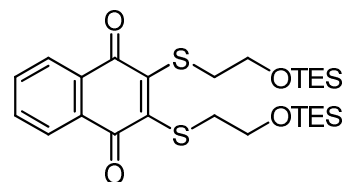
77



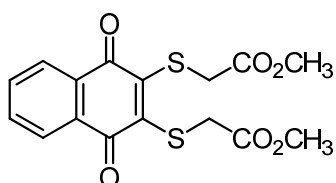
78



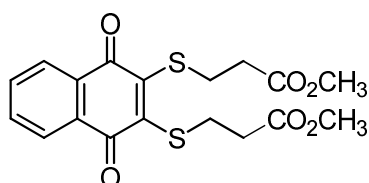
79



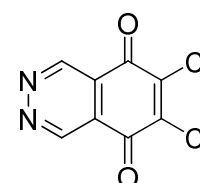
80



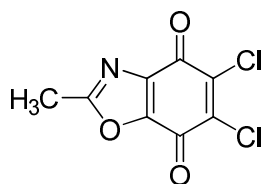
81



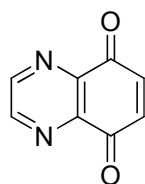
82



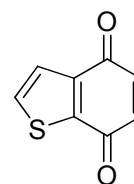
83



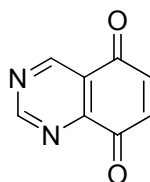
84



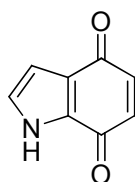
85



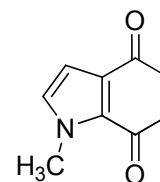
86



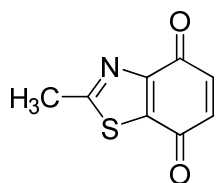
87



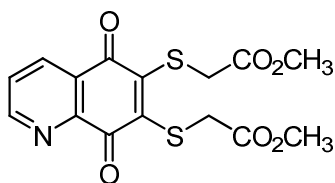
88



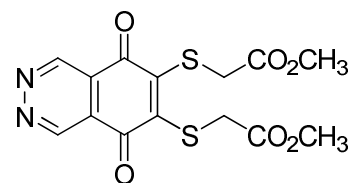
89



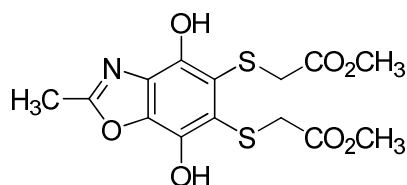
90



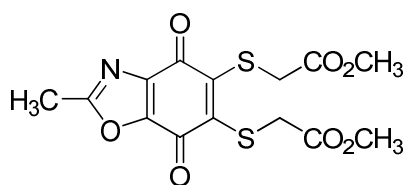
93



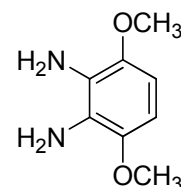
98



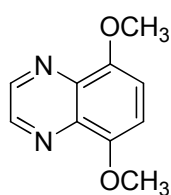
100



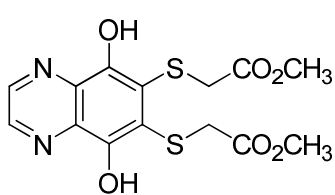
101



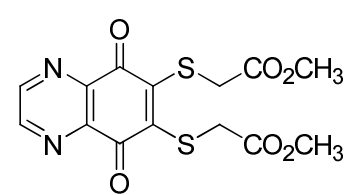
103



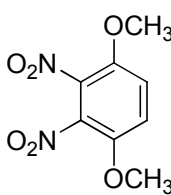
102



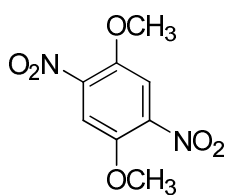
108



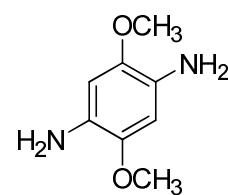
107



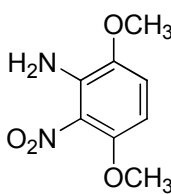
109



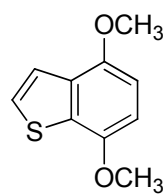
110



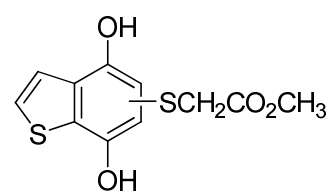
111



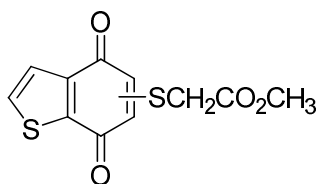
112



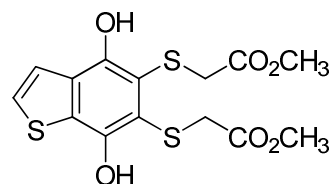
113



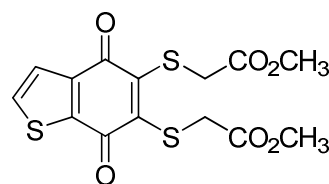
115



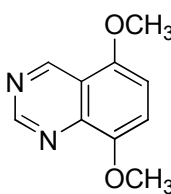
116



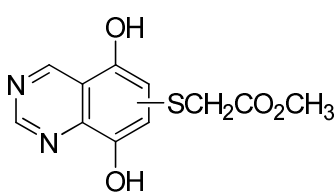
117



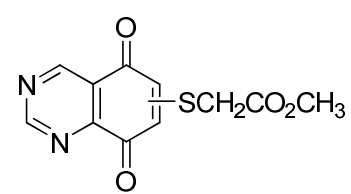
118



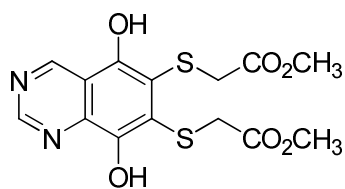
119



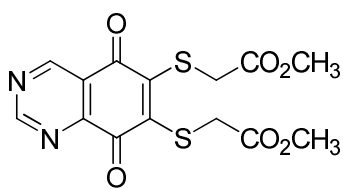
123



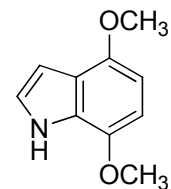
124



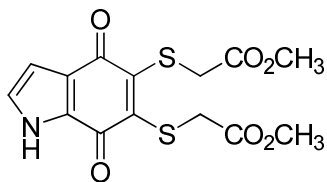
125



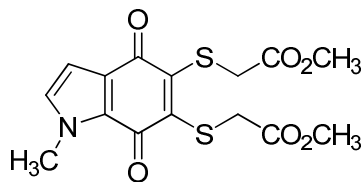
126



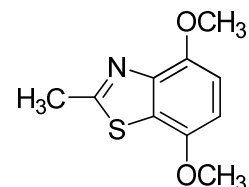
127



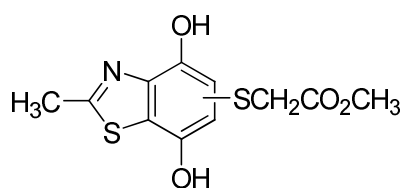
128



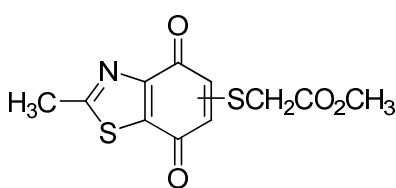
129



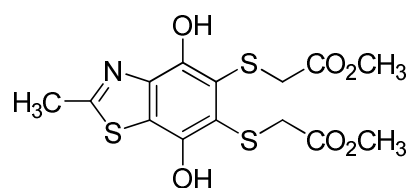
130



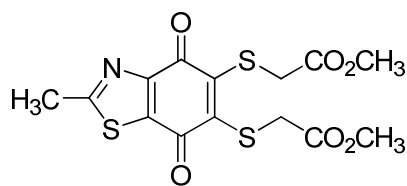
132



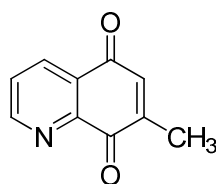
133



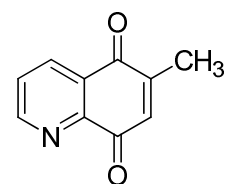
134



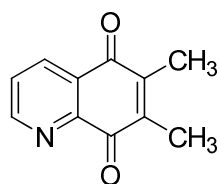
131



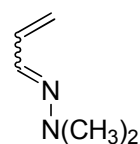
135



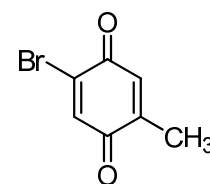
136



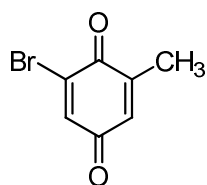
137



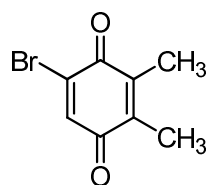
138



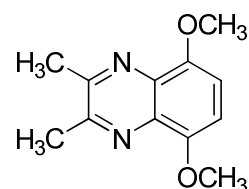
139



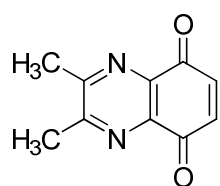
140



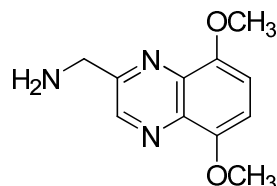
141



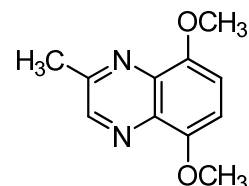
145



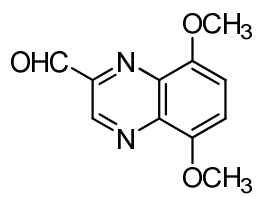
146



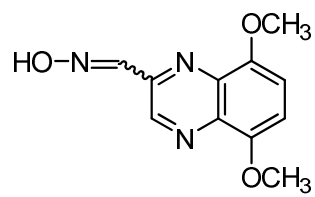
149



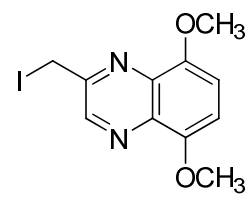
150



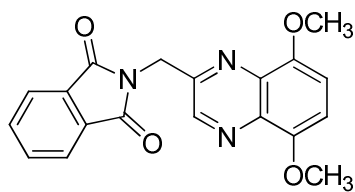
151



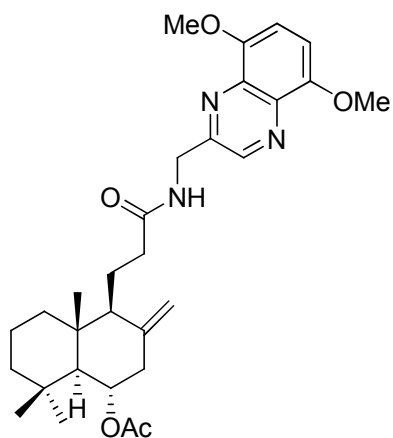
152



153



154



155

The aza-analogues of 1,4-naphthoquinones are potent substrates and inhibitors of plasmodial thioredoxin and glutathione reductases and of human erythrocyte glutathione reductase†

Christophe Morin,^a Tatiana Besset,^a Jean-Claude Moutet,^a Martine Fayolle,^a Margit Brückner,^b Danièle Limosin,^a Katja Becker^c and Elisabeth Davioud-Charvet^{*‡b,d}

Received 15th February 2008, Accepted 18th April 2008

First published as an Advance Article on the web 30th May 2008

DOI: 10.1039/b802649c

Various aza-analogues of 1,4-naphthoquinone and menadione were prepared and tested as inhibitors and substrates of the plasmodial thioredoxin and glutathione reductases as well as the human glutathione reductase. The replacement of one to two carbons at the phenyl ring of the 1,4-naphthoquinone core by one to two nitrogen atoms led to an increased oxidant character of the molecules in accordance with both the redox potential values and the substrate efficiencies. Compared to the 1,4-naphthoquinone and menadione, the quinoline-5,8-dione **1** and both quinoxaline-5,8-diones **5** and **6** behaved as the most efficient subversive substrates of the three NADPH-dependent disulfide reductases tested. Modulation of these parameters was observed by alkylation of the aza-naphthoquinone core.

Introduction

Tropical malaria is caused by the apicomplexan parasite *Plasmodium falciparum*,¹ which invades and multiplies in red blood cells. Red cell lysis releases fresh merozoites into the blood stream every two days and leads to the fever characterizing malaria. Each year, an estimated number of three million deaths due to malaria and up to 500 million episodes of clinical illness occur worldwide. Africa has more than 90% of this burden.² The rapid development of resistance to clinically available drugs leads to the urgent call for the identification of effective and affordable alternative antimalarial regimens.^{3–5}

The detoxification of reactive oxygen and nitrogen species (ROS and RNS) is a challenge for erythrocytes infected with *Plasmodium*. Like many tumor cells, malarial parasites grow and multiply rapidly, have a high metabolic rate producing oxidative by-products, are under oxidative attack by the host immune system, and have to detoxify large quantities of redox-active heme.⁶ Redox metabolism has thus become an attractive target for antimalarial drug development.^{7,8}

The two major antioxidant defense lines in *Plasmodium* are provided by the glutathione and the thioredoxin system.^{1,9,10} Both systems are NADPH dependent and are driven by homodimeric

FAD-dependent oxido-reductases, namely glutathione reductase (GR, *E. C. 1.8.1.7*) and thioredoxin reductase (TrxR, *E. C. 1.6.4.5*). Glutathione reductase reduces glutathione disulfide into glutathione. Both glutathione reductases from the human erythrocyte and from the malarial parasite were identified as targets of antimalarial drugs.^{11,12} Also, Mediterranean populations with genetic glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency provide a natural biomimetic knock-out version of human GR because the enzyme is the main provider of NADPH for GR in the erythrocyte. The deficiency is not lethal for humans but prevents a severe attack of malaria since the oxidative stress released in the red blood cells makes a milieu hostile for *Plasmodium*. Consequently, a rapid elimination of these cells from the circulation occurs by enhanced phagocytosis *via* complement activation.¹³ GR is inhibited by numerous redox-cyclers including 1,4-naphthoquinones,^{14–16} phenothiazinium derivatives,^{17,18} and nitroaromatics.¹⁹ Methylene blue, a potent GR turncoat inhibitor or subversive substrate,¹⁷ was the first synthetic antimalarial drug used in human medicine at the beginning of the 20th century but was abandoned with the launch of chloroquine in the 1940s.²⁰ Turncoat inhibitors or subversive substrates of disulfide reductases are known to inhibit the physiological reaction while being used as substrates.²¹ In the presence of oxygen, the reduced drug is reoxidized following one- or two-electron transfer reactions, leading to both a steady flux of reactive oxygen species and a waste of the NADPH pool in the cells. Hence, the disulfide reductase activity of these antioxidant enzymes is transformed into a prooxidant activity under the efficient catalysis of the subversive substrates. Recently, the GR-catalysed 1,4-naphthoquinone reduction was shown to occur at the flavin of a reduced enzymic species of *Plasmodium falciparum* GR.¹⁶

TrxR reduces the small protein thioredoxin (Trx) which is present in the parasite in different isoforms involved in redox regulation, peroxidase activity and ribonucleotide reduction.²² The fact that catalase (detoxifying hydrogen peroxide) and glutathione

^aUniversité Joseph Fourier, Département de Chimie Moléculaire, CNRS UMR-5250, ICMG FR-2607, BP-53, 38041, Grenoble Cedex 9, France

^bBiochemie-Zentrum der Universität Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 504, D-69120, Heidelberg, Germany. E-mail: elisabeth.davioud@gmx.de; Fax: +49-6221-54-5586

^cInterdisciplinary Research Center, Justus Liebig University, Heinrich-Buff-Ring 26-32, 35392, Giessen, Germany

^dCentre National de la Recherche Scientifique, Paris, France

† Electronic supplementary information (ESI) available: ¹H and ¹³C NMR spectra of compounds **1** to **6**. See DOI: 10.1039/b802649c

‡ Delegate (E.D.C.) of Centre National de la Recherche Scientifique, France in the frame of a French–German cooperation with Heidelberg University, Germany.

peroxidase (reducing peroxides glutathione-dependently) are absent in the parasite suggests that the thioredoxin system plays a prominent role in *P. falciparum*. This hypothesis is supported by PfTrxR knock-out studies, proving that this enzyme is essential for erythrocytic stages of the parasite.²³ In comparison with GR, TrxR possesses an additional redox center which is located on a flexible C-terminal arm. PfTrxR has been mechanistically studied in detail including the different steps of electron transfer and the function of the active site residues.^{10,24,25} The fact that PfTrxR is not selenium-dependent and differs in its C-terminal active site motif (CGGGKC) from human TrxR (Cys-Sec) represents a specific starting point for the development of antiparasitic drugs. Several lines of drug development are presently being followed.^{7,10,24,26} A high-throughput screening of 350 000 compounds identified Mannich bases^{27,28} and nitroaromatics²⁹ as new classes of TrxR mechanism-based inhibitors or subversive substrates. Optimization of subversive substrates as catalytic inhibitors is a promising strategy to catalytically affect the reducing milieu of target cells and to observe specific cell responses. In order to increase the rate of the electron bypass at the reduced flavin of disulfide reductases, the design of new 1,4-naphthoquinones with increased oxidant character and affinity is essential.

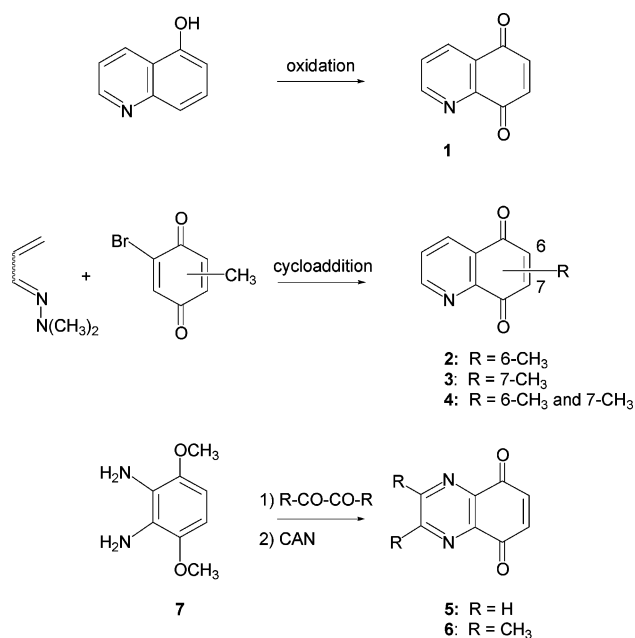
Among all synthetic 1,4-naphthoquinones developed as antimalarial drugs so far, only atovaquone was launched on the market. Hydroxy-naphthoquinones are competitive inhibitors of the cytochrome bc₁ complex that bind to the ubiquinol oxidation site between cytochrome b and the iron-sulfur protein and presumably mimic a transition state in the ubiquinol oxidation reaction catalyzed by the enzyme.³⁰ As mentioned earlier,³¹ only quinones, e.g. menadiene, of the appropriate redox potentials are likely to be toxic to red cells by affecting the redox equilibrium. Atovaquone, which has a higher redox potential, has no effect on disulfide reductases (data not shown). To optimize the antimalarial hydroxy-naphthoquinones, some hydroxy-5,8-quinolinediones were also synthesized as atovaquone analogues.³² Also, a direct link had been earlier evidenced between the selective guanylate cyclase inhibitor 6-anilino-5,8-quinolinedione (LY83583) and the GSSG increase resulting from GR-catalysed reduction of the compound, but no optimization based on structure-GR inhibition relationships was further developed.³³

Here, we describe the aza-analogues of 1,4-naphthoquinones as potent substrates and inhibitors of disulfide reductases, particularly of *P. falciparum* TrxR. The reactivity of quinoline-5,8-diones and quinoxaline-5,8-diones was compared to that of 1,4-naphthoquinones to examine the effect of nitrogen of the heterocycle on redox potentials, and both inhibitory capabilities and substrate efficiencies in three disulfide reductase assays.

Results and discussion

Chemistry

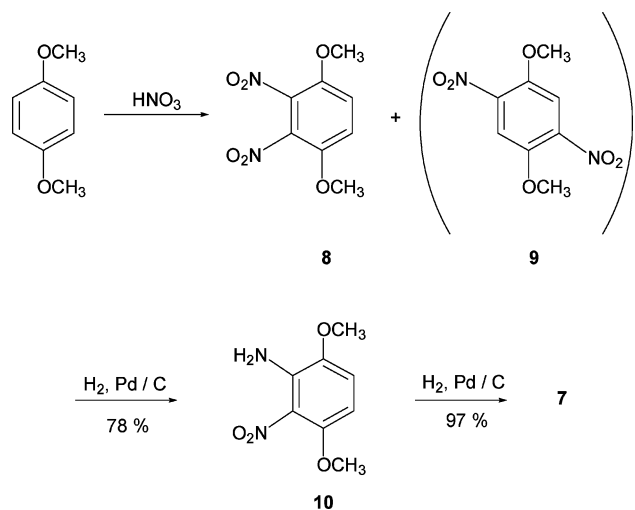
Quinolinediones and quinoxalinediones **1–6** are described compounds, and known approaches for the chemical preparations were applied here with slight modifications and by taking into account the availability of the starting materials (Scheme 1). For example, quinolinedione **1** can be derived from the commercially available 8-hydroxyquinoline following oxidation with potassium nitrosodisulfonate^{34,35} or with oxygen,^{36,37} but we found



Scheme 1 Routes to 5,8-quinolinediones and 5,8-quinoxalinediones.

it more convenient to use bis(trifluoroacetoxy)iodobenzene as the oxidizing reagent.³⁸ The methyl-substituted analogues, **2**,³⁹ **3**,^{40,41} and **4**,⁴² which were previously prepared from oxidation of aminoquinoline derivatives, were obtained here by cycloadditions of an 1-azadiene⁴³ with bromo-quinone partners; indeed, although 1-azadienes are not that reactive—for a discussion of relevant factors see ref. 44—the cycloaddition of acroleine-*N,N*-dimethylhydrazone⁴⁵ proceeded with 5-methyl-,^{46,47} 6-methyl,^{48,49} and 5,6-dimethyl-⁵⁰ 2-bromobenzoquinones to produce the desired quinones (**2** and **3** < 10%; **4**, 40%).

Quinoxalinediones **5**^{51,52} and **6**^{51,52} could be obtained *via* a Hinsberg reaction of *ortho*-diamine **7** with glyoxal or biacetyl respectively, which was followed by ceric ammonium nitrate (CAN) oxidation (Scheme 1). While several procedures have been recently devised to ease the isolation of diamine **7** in the pure state^{51,53,54} from the reduction of a mixture of *ortho* and *para* dinitro isomers (**8/9**) (Scheme 2), it was found advantageous to perform



Scheme 2 Obtention of *ortho*-diamine **7**.

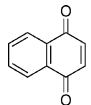
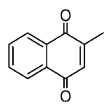
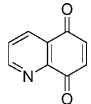
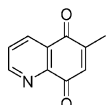
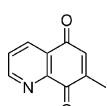
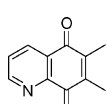
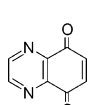
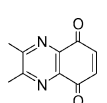
a step-by-step reduction⁵⁵ since the *ortho* amino nitro **10** could be easily isolated in good yield by mere filtration on a short column of silica gel; such a stepwise procedure avoids the separation of **8** and **9** or of the corresponding diamines (it is noteworthy to mention that the preparation of the synthetically-useful building-block **10**^{56,57} previously derived in 5 steps from 2,5-dihydroxybenzoic acid⁵⁸ is here significantly improved). Then, condensation of **7** with glyoxal or diacetyl followed by CAN oxidation (Scheme 1) afforded **5** and **6** in pure state (68% and 85% overall yield, respectively).

Electrochemistry

The reduction of aza-analogues of 1,4-naphthoquinone and menadione has been studied using cyclic voltammetry in organic and aqueous electrolytes. In agreement with a previous study,⁵⁹ it appears that the quinoline-5,8-dione is easier to reduce to its radical anion form than the 1,4-naphthoquinone, ($E_{1/2} = -0.57$ and -0.66 versus SCE in DMF electrolyte, respectively). It is also known that the quinoxaline-5,8-dione is reduced at a more positive potential than the 5,8-quinolinedione in organic electrolytes.⁵⁹ In addition, $E_{1/2}$ values for the reversible one-electron reduction of quinolinediones, recorded in DMF as solvent, provide data on their relative ease of reduction according to the substitution by methyl groups at the 6 and 7 positions. The reduction potential for the quinoline-5,8-dione ($E_{1/2} = -0.57$ versus SCE) is in good agreement with that already found in the same electrolyte ($E_{1/2} = -0.62$ versus Ag/AgCl).⁵⁹ Not surprisingly, the quinolinediones are increasingly difficult to reduce when they are substituted with one ($E_{1/2} = -0.63$ to -0.64 V versus SCE) and two ($E_{1/2} = -0.72$ versus SCE) electron-donating methyl groups. Little variation of the $E_{1/2}$ value ($\Delta E = 10$ mV) is observed when the aza-naphthoquinone is substituted with a methyl group at the 7 position instead of at the 6 position.

It is well known that reduction of quinones in aqueous electrolytes consumes two electrons and two protons to form the corresponding hydroquinones and that the reduction potential is pH-dependent.⁶⁰ It has been established that the quinolinediones present a similar reduction behavior.⁶¹ For the quinoxalinediones, the reduction occurs in a two-step process since the reduction of the quinone moiety is followed at a more negative potential than the value observed for the reduction of the quinoxaline moiety.⁶² The reduction of 1,4-naphthoquinone, menadione, and different aza-analogues of naphthoquinone has been studied under physiological conditions in phosphate buffer at pH 7. The cyclic voltammetry data are summarized in Table 1. The reduction peak potential values follow the same trends as the half-wave potentials measured in organic electrolytes. As a matter of fact, the absence of an electron-donating methyl group in the 1,4-naphthoquinone makes it easier to reduce than the menadione. Moreover, the mono-substituted quinoline-5,8-diones **2** and **3**, at the 6 or 7 positions by methyl groups, are easier to reduce than menadione itself; the absence of an electron-donating methyl group in the quinolinedione **1** makes it much easier to reduce but the presence of two methyl groups in the di-substituted quinoline-5,8-dione **4** affects the redox potential to more negative values. As expected, the quinoxalinedione **5** presents the more oxidant character, while its 2,3-dimethyl derivative **6** appears slightly more difficult to reduce. A similar trend was observed for the reduction of aza-anthraquinones in DMF, where the 1,4,5,6-

Table 1 Cyclic voltammetry data^a for reduction of the quinones^b in phosphate buffer (pH 7)

Quinone	Structure	E_{pc} (V versus SCE)	E_{pc} (V versus MV ²⁺ /MV ^{•+}) ^c
1,4-NQ		-259	0.464
Menadione		-0.335	0.388
1		-0.218	0.505
2		-0.279	0.444
3		-0.282	0.441
4		-0.317	0.406
5		-0.163	0.560
6		-0.211	0.512

^a E_{pc} is the reduction peak potential; scan rate 100 mV s⁻¹. ^b Potential of the quinone/hydroquinone redox system. ^c Measured versus the MV/MV^{•+} redox couple used as an internal reference. Under the same conditions, methylene blue, plumbagin, and naphthazarin exhibited reduction potential values of -0.23 and 0.49, -0.320 and 0.403, and -0.330 and 0.393, respectively.

tetraazaanthra-9,10-quinone appeared easier to reduce than its 2,3,6,7-tetramethyl derivative.⁵⁹ Noteworthy is that recent studies on humanNAD(P)H:quinone oxidoreductase, identified as a two-electron reductase upregulated in tumour cells, was shown to be inhibited by heterocyclic quinones with increased oxidant character and acting as excellent substrates of this flavoenzyme.^{63,64}

Enzyme studies

Inhibition of human and *P. falciparum* glutathione reductases (hGR, PfGR) and *P. falciparum* thioredoxin reductase (PfTrxR) by the aza-naphthoquinones was followed under steady-state conditions. As previously observed,¹⁶ inhibition of disulfide reductases depends on both the redox potentials and the structural features

governing recognition by the enzyme. Following the determination of the redox potentials of the mono- and diaza-naphthoquinones by cyclic voltammetry, we evaluated the influence of the nitrogen atom(s) at the naphthoquinone core on the inhibitory potencies. In all enzyme assays, the activity was directly measured in the presence of different concentrations of the inhibitor at a fixed substrate concentration (1 mM GSSG and 26 μM Trx(S)₂ in GR and TrxR assays, respectively). The inhibitor concentrations causing 50% inhibition are given in Table 2 and compared to the values of menadione and 1,4-naphthoquinone (**1,4-NQ**). In GR assays, as previously discussed, the high GSSG concentration is used in order to select the most effective inhibitors (IC_{50} values $\leq 10 \mu\text{M}$) by comparison with menadione (IC_{50} values =

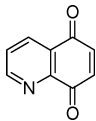
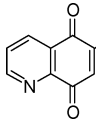
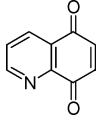
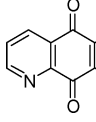
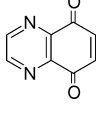
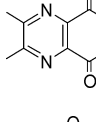
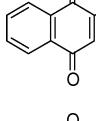

42 μM and 27.5 μM in PfGR and hGR assays, respectively) and 1,4-naphthoquinone (IC_{50} values = 2.2 μM and 1.3 μM in PfGR and hGR assays, respectively). In TrxR assays, low IC_{50} values for menadione and 1,4-naphthoquinone were obtained (IC_{50} values = 1.6 and 0.75 μM , respectively). Under these conditions, all three FAD-disulfide oxidoreductases are inhibited by aza-naphthoquinones with different specificities. While the 1,4-naphthoquinone is the most potent inhibitor of all disulfide reductases, the quinolinedione **1**, and both quinoxalinediones **5** and **6**, behaved as the most specific TrxR inhibitors with a similar (even slightly increased) inhibition profile as shown by menadione. Among the three aza-analogues, the quinoxalinedione **5** is as active as the 1,4-naphthoquinone (IC_{50} values = 0.8 μM). The three compounds are poor GR inhibitors with IC_{50} values higher or in the same range as the values shown by menadione. Regarding the GR assays, the aza-analogue of menadione, the quinolinedione **2**, is the most potent GR inhibitor with the lowest IC_{50} values determined in this study.

In order to investigate the inhibition of *P. falciparum* TrxR at varying Trx concentrations (6–244 μM), kinetics were performed with saturating NADPH (100 μM) and GSSG (1 mM) concentrations in the presence of potent (aza)-naphthoquinones, **1,4-NQ** (Fig. 1, panels A,B) or **6** (Fig. 1, panels C,D). Both Cornish–Bowden plots (panels A,C, Fig. 1) and Lineweaver–Burk plots (panels B,D, Fig. 1) for **1,4-NQ** and **6** were consistent with competitive inhibition (eqn (1) in the experimental part). From secondary plots (insets from panels B,D) expressing $1 + [\text{I}]/K_i$ as a linear function of inhibitor concentration, the K_i values for **1,4-NQ** and **6** were determined as $0.20 \pm 0.01 \mu\text{M}$ and $0.49 \pm 0.02 \mu\text{M}$, respectively. This result is similar to the recent determination of the inhibition type found for 9,10-phenanthrene quinone and rat TrxR.⁶⁵ Using DTNB as the disulfide substrate, 9,10-phenanthrene quinone was found to be competitive with a K_i value of 6.3 μM .

In the assays in the absence of the physiological disulfide, the enzyme-catalysed quinone reductase activity was determined following NADPH oxidation at varying quinone concentrations. The same three aza-naphthoquinones, the quinolinedione **1**, and both quinoxalinediones **5** and **6**, behaved as the most efficient TrxR substrates with catalytic efficiencies, as shown by the k_{cat}/K_m values (Table 3), higher than those of menadione. This observation is in agreement with the higher oxidant character of these compounds revealed by cyclic voltammetry. In the GR assays, the quinolinedione **1** and the quinoxalinedione **5** displayed the greatest efficiencies when compared with menadione. Surprisingly, the three aza-analogues of menadione, **2**, **3**, and **4**, showed decreased dynamic specificities, evidencing that the redox potential is not the sole requirement to divert the electrons at the reduced enzyme. Structural features are likely to play a role in GR recognition. Most of the quinones studied in this work showed classical Michaelis–Menten kinetics in agreement with the various plots shown in Fig. 2. In some enzymic studies, sigmoidal responses were observed showing the complexity of the kinetics in the presence of compounds **3**, **4**, and **6** (noted as ‘nd’ in Table 3).

The FADH₂-mediated quinone reduction has been evidenced with GR, and other related disulfide reductases.⁶⁵ Since in TrxR the reducing equivalents are transferred from NADPH via FAD to the N-terminal active site and from there to the C-terminal active site of the other subunit, the active site thiol (selenol) residues were also suggested to be involved in the mechanism of inactivation

Table 2 Aza-analogues of menadione as inhibitors of *P. falciparum* and human glutathione reductases and of *P. falciparum* thioredoxin reductase

Quinone	Structure	$\text{IC}_{50} / \mu\text{M}$		
		PfTrxR	PfGR	hGR
1		1	>130	>150
2		3	11	9
3		16	28	13
4		10	25	18
5		0.8	37	36
6^a		1	85	34
Menadione		1.6	42 ^b	27.5 ^b
1,4-NQ		0.75	2.2	1.3

^a Reacts with NADPH at high concentration. ^b From ref. 16

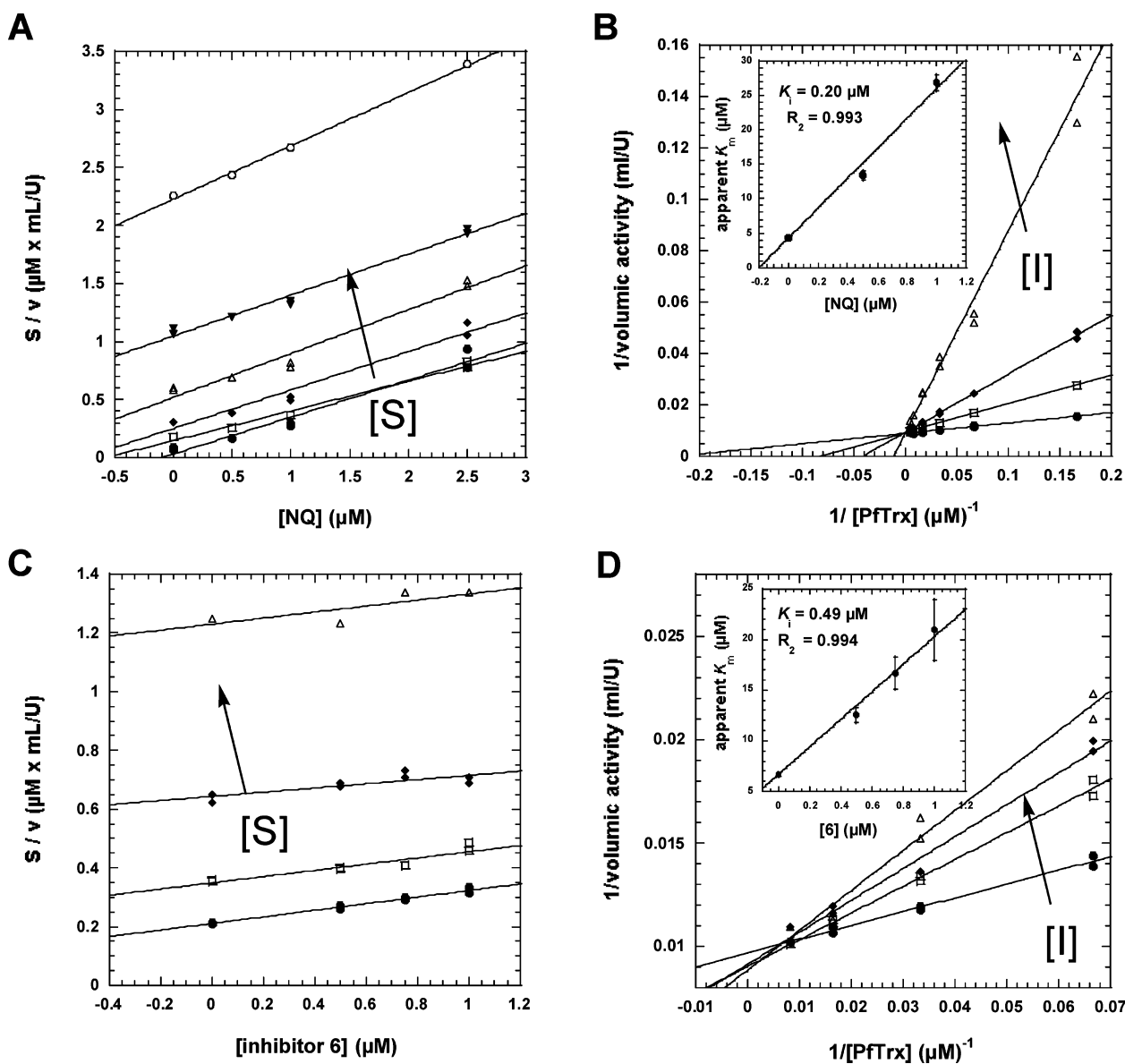


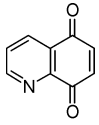
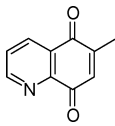
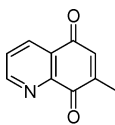
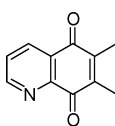
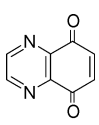
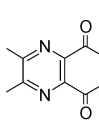
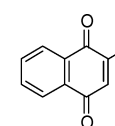
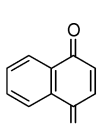
Fig. 1 Inhibition of *P. falciparum* thioredoxin reductase by 1,4-naphthoquinone (1,4-NQ) and the aza-naphthoquinone **6** under steady-state conditions. Panels A,C: Cornish–Bowden plots showing inhibition of PfTrx reduction at a fixed NADPH concentration (100 μM) in the presence of 1mM GSSG and PfTrx as variable substrate, and increasing inhibitor concentrations: 0–0.5–1.0–2.5 μM 1,4-NQ (panels A,B) and 0–0.5–0.75–1.0 μM inhibitor **6** (panels C,D). Trx concentrations used were 6 (●)–15 (□)–30 (◆)–61 (Δ)–122 (▼)–244 (○) μM in the experiment with 1,4-NQ (panels A,B); in the experiment with **6** Trx concentrations used were 15 (●)–30 (□)–61 (◆)–122 (Δ) μM (panels C,D). 1% final DMSO was present in all measurements. Panels B,D: corresponding Lineweaver–Burk plots showing inhibition of PfTrx reduction using the same PfTrx, GSSG, NADPH and inhibitor concentrations as given in panels A,C, respectively. Insets from panels B,D: secondary plots expressing $1 + [I]/K_1$ as a linear function of inhibitor concentration for 1,4-NQ, inset panel B and for **6**, inset panel D. Assuming competitive inhibition with respect to PfTrx, the K_1 values for 1,4-NQ and **6** were determined as $0.20 \pm 0.01 \mu\text{M}$ and $0.49 \pm 0.02 \mu\text{M}$, respectively.

by naphthoquinones. As previously described by Cenas *et al.*,⁶⁵ various quinones are reduced efficiently by TrxR. Certain quinones (e.g. phenanthrene-9,10-quinone) were proposed to be mainly reduced by the C-terminal selenol thiol motifs of mammalian TrxR whereas other quinones (e.g. juglone) are reduced at the N-terminal active site in interaction with the enzyme-bound FAD.

Finally, inactivation of *P. falciparum* TrxR by two representatives, i.e. 1,4-NQ and **5**, among the most potent naphthoquinones is shown, and it followed pseudo-first order reaction kinetics. The experimental data allowed us to apply the derivation established by

Kitz and Wilson⁶⁶ for irreversible inactivation. Semi-logarithmic plots (Fig. 3, panels A,B) of the fraction of non-inhibited enzyme activity $\ln(v_i/v_0)$ versus incubation time yielded linear curves with increasing slopes, equivalent to the apparent rate constant of irreversible inhibition (k_{obs}). The secondary plot (Fig. 3, insets of panels A,B) expressing k_{obs} as a function of inhibitor concentration followed eqn (2) given in the experimental part, where K_1 represents the dissociation constant of the inhibitor, and k_i is the first order rate constant for irreversible inactivation, respectively. The dose-response curve for 1,4-NQ and the *P. falciparum* TrxR,

Table 3 Kinetic parameters of *P. falciparum* thioredoxin and glutathione reductases, and of human glutathione reductase with the aza-naphthoquinone analogues as substrates

Quinone	Kinetic parameters								
	PfTrxR			PfGR			hGR		
	$K_m/\mu\text{M}$	$k_{\text{cat}}/\text{s}^{-1}$	$k_{\text{cat}}/K_m/10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	$K_m/\mu\text{M}$	$k_{\text{cat}}/\text{s}^{-1}$	$k_{\text{cat}}/K_m/10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	$K_m/\mu\text{M}$	$k_{\text{cat}}/\text{s}^{-1}$	$k_{\text{cat}}/K_m/10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
 1	78.3	30.25	386.3	234.4	1.55	6.61	363.5	2.23	6.13
 2	605.4	67.35	111.2	410.4	0.35	0.83	420.8	0.35	0.83
 3	nd	nd	nd	404.4	0.39	0.96	224.5	0.13	0.58
 4	nd	nd	nd	85.8	0.08	0.99	413.0	0.11	0.27
 5	28.6	6.25	218.3	56.2	0.35	6.2	59.5	0.34	5.71
 6	51.0	9.23	181.0	nd	nd	nd	nd	nd	nd
 menadione	188.0	30.7	163.5	82.2	0.16	1.99	31.2	0.16	5.33
 1,4-NQ	69.4	12.5	180.1	172.1	1.08	6.3	158.1	1.08	6.8

^a From ref. 15; nd: not determined.

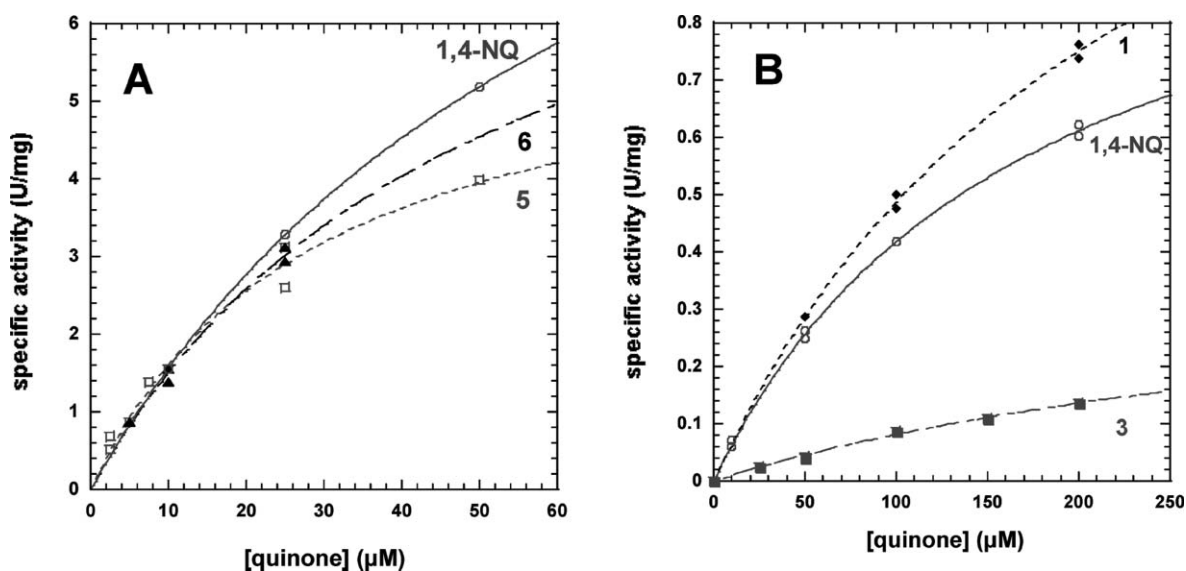


Fig. 2 Quinone reductase activity of thioredoxin and glutathione reductases from *P. falciparum*. The quinone reductase activity of *P. falciparum* TrxR (panel A) in the presence of 1,4-naphthoquinone (1,4-NQ) (—○—), or 5 (—□—), or 6 (—▲—), and of *P. falciparum* GR (panel B) in the presence of 1,4-NQ (—○—), or 1 (—◆—), or 3 (—■—) was tested by monitoring the oxidation of NADPH at 340 nm, at 25 °C, and pH 7.4 in TrxR assay (pH 6.9 in GR assays), under steady-state conditions. The quinone was dissolved in DMSO and the NADPH-oxidation activity was measured at four to five different concentrations in duplicate (0–200 μM) in the presence of 1% DMSO. The initial rate for aerobic NADPH oxidation activity of modified *P. falciparum* enzymes was subtracted from the rates measured in the presence of the naphthoquinone. For the determination of K_m and V_{max} values, the steady-state rates were fitted by using nonlinear regression analysis software (Kaleidagraph) to the Michaelis–Menten equation,⁷⁵ and the turnover number k_{cat} and the catalytic efficiency k_{cat}/K_m were calculated.

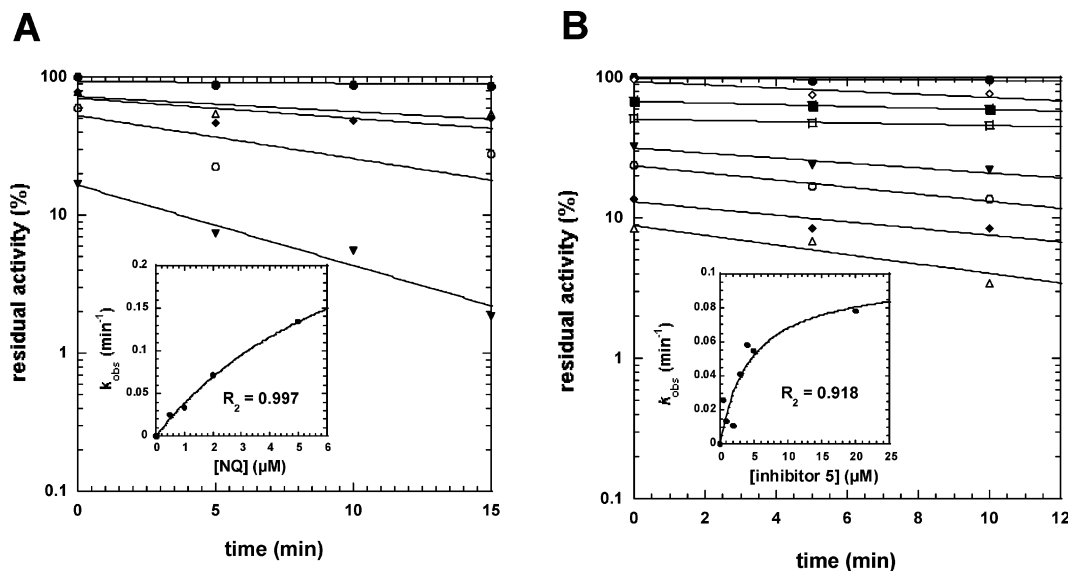


Fig. 3 Time-dependent inactivation of *Plasmodium falciparum* thioredoxin reductase by 1,4-naphthoquinone (1,4-NQ) and the aza-naphthoquinone 5. *P. falciparum* TrxR (1.23 nmol in 200 μL) was incubated in the presence of 160 μM NADPH and inhibitor at 0.25, 5, 10, and 15 min-incubation periods. 2% final DMSO was present in all incubation mixtures. Inhibitor concentrations used were: 0 (●), 0.5 (Δ), 1.0 (◆), 2.0 (○), and 5.0 (▼) μM for 1,4-NQ (panel A) and 0 (●), 0.5 (◇), 1.0 (■), 2.0 (□), 3.0 (▼), 4.0 (○), and 5.0 (◆) for aza-naphthoquinone 5 (panel B). The k_{obs} data versus [I] were fitted to eqn (2) (see text), which resulted in the hyperbolic curve shown in the inset on both panels A and B. The dissociation constants and the first order rate constants for irreversible inactivation for 1,4-NQ (inset, panel A) and aza-naphthoquinone 5 (inset, panel B), were determined as $K_1 = 8.0 \pm 2.2$ μM and $k_1 = 0.35 \pm 0.06$ min⁻¹ and $K_1 = 4.4 \pm 2.2$ μM and $k_1 = 0.10 \pm 0.02$ min⁻¹, respectively.

gave a hyperbolic curve, allowing estimation of k_1 as 0.35 ± 0.06 min⁻¹, $K_1 = 8.0 \pm 2.2$ μM, and second order rate constant k_1/K_1 as 0.7×10^3 M⁻¹ s⁻¹ (Fig. 3, inset of panel A). The resulting half-time value ($t_{1/2}$) of inactivation of *P. falciparum* TrxR was determined as 2.0 min. In an additional kinetic experiment (Fig. 3,

panel B), we observed that *Plasmodium* TrxR was also inactivated upon incubation of the enzymes with NADPH and the aza-naphthoquinone 5. The rate constant k_1 , the dissociation constant K_1 , the second order rate constant k_1/K_1 of the inhibitor 5 and the resulting half-time value ($t_{1/2}$) for the inactivation of *P. falciparum*

TrxR were determined as $0.10 \pm 0.02 \text{ min}^{-1}$, $4.4 \pm 2.2 \mu\text{M}$, $0.4 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, and 7.0 min, respectively (Fig. 3, inset of panel B). In both cases, incubation of the enzymes with inhibitor in the absence of NADPH did not result in any inactivation, indicating that reduction of the enzyme is a prerequisite for this mechanism-based inactivation.

Furthermore, the inactivation of *P. falciparum* TrxR studied in this work was compared with other studies performed with rat TrxR.⁶⁵ For rat TrxR inactivation, a prereduction of the enzyme was also necessary. Interestingly, in this study, the fully substituted aziridinybenzoquinones and daunorubicin, which are used as anticancer agents, were poor substrates and almost inactive as reversible inhibitors of rat TrxR ($K_i \geq 400 \mu\text{M}$ in the DTNB assay) but were able to inactivate the enzyme significantly, suggesting no correlation between disulfide reduction, substrate efficiencies, and enzyme inactivation. This lack of correlation was also observed with trypanothione reductase inhibitors by us and other groups. The most rational explanation might involve cooperative effects towards the binding of NADPH and oxidant molecules (e.g. O_2 , quinones) responsible for complex kinetics with the different members of the NADPH-dependent disulfide reductases. In our study, the non Michaelis–Menten behaviour was also observed in quinone reduction assays with some aza-naphthoquinones that showed sigmoidal responses when the initial velocity was plotted as a function of the quinone concentration (data not shown). Thus, the type-dependent inhibition of flavoenzymes by electron-acceptors might not necessarily imply irreversible covalent modification of the protein. This hypothesis is supported by previous studies involving alkylated quinones—where Michael addition by nucleophiles is not possible—showing a high rate of rat TrxR inactivation despite a weak competitive inhibition under steady-state conditions.⁶⁵ The TrxR inactivation observed by us and other groups could be interpreted as the result of the shift of the equilibrium between distinct reduced enzymic species involved in the catalytic cycle in favour of the generation of an inactive enzyme in the presence of an excess of both NADPH and quinones or O_2 . In the future, more work is necessary, likely under anaerobic conditions, in the field of single-enzyme kinetics based on confocal microscopy techniques, and photoaffinity labeling studies along with mass spectrometry analyses.

In conclusion, our results show that the modulation of disulfide reduction inhibition by 1,4-naphthoquinones can be achieved both by the introduction of nitrogen atoms within the aromatic ring as well as by variation of the substitution pattern of the naphthoquinone core. In the future, introduction of the structural diversity at the quinoline-5,8-dione and quinoxalin-5,8-dione might render possible the selection of specific lead compounds to develop as antimalarial agents through the plasmodial TrxR and GR inhibition.

Experimental

Chemistry

All starting chemicals, including the studied 1,4-naphthoquinone, menadiene, plumbagin, and methylene blue, were purchased from Acros or Aldrich and used as received. Reactions were monitored by thin layer chromatography (TLC) using aluminium-backed silica gel plates (Merck, Kieselgel 60 PF₂₅₄); TLC spots were

visualized under ultraviolet light and also after spraying with 5% ethanolic phosphomolybdic acid followed by heating. Chromatographic purifications were performed by column chromatography using Macherey-Nagel silica gel 60 (0.063–0.2 μm). Melting points were recorded (heating rate = $1^\circ \text{ C min}^{-1}$) on a Büchi B-545 apparatus. IR spectra were recorded with a Nicolet 'Magna 550' spectrometer using ATR (attenuated total reflexion). NMR spectra were recorded on Bruker Advance 300.12 or Advance 400.13 spectrometers; chemical shifts (δ) are given in ppm using internal reference (δ [^1H] $\text{CHCl}_3 = 7.26$, δ [^{13}C] $\text{CDCl}_3 = 77.0$); coupling constants, J , are given in Hertz. Mass spectra were obtained with a Bruker Daltonics Esquire 3000 Plus ion-trap spectrometer (ESI) and with a Thermo Fisher Scientific Polaris Q spectrometer, using ammonia–isobutane 63 : 37 for chemical ionisation. Elemental analyses were performed by the 'Service de Micro-Analyses', Département de Chimie Moléculaire, Grenoble.

Quinoline-5,8-dione 1

To a solution of bis(trifluoroacetoxy)iodobenzene (2.500 g, 2.30 mmol, 1.15 equiv.) in acetonitrile (4 mL) was added water (2 mL); after cooling to 4°C (which resulted in some precipitation), 8-hydroxyquinoline (0.290 g, 2.0 mmol) was added portionwise and the cooling bath was removed; the resulting mixture was then stirred for 3 h (the reaction was stopped after all starting material had been consumed, thus allowing isolation of **1** without chromatography). After filtration of the insoluble fraction, water (10 mL) was added and acetonitrile evaporated under reduced pressure; the aqueous layer was extracted with dichloromethane and the organic layer thoroughly washed with water to yield, after drying and evaporation of the volatiles, **1** (0.283 g, 89%); mp 105°C (dec.) from EtOH (lit.,⁴⁰ $113\text{--}5^\circ \text{C}$); (Found: C, 67.96; H, 3.21; N, 8.69. Calc. for $\text{C}_9\text{H}_5\text{NO}_2$: C, 67.93; H, 3.17; N, 8.81%); λ_{max} (EtOH/nm) 240.1 (lit.⁴⁰); ν_{max} (neat)/ cm^{-1} 2970 (C–H), 1668 (C=O) and 1578 (C=C); δ_{H} (300 MHz; CDCl_3) 7.05 (2H, AB system, J 10.3, 6-H/7-H), 7.64 (1H, dd, J 8.0 and 4.7, 3-H), 8.37 (1H, dd, J 8.0 and 1.7, 4-H) and 9.00 (1H, dd, J 4.7 and 1.7, 2-H), (lit., ref.⁶⁶); δ_{C} (75 MHz; CDCl_3) 127.8, 129.1, 134.5, 138.0, 139.1, 147.4, 154.8, 183.1 (C=O) and 184.5 (C=O), (lit., ref.⁶⁷); m/z (DCI⁺) 160.1 ([M + H]⁺).

2-Bromo-5-methyl-1,4-benzoquinone

To a stirred solution of 4-bromo-2,5-dimethoxytoluene⁶⁸ (0.300 g, 1.30 mmol) in acetonitrile (6 mL) was added dropwise a solution of ceric ammonium nitrate (2.139 g, 2.90 mmol, 3 equiv.) in water (6 mL). After 30 minutes at room temperature, the mixture was extracted with CHCl_3 ($3 \times 10 \text{ mL}$) and the organic layer was washed with water (10 mL), dried over MgSO_4 and concentrated to afford the title compound (0.237 g, 1.18 mmol, 91%); mp $94\text{--}5^\circ \text{C}$ (lit.,⁴⁷ $105\text{--}7^\circ \text{C}$); (Found: C, 41.91; H, 2.19. Calc. for $\text{C}_7\text{H}_5\text{BrO}_2$: C, 41.83; H, 2.51%); ν_{max} (neat)/ cm^{-1} 3039 (CH_3), 1646 (C=O), 1626 (C=O), 1585 (C=C) and 670 (C–Br); δ_{H} (400 MHz; CDCl_3) 2.07 (3H, d, J 1.5, CH_3), 6.79 (1H, q, J 1.5, 6-H) and 7.27 (1H, s, 3-H), (lit., ref.⁴⁹); δ_{C} (100 MHz; CDCl_3) 15.6 (CH_3), 132.5 (CH), 137.4 (C_{quat}), 138.1 (CH), 146.4 (C_{quat}), 179.4 (C=O) and 185.1 (C=O), (lit., ref.⁴⁹); m/z (DCI⁻) 200.3 and 202.2 ([M]⁻).

6-Methylquinoline-5,8-dione 2

To a solution of 2-bromo-5-methyl-1,4-benzoquinone (60 mg, 0.297 mmol) in toluene (2 mL) was added acrolein dimethylhydrazone⁴⁵ (30 mg, 0.297 mmol, 1 equiv.). The reaction mixture was heated at 80 °C for 4 h, and after cooling and evaporation of the volatiles, the crude residue (83 mg) was purified by chromatography on silica gel (ether with gradient of ethanol) to give **2** (5 mg, 9%); mp 141 °C (dec.), (lit.,⁴⁰ 177–80 °C (dec)); λ_{max} (EtOH/nm) 260.0, 240.1 (lit.⁴⁰); ν_{max} (neat)/cm⁻¹ 3061 (CH₃), 2924 (C–H), 1676 (C=O), 1660 (C=O) and 1575 (C=C); δ_{H} (300 MHz; CDCl₃) 2.27 (3H, d, *J* 1.5, CH₃), 6.92 (1H, q, *J* 1.5, 7-H), 7.66 (1H, dd, *J* 7.8 and 4.7, 3-H), 8.39 (1H, dd, *J* 7.8 and 1.8, 4-H) and 9.03 (1H, dd, *J* 4.7 and 1.8, 2-H), (lit., ref.⁶⁹); δ_{C} (75 MHz; CDCl₃) 16.7 (CH₃), 127.5, 129.1, 134.3, 135.0, 147.8, 149.1, 154.5, 183.7 (C=O) and 184.2 (C=O); *m/z* (ESI⁺) 173.9 ([M + H]⁺).

7-Methylquinoline-5,8-dione 3

To a solution of 2-bromo-6-methyl-1,4-benzoquinone^{48,49} (101 mg, 0.5 mmol) in toluene (2 mL) was added acrolein dimethylhydrazone⁴⁵ (0.223 g, 2.27 mmol, 1 equiv.). The reaction mixture was heated at 80 °C for 4 h and after cooling and evaporation of the volatiles, the crude brown residue (130 mg) was purified by chromatography on silica gel (ether with gradient of ethanol) to afford **3** (6 mg, 7%); mp 131 °C (dec.) (lit.,⁴⁰ 175–80 °C); δ_{H} (300 MHz; CDCl₃) 2.23 (3H, d, *J* 1.5, CH₃), 7.01 (1H, m, 6-H), 7.67 (1H, dd, *J* 7.9 and 4.7, 3-H), 8.44 (1H, dd, *J* 7.9 and 1.7, 4-H) and 9.02 (1H, dd, *J* 4.7 and 1.7, 2-H); δ_{C} (75 MHz; CDCl₃) 16.3 (CH₃), 127.5, 129.5, 134.6, 136.1, 147.8 (2 \times), 154.5, 183.3 (C=O) and 185.0 (C=O); *m/z* (ESI⁺) 173.9 ([M + H]⁺).

6,7-Dimethylquinoline-5,8-dione 4

To a solution of 2-bromo-6,7-dimethyl-1,4-benzoquinone⁵⁰ (0.109 g, 0.51 mmol, 1 equiv.) in toluene (1 mL) heated at 80 °C was added dropwise a 1 M solution of acrolein dimethylhydrazone⁴⁵ in toluene (1.48 mL, 1.52 mmol, 3 equiv.). After 15 h heating, 0.45 mL of the latter solution (0.46 mmol, 0.9 equiv.) was added again, and the reaction was stopped after a further 18 h stirring, at which stage no starting material remained. The volatiles were then removed under reduced pressure and column chromatography on silica gel (Et₂O) yielded **4** (0.039 g, 41%); mp 152 °C (CHCl₃–pentane) (lit.,⁴² 165–7 °C); (Found: C, 70.88; H, 4.85; N, 7.55. Calc. for C₁₁H₉NO₂: C, 70.58; H, 4.85; N, 7.49%); ν_{max} (neat)/cm⁻¹ 3005 (CH₃), 1667 (C=O), 1616 (C=O) and 1578 (C=C); δ_{H} (400 MHz; CDCl₃) 2.14 and 2.18 (6H, s (2 \times), CH₃), 7.58 (1H, dd, *J* 8.0 and 4.5, 3-H), 8.33 (1H, dd, *J* 8.0 and 1.5, 4-H) and 8.92 (1H, dd, *J* 4.5 and 1.5, 2-H); δ_{C} (75 MHz; CDCl₃) 12.7 (CH₃), 13.0 (CH₃), 127.2, 128.8, 134.2, 142.9, 144.4, 147.5, 154.1, 183.1 (C=O) and 184.1 (C=O); *m/z* (DCI⁺) 189.4 ([M + H]⁺).

1,2-Diamino-3,6-dimethoxybenzene 7

To a solution of **10** (3.372 g, 17.03 mmol, 1 equiv.) in EtOAc (60 mL) was added palladium (10%/C, 0.36 g) and the mixture was stirred under hydrogen at atmospheric pressure for 5 h. After filtration on Celite and evaporation of the volatiles, **7** was obtained as a cream-coloured solid (2.782 g, 16.56 mmol, 97%), which was used directly in the next step (for prolonged storage, it is advisable

to keep it under argon); mp 68–9 °C (lit.,⁷⁰ 68–70 °C); (Found: C, 57.24; H, 7.12; N, 16.79. Calc. for C₈H₁₂N₂O₂: C, 57.13; H, 7.20; N, 16.66%); ν_{max} (neat)/cm⁻¹ 3423, 3403 and 3391 (NH₂), 2830 (OCH₃), 1634 (N–H) and 1487 (C=C); δ_{H} (300 MHz; CDCl₃) 3.50 (4H, br s, NH₂) 3.81 (6H, s, OCH₃) and 6.31 (2H, s, 4-H/5-H); δ_{C} (75 MHz; CDCl₃) 56.0 (OCH₃), 100.8 (CH), 124.6 (C_{quat}) and 143.2 (C_{quat}); *m/z* (ESI⁺) 168.9 ([M + H]⁺).

3,6-Dimethoxy-2-nitroaniline 10

Palladium (10%/C, 0.53 g) was added to a 9 : 1 mixture⁵³ of 1,4-dimethoxy-2,3-dinitro-benzene and its 2,5-dinitro isomer (5.00 g, 21.90 mmol) dissolved in EtOAc (100 mL). After stirring under hydrogen at atmospheric pressure—the course of the reaction being followed by tlc (*R_f*: 0.71, CH₂Cl₂, orange spot)—the mixture was filtered on Celite; after evaporation of the volatiles, chromatography of the dark red residue on silica gel (pentane–ethyl acetate 4 : 1 to 1 : 1) gave **10** (3.372 g, 78%); mp 67–8 °C; ν_{max} (neat)/cm⁻¹ 3495 and 3451 (NH₂), 2841 (OCH₃), 1621 (C=C), 1595 (NH), 1518 (C=C), 1472 (C=C) and 1344 (NO₂); δ_{H} (300 MHz; CDCl₃) 6.74 (1H, d, *J* 8.9, 5-H), 6.16 (1H, d, *J* 8.9, 4-H), 5.35 (2H, br s, NH₂) and 3.82 (6H, s (2 \times), CH₃), (lit., ref.⁵⁷); δ_{C} (75 MHz; CDCl₃) 56.4 (OCH₃), 56.6 (OCH₃), 98.2, 112.6, 127.4, 135.1, 141.5 and 148.5; *m/z* (ESI⁺) 198.9 ([M + H]⁺).

Quinoxaline-5,8-dione 5

To a solution of **7** (0.199 g, 1.18 mmol) in ethanol (5 mL) was added glyoxal trimer dihydrate (0.092 g, 0.44 mmol, 0.37 equiv.) and the mixture was heated at reflux temperature for 30 min. The solvent was removed under reduced pressure to afford 5,8-dimethoxyquinoxaline (0.239 g); ν_{max} (neat)/cm⁻¹ 2837 (OCH₃), 1605 (C=C) and 1484 (C=C); δ_{H} (300 MHz; CDCl₃) 4.06 (6H, s, OCH₃), 6.97 (2H, s, 6-H/7-H) and 8.83 (2H, s, 2-H/3-H) (lit., ref.⁷¹); δ_{C} (75 MHz; CDCl₃) 56.2 (OCH₃), 107.5, 135.6, 143.9 and 148.8; *m/z* (DCI⁺) 191.2 ([M + H]⁺). To this quinoxaline (0.223 g, 1.17 mmol) dissolved in (1 : 1) acetonitrile–water (5 mL) was added portionwise a suspension of ceric ammonium nitrate (1.606 g, 2.09 mmol, 2.5 equiv.) in (20 : 1) acetonitrile–water (11 mL). The mixture was stirred at room temperature for 20 minutes, poured into ice-water (20 mL) and extracted with CH₂Cl₂ (3 \times 20 mL). The organic layer was washed with water (20 mL), dried (MgSO₄) and volatiles were removed under reduced pressure to afford **5** as an orange solid (0.132 g, 70%), which was recrystallized twice from CH₂Cl₂–Et₂O for analytical purposes; mp 145–8 °C (dec.) (lit.,⁵⁸ 155–60 °C); (Found C, 59.78; H, 2.55; N, 17.27. Calc. for C₈H₄N₂O₂: C, 60.01; H, 2.52; N, 17.50%); λ_{max} (EtOH/nm) 275.0, 249.9, 215.0 (lit.⁶²); ν_{max} (neat)/cm⁻¹ 1671 (C=O); δ_{H} (300 MHz; CDCl₃) 7.25 (2H, s, 6-H/7-H) and 9.05 (2H, s, 2-H/3-H), (lit., ref.⁵²); δ_{C} (75 MHz; CDCl₃) 138.7 (CH), 143.7 (C_{quat}), 149.0 (CH) and 182.5 (C=O); *m/z* (DCI⁺) 161.3 ([M + H]⁺).

2,3-Dimethylquinoxaline-5,8-dione 6

To a solution of **7** (1.00 g, 5.96 mmol) in ethanol (25 mL) was added freshly distilled 2,3-butanedione (0.6 mL, 6.84 mmol, 1.15 equiv.) and the mixture was heated at reflux temperature for 30 min. The volatiles were removed under reduced pressure which afforded 5,8-dimethoxy-2,3-dimethylquinoxaline (1.224 g, 94%) as a flocculent yellow solid; mp 168–9 °C (lit.,⁶² 171–2 °C); (Found C, 65.64;

H, 6.54; N, 12.55. Calc. for C₁₂H₁₄N₂O₂: C, 66.04, H, 6.47; N, 12.84%; $\nu_{\max}(\text{neat})/\text{cm}^{-1}$ 3001 (CH₃), 2734 (OCH₃), 1609 (C=C) and 1488 (C=C); $\delta_{\text{H}}(300 \text{ MHz}; \text{CDCl}_3)$ 2.69 (6H, s, CH₃), 3.95 (6H, s, OCH₃), 6.83 (2H, s, 6-H/7-H); $\delta_{\text{C}}(75 \text{ MHz}; \text{CDCl}_3)$ 23.1 (C-CH₃), 56.0 (OCH₃), 106.2, 133.5, 148.2, 152.5; m/z (DCI⁺) 219.5 ([M + H]⁺). To this quinoxaline (0.249 g, 1.14 mmol) stirred in (1 : 1) acetonitrile–water (5 mL) was added portionwise a suspension of ceric ammonium nitrate (1.574 g, 2.87 mmol, 2.5 equiv.) in (20 : 1) acetonitrile–water (11 mL). The mixture was stirred at room temperature for 20 minutes, poured into ice-water (20 mL) and extracted with CH₂Cl₂ (3 × 20 mL). The organic layer was washed with water (20 mL), dried (MgSO₄) and volatiles were removed under reduced pressure to afford **6** (0.203 g, 94%) as a yellow solid, which was recrystallized twice from CH₂Cl₂–Et₂O for analytical purposes; mp 174–5 °C (dec.) (lit.⁷² 176–8 °C); (Found: C, 63.96; H, 4.70; N, 14.50. Calc. for C₁₀H₈N₂O₂: C, 63.83; H, 4.29; N, 14.89%); $\lambda_{\max}(\text{EtOH}/\text{nm})$ 290.0, 255.0, 230.0 (lit.⁶²); $\nu_{\max}(\text{neat})/\text{cm}^{-1}$ 1671 (C=O); $\delta_{\text{H}}(300 \text{ MHz}; \text{CDCl}_3)$ 2.79 (6H, s, OCH₃) and 7.13 (2H, s, 6-H/7-H); $\delta_{\text{C}}(75 \text{ MHz}; \text{CDCl}_3)$ 23.0 (2-CH₃/3-CH₃), 138.2 (6-C/7-C), 141.1(C_{quat}), 159.0 (C_{quat}) and 183.4 (C=O); m/z (DCI⁺) 189.4 ([M + H]⁺).

Cyclic voltammetry

Electrochemical measurements were performed using a conventional three electrodes system (660B model potentiostat, CH-Instruments). Automatic iR compensation was performed before each cyclic voltammetry experiment. The working glassy carbon disc electrode (3 mm diameter, from CH-Instruments) was polished with 2 μm diamond paste before use. Electrode potentials were referred to the standard calomel electrode (SCE) potential in aqueous media. 1,1'-Dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride (methyl viologen, denoted MV²⁺) was also used as an internal reference in aqueous electrolyte. Solutions were degassed with N₂ before each measurement. All experiments were run at 20 °C. Tetra-*n*-butylammonium perchlorate (TBAP, Fluka puriss) was dried under vacuum at 80 °C for 3 days. Distilled water was obtained from an Elgastat water purification system (5 MΩ cm). Other reagent grade chemicals were used without further purification.

Enzyme preparation

Plasmodium falciparum TrxR and Trx were prepared as described.⁷³ Both *P. falciparum* GR¹⁷ and human GR⁷⁴ were respectively produced as described and kindly provided by Prof. Heiner Schirmer, Center for Biochemistry, Heidelberg University. The enzyme stock solutions used for the kinetic determinations were pure as judged from a silver-stained SDS-PAGE and had specific activity of 21 U mg⁻¹ in Trx reduction assay for PfTrxR, 143 U mg⁻¹ and 168 U mg⁻¹ in GSSG reduction assay for PfGR and hGR, respectively.

Enzyme assays

All kinetic studies were carried out at 25 °C in a volume of 1 mL in the presence of 100 μM NADPH. The glutathione reductase assay mixtures contained 47 mM potassium phosphate buffer pH 6.9, 200 mM KCl and 1 mM EDTA. The thioredoxin reductase assay mixtures contained 100 mM potassium phosphate buffer pH 7.4

and 2 mM EDTA. Inhibitor stock solutions were prepared in 100% DMSO. A 1% final DMSO concentration was kept constant in the assay cuvette.

IC₅₀ determinations

The standard glutathione reductase and thioredoxin reductase assay mixtures contained 1 mM GSSG or 26 μM Trx, as the disulfide substrate, respectively. In the TrxR assay, 1 mM GSSG was added to recycle continuously Trx from Trx(SH)₂. The reaction was started with the addition of the enzyme (GR: 10 mU or 1.1 nM final in the cuvette; TrxR: 10 mU or 7.7 nM final in the cuvette) and initial rates were determined from NADPH oxidation measured at 340 nm (ϵ_{340} : 6.22 mM⁻¹ cm⁻¹) at 25 °C. IC₅₀ values were evaluated in duplicate in the presence of ten inhibitor concentrations ranging from 0 to 200 μM.

Evaluation of inhibition type and K_i under steady-state conditions

Types of inhibition and inhibition constants for **1,4-NQ** and **6** were determined in duplicate experiments. *P. falciparum* TrxR activity was measured at different concentrations of **1,4-NQ** (0–2.5 μM) or of inhibitor **6** (0–1 μM) in the presence of varying concentrations of Trx (6–244 μM) at a constant NADPH concentration of 100 μM in the presence of 1 mM GSSG. K_m and V_{\max} values were determined by fitting data to the Michaelis–Menten equation using nonlinear regression analysis.⁷⁵ Inhibition of GSSG reduction by quinones was measured as a function of substrate concentration, and the experimental data were fitted by using nonlinear regression analysis software (Kaleidagraph) to eqn (1) for competitive inhibition, where [S] is the concentration of the variable substrate, [I] is the inhibitor concentration, V_{\max} is the maximal rate, K_m is the Michaelis–Menten constant, and K_i is the inhibition constant for I binding to the ES complex.

$$v = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_m \cdot \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + [S]} \quad (1)$$

Quinone reductase activity

The ability of the glutathione reductase or the thioredoxin reductase to reduce the naphthoquinone was assayed at 25 °C by monitoring the oxidation of 100 μM NADPH at 340 nm. The assays, in a total volume of 1 mL, contained the GR- or TrxR-buffer and the enzyme (PfGR: 118 pmol to 1.18 nmol; hGR: 458 pmol to 1.14 nmol; PfTrxR: 15.4 pmol to 154 pmol per assay). The naphthoquinone was dissolved in DMSO and the NADPH-oxidase activity was measured at four to five different 1,4-NQ concentrations in duplicate (10–400 μM) in the presence of 1% DMSO. For the determination of K_m and V_{\max} values, the steady-state rates were graphically fitted by using nonlinear regression analysis software (Kaleidagraph) to the Michaelis–Menten equation, and the turnover number k_{cat} and the catalytic efficiency k_{cat}/K_m were calculated.

Time-dependent inactivation

For determining the time-dependent inactivation of *P. falciparum* TrxR, the residual TrxR activity was monitored over time (0.25, 5, 10, and 15, min-incubation periods) by following an incubation

protocol.⁷⁶ All reaction mixtures (final volume of 200 μL) contained 160 μM NADPH, varying inhibitor concentrations, *P. falciparum* TrxR (1.23 nmol), 2% DMSO in TrxR buffer at 25 $^{\circ}\text{C}$. Inhibitor concentrations used were 0–0.5–1.0–2.0–5.0 μM for **1,4-NQ** and 0–0.5–1.0–2.0–3.0–4.0–5.0–20.0 μM for azanaphthoquinone **5**. At different time points, 5 μL -aliquots of each reaction mixture were removed and the residual activity was measured in the standard Trx reduction assay at 25 $^{\circ}\text{C}$ (in the presence of 24 μM Trx, 1 mM GSSG and 100 μM NADPH). 2% DMSO was used in control assays. From semi-logarithmic plots $\ln(v_i/v_0)$ versus incubation time apparent rate constants of irreversible inhibition (k_{obs}) of the fraction of non-inhibited enzyme activity versus $[\text{I}]$ were fitted to eqn (2):

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_i \cdot [\text{I}]}{K_1 + [\text{I}]} \quad (2)$$

where K_1 represents the dissociation constant of the inhibitor, and k_i is the first order rate constant for irreversible inactivation, respectively.

Acknowledgements

Our work is supported by the Centre National de la Recherche Scientifique (E.D.C.) and by the Deutsche Forschungsgemeinschaft via the SFB 544 “Control of Tropical Infectious Diseases,” project B14 (E.D.C.) and the grant BE1540/4-4 (K.B.). T.B. is grateful to the French “Ministère de l’Éducation Nationale, de la Recherche et de la Technologie” for a doctoral fellowship.

References

- I. W. Sherman, in *Molecular Approaches to Malaria*, American Society of Microbiology Press, Riverside, California, US, 2005.
- J. G. Breman, M. S. Alilio and A. Mills, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2004, **71**, 1–15.
- K. Maitland, M. Makanga and T. N. Williams, *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 2004, **17**, 405–412.
- L. B. Stewart, W. Peters and B. L. Robinson, *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 2004, **98**, 763–783.
- M. Schlitzer, *ChemMedChem*, 2007, **2**, 944–986.
- K. Becker, L. Tilley, J. L. Vennerstrom, D. Roberts, S. Rogerson and H. Ginsburg, *Int. J. Parasitol.*, 2004, **34**, 163–189.
- R. L. Krauth-Siegel, H. Bauer and R. H. Schirmer, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2005, **44**, 690–715.
- S. Rahlfs and K. Becker, *Mini-Rev. Med. Chem.*, 2006, **6**, 163–176.
- K. Becker, S. Rahlfs, C. Nickel and R. H. Schirmer, *Biol. Chem.*, 2003, **384**, 551–566.
- S. Müller, *Mol. Microbiol.*, 2004, **53**, 1291–1305.
- Y. Zhang, I. König and R. H. Schirmer, *Biochem. Pharmacol.*, 1988, **37**, 861–865.
- Y. A. Zhang, E. Hempelmann and R. H. Schirmer, *Biochem. Pharmacol.*, 1988, **37**, 855–860.
- M. Cappadoro, G. Giribaldi, E. O’Brien, F. Turrini, F. Mannu, D. Ulliers, G. Simula, L. Luzzatto and P. Aresè, *Blood*, 1998, **92**, 2527–2534.
- E. Davioud-Charvet, S. Delarue, C. Biot, B. Schwöbel, C. C. Böhme, A. Müssigbrodt, L. Maes, C. Sergheraert, P. Grellier, R. H. Schirmer and K. Becker, *J. Med. Chem.*, 2001, **44**, 4268–4276.
- C. Biot, H. Bauer, R. H. Schirmer and E. Davioud-Charvet, *J. Med. Chem.*, 2004, **47**, 5972–5983.
- H. Bauer, K. Fritz-Wolf, A. Winzer, S. Kuhner, S. Little, V. Yardley, H. Vezin, B. Palfey, R. H. Schirmer and E. Davioud-Charvet, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 10784–10794.
- P. M. Färber, L. D. Arscott, C. H. Williams, Jr., K. Becker and R. H. Schirmer, *FEBS Lett.*, 1998, **422**, 311–314.
- R. M. Luond, J. H. McKie, K. T. Douglas, M. J. Dascombe and J. Vale, *J. Enzyme Inhib.*, 1998, **13**, 327–345.
- P. Grellier, J. Sarlauskas, Z. Anusevicius, A. Maroziene, C. Houee-Levin, J. Schrevel and N. Cenas, *Arch. Biochem. Biophys.*, 2001, **393**, 199–206.
- M. Wainwright and L. Amaral, *Trop. Med. Int. Health*, 2005, **10**, 501–511.
- R. H. Schirmer, J. G. Müller and R. L. Krauth-Siegel, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1995, **107**, 153–157.
- C. Nickel, S. Rahlfs, M. Deponte, S. Koncarevic and K. Becker, *Antioxid. Redox Signaling*, 2006, **8**, 1227–1239.
- Z. Krnajska, T. W. Gilberger, R. D. Walter, A. F. Cowman and S. Muller, *J. Biol. Chem.*, 2002, **277**, 25970–25975.
- C. H. Williams, L. D. Arscott, S. Muller, B. W. Lennon, M. L. Ludwig, P. F. Wang, D. M. Veine, K. Becker and R. H. Schirmer, *Eur. J. Biochem.*, 2000, **267**, 6110–6117.
- P. J. McMillan, L. D. Arscott, D. P. Ballou, K. Becker, C. H. Williams, Jr. and S. Muller, *J. Biol. Chem.*, 2006, **281**, 32967–32977.
- S. Gromer, S. Urig and K. Becker, *Med. Res. Rev.*, 2004, **24**, 40–89.
- E. Davioud-Charvet, M. J. McLeish, D. M. Veine, D. Giegel, L. D. Arscott, A. D. Andricopulo, K. Becker, S. Muller, R. H. Schirmer, C. H. Williams, Jr. and G. L. Kenyon, *Biochemistry*, 2003, **42**, 13319–13330.
- B. Lee, H. Bauer, J. Melchers, T. Ruppert, L. Rattray, V. Yardley, E. Davioud-Charvet and R. L. Krauth-Siegel, *J. Med. Chem.*, 2005, **48**, 7400–7410.
- A. D. Andricopulo, M. B. Akoachere, R. Krogh, C. Nickel, M. J. McLeish, G. L. Kenyon, L. D. Arscott, C. H. Williams, Jr., E. Davioud-Charvet and K. Becker, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2006, **16**, 2283–2292.
- J. J. Kessler, N. V. Moskalev, G. W. Gribble, M. Nasr, S. R. Meshnick and B. L. Trumpower, *Biochim. Biophys. Acta*, 2007, **1767**, 319–326.
- K. Lopez-Shirley, F. Zhang, D. Gosser, M. Scott and S. R. Meshnick, *J. Lab. Clin. Med.*, 1994, **123**, 126–130.
- Y. P. Wan, T. H. Porter and K. Folkers, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1974, **71**, 952–956.
- R. M. Luond, J. H. McKie and K. T. Douglas, *Biochem. Pharmacol.*, 1993, **45**, 2547–2549.
- H. J. Teuber and N. Götz, *Chem. Ber.*, 1954, **87**, 1236–1251.
- D. W. Cameron, K. R. Deutscher and G. I. Feutrell, *Aust. J. Chem.*, 1982, **35**, 1439–1450.
- A. S. Amarasekara, *Synth. Commun.*, 1999, **29**, 3063–3066.
- J. Cossy and D. Belotti, *Tetrahedron Lett.*, 2001, **42**, 4329–4331.
- R. Barret and M. Daudon, *Tetrahedron Lett.*, 1990, **34**, 4871–4872.
- W. G. Christiansen and M. A. Dolliver, *J. Am. Chem. Soc.*, 1941, **63**, 1470.
- R. Long and K. Schofield, *J. Chem. Soc.*, 1953, 3161–3167.
- V. Petrow and B. Sturgeon, *J. Chem. Soc.*, 1954, 570–574.
- A. J. Lin, B. J. Lillis and A. C. Sartorelli, *J. Med. Chem.*, 1975, **18**, 917–921.
- B. Serckx-Poncin, A.-M. Hesbain-Frique and L. Ghosez, *Tetrahedron Lett.*, 1982, **23**, 3261–3264.
- J. M. Perez, C. Avendano and J. C. Menendez, *Tetrahedron*, 1995, **51**, 6573–6586.
- E. Gomez-Bengoia and A. M. Echavarren, *J. Org. Chem.*, 1991, **56**, 3497–3501.
- K. J. M. Andrews, D. H. Marrian and D. R. Maxwell, *J. Chem. Soc.*, 1956, 1844–1854.
- A. Tomatsu, S. Takemura, K. Hishimoto and M. Nakata, *Synlett*, 1999, 1474–1476.
- L. Gu, C. Liu, J. Xu and E. K. Tsou, *Tetrahedron*, 1990, **46**, 3199–3210.
- W. S. Murphy and M. Bertrand, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1998, 4115–4120.
- E. G. Kleinschmidt and H. Brauniger, *Pharmazie*, 1969, **24**, 94–95.
- A. Taleb, F. Alvarez, P. Nebois and N. Walchshofer, *Heterocycl. Commun.*, 2006, **12**, 111–114.
- Y. Kitahara, S. Nakahara, Y. Tanaka and A. Kubo, *Heterocycles*, 1992, **34**, 1623–1630.
- C. Lion, R. Baudry, M. Hedayatullah, L. Da Conceicao, S. Genard and J. Maignan, *J. Heterocycl. Chem.*, 2002, **39**, 125–130.
- P. Hammershoej, T. K. Reenberg, M. Pittelkow, C. B. Nielsen, O. Hammerich and J. B. Christensen, *Eur. J. Org. Chem.*, 2006, 2786–2794.
- I. D. Entwistle, R. A. W. Johnstone and T. J. Povall, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1975, 1300–1301.
- D. L. Clive, A. G. Angoh and S. M. Bennett, *J. Org. Chem.*, 1987, **52**, 1339–1342.
- C. W. Lai, C. K. Lam, H. K. Lee, T. C. Mak and H. N. Wong, *Org. Lett.*, 2003, **5**, 823–826.

-
- 58 C. W. Rees and D. E. West, *J. Chem. Soc. C*, 1970, 583–589.
- 59 H. Bock, P. Dickmann and H.-F. Herrmann, *Z. Naturforsch.*, 1991, **46b**, 326–338.
- 60 J. Q. Chambers, in *The chemistry of the quinonoid compounds*, ed. S. Patai, Wiley & Sons, London, New York, Sydney, Toronto, 1974, part 2, ch. 14, pp. 737–791.
- 61 D. H. Evans and D. A. Griffith, *J. Electroanal. Chem.*, 1982, **134**, 301–310.
- 62 W. F. Gum, Jr. and M. M. Joullié, *J. Org. Chem.*, 1967, **32**, 53–59.
- 63 J. J. Newsome, M. A. Colucci, M. Hassani, H. D. Beall and C. J. Moody, *Org. Biomol. Chem.*, 2007, **5**, 3665–3673.
- 64 M. A. Colucci, G. D. Couch and C. J. Moody, *Org. Biomol. Chem.*, 2008, **6**, 637–656.
- 65 N. Cenas, H. Nivinskas, Z. Anusevicius, J. Sarlauskas, F. Lederer and E. S. Arner, *J. Biol. Chem.*, 2004, **279**, 2583–2592.
- 66 R. Kitz and I. B. Wilson, *J. Biol. Chem.*, 1962, **237**, 3245–3249.
- 67 J. S. Lazo, D. C. Aslan, E. C. Southwick, K. A. Cooley, A. P. Ducruet, B. Joo, A. Vogt and P. Wipf, *J. Med. Chem.*, 2001, **44**, 4042–4049.
- 68 A. Haber and B. D. Hilton, *Org. Magn. Reson.*, 1983, **21**, 168–172.
- 69 J. M. Wagner, C. J. McElhinny, Jr., A. H. Lewin and F. I. Carroll, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, **14**, 2119–2125.
- 70 I. A. Shaikh, F. Johnson and A. P. Grollman, *J. Med. Chem.*, 1986, **29**, 1329–1340.
- 71 I. Baxter, D. W. Cameron and R. B. Titman, *J. Chem. Soc. C*, 1971, 1253–1256.
- 72 B. Venugopalan, C. P. Bapat, P. J. Karnik and N. J. De Souza, *Indian J. Chem.*, 1990, **29B**, 364–365.
- 73 S. M. Kanzok, R. H. Schirmer, I. Türbachova, R. Iozef and K. Becker, *J. Biol. Chem.*, 2000, **275**, 40180–40186.
- 74 A. Nordhoff, U. S. Bücheler, D. Werner and R. H. Schirmer, *Biochemistry*, 1993, **32**, 4060–4066.
- 75 I. H. Segel, in *Enzyme Kinetics. Behavior and analysis of rapid equilibrium and steady-state enzyme systems*, John Wiley and Sons, New York, 1975.
- 76 S. Gromer, H. Merkle, R. H. Schirmer and K. Becker, *Methods Enzymol.*, 2002, **347**, 382–394.

Synthesis of 3,6-Dimethoxybenzene-1,2-diamine and of 4,7-Dimethoxy-2-methyl-1*H*-benzimidazole

Tatiana Besset, Christophe Morin*

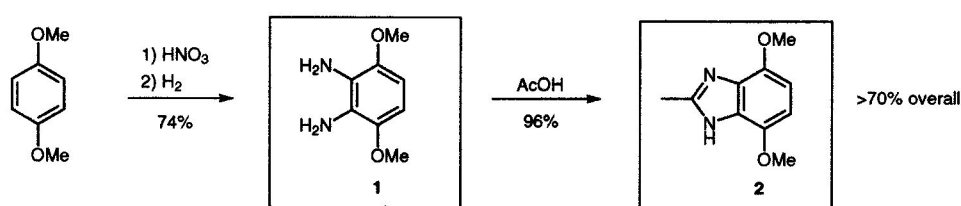
Département de Chimie Moléculaire (CNRS, UMR-5250, ICMG FR-2607), Université Joseph Fourier, 301 Rue de la Chimie, B. P. 53, 38041 Grenoble Cedex 9, France
Fax +33(4)76635983 ; E-mail: Christophe.Morin@ujf-grenoble.fr

Received 11 December 2008; revised 19 February 2009



Abstract: Hydrogenation of a mixture of *ortho*- and *para*-dinitro derivatives of 1,4-dimethoxybenzene in ethyl acetate under palladium catalysis, allows 3,6-dimethoxybenzene-1,2-diamine to be isolated as the sole product; this diamine is then converted into 4,7-dimethoxy-2-methyl-1*H*-benzimidazole, a building block for the preparation of imidazobenzo(hydro)quinones.

Key words: benzimidazoles, diamines, heterocycles, hydroquinones, reduction

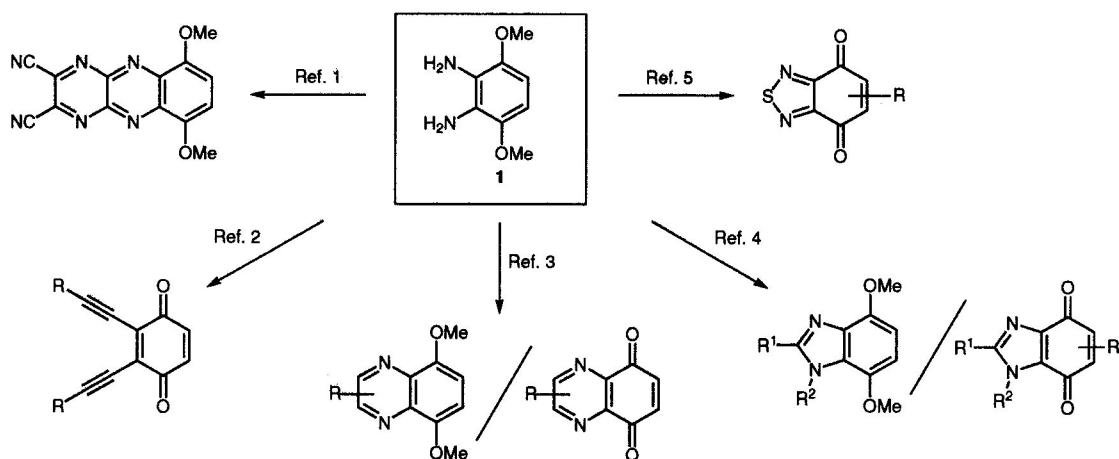


Scheme 1

3,6-Dimethoxybenzene-1,2-diamine (**1**) is a synthon that has been used for the construction of aromatics, heterocycles, and quinones of both physical^{1,2} and biological³⁻⁵ relevance; **1** is obtained after nitration/reduction of 1,4-dimethoxybenzene (hydroquinone dimethyl ether) (Scheme 1 and Scheme 2). Since the first mention of this procedure,^{6,7} a dozen alternatives have been reported (Table 1 and Table 2), which suggest that some difficulties exist in its preparation. A close look at the described procedures led us to identify several points to be ad-

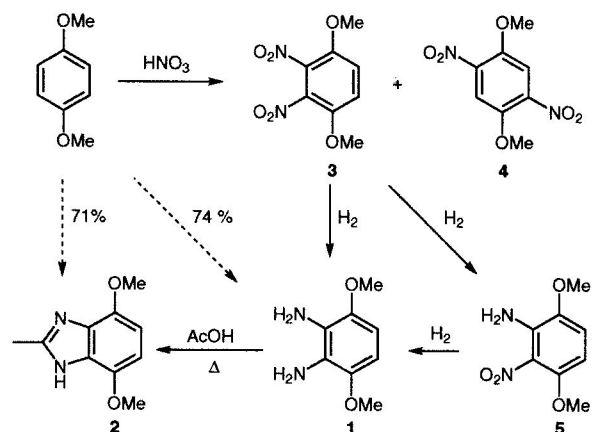
ressed as this could be of some help in establishing a reliable and high-yielding synthesis of **1**. An efficient preparation of benzimidazole **2**, which is a building block in the synthesis of imidazobenzoquinones,⁴ from **1** is also presented.

Nitration of 1,4-dimethoxybenzene has been performed using various methods and conditions to yield a mixture of *ortho*- **3** and *para*-isomers **4** (Scheme 3), the proportion of which depends on the experimental conditions (Table 1). The isolation of **3** in its pure state has been ef-



Scheme 2 3,6-Dimethoxybenzene-1,2-diamine as a synthon

fectured by crystallization from ethyl acetate^{3a,6,7} or from acetic acid,^{2,4a} but, in our hands, using either solvent and starting with batches of different compositions, the enrichment of **3** did not proceed beyond 90%.^{8,9} A chromatographic purification has also been proposed, but this necessitates large quantities of adsorbent (1 kg of silica gel for the purification of an 8 g mixture of **3/4**).^{4p}



Scheme 3 Preparation of **1** and **2**

Table 1 Nitration of 1,4-Dimethoxybenzene

Entry	Conditions	Ratio 3/4	Yield (%)	Ref.
1	70% HNO ₃ , Ac ₂ O, 0 °C	45:55	95	4p
2	concd HNO ₃ , AcOH, r.t. then 70–80 °C	— ^a	80	3a
3	concd HNO ₃ , AcOH, r.t. then 90 °C	— ^a	80	3c
4	NO ₂ , O ₃ , CH ₂ Cl ₂ , –10 °C	54:46	81	16d
5	NO ₂ BF ₄ , DME, –50 °C	— ^a	76	16c
6	concd HNO ₃ , Ac ₂ O, 0 °C	— ^a	70	4f
7	concd HNO ₃ , 0–5 °C, 24 °C, then reflux	88:12 ^b	91.6	16b
8	concd HNO ₃ , 0 °C, r.t., then 90 °C	89:11 ^b	89	4b
9	62% HNO ₃ , 0 °C, r.t., then 100 °C	— ^a	90 ^c	2
10	concd HNO ₃ , AcOH, r.t., 80 °C	— ^a	35 ^d	16e
11	Ag _{0.51} K _{0.42} Na _{0.07} NO ₃ ·K ₃ Fe(CN) ₆ (4 equiv), 160 °C	45:55	35	16f

^a Not available.

^b Ratio from ¹H NMR and/or VPC.

^c Yield of **3**.

^d Yield of **4**.

An indirect way to **1** consists of the selective reduction of **3** into **5**, a compound that is easily purified,^{3h} which is followed by another reduction; however, this procedure adds an extra step. All of the above results explain why most of the syntheses presented in Scheme 2 were carried out starting with a mixture of dinitro isomers **3/4**.

With regard to the reduction step to diamine **1**, several methods have been proposed (Table 2). Due to the ease of work-up,¹⁰ catalytic hydrogenation appears to be the method of choice and it has been performed under pressure in the presence of various catalysts (Table 2). As at atmospheric pressure, hydrogenation with palladium as catalyst has led to **5** and as it could be further reduced at atmospheric pressure,^{3h} 'one-pot' conditions for full reduction to **1** were sought. Although the reduction of **3/4** at atmospheric pressure was slow (2–3 days), it could be driven to completion.¹¹ During our search for optimal conditions, it was serendipitously discovered that, when the reduction was carried out in ethyl acetate, pure **1** could be isolated after mere filtration of the reaction mixture on Celite, followed by evaporation of the solvent.^{12,13} This avoids the indirect procedures that have been used for the isolation of **1**^{3c,g,4a} and sets up a high-yielding trouble-free preparation (83% from a 9:1 mixture of dinitro isomers; 96% based on **3**).

Table 2 Reduction of Dinitro Derivatives **3/4**

Entry	Substrate	Conditions	Yield (%)	Ref.
1	3	H ₂ , PtO ₂ , EtOH	40	4a
2	3	H ₂ , Raney Ni, EtOH, 50 °C	60	4c
3	3	Sn (14.5 equiv), concd HCl, 100 °C	56 ^b	16d
4	3	Sn (5.8 equiv), 12 M HCl, 100 °C	98 ^a	4p
5	3 + 4 (40:60)	Sn, 12 M HCl, reflux	98	4j
6	3 + 4	SnCl ₂ (9.1 equiv), concd HCl, 90–100 °C	78 ^b	4b
7	3 + 4 ^c	H ₂ (2–3 bar), Raney Ni, MeOH	12 ^b	3a
8	3	NH ₂ NH ₂ ·x H ₂ O, Raney Ni	55 ^b	4f
9	3 + 4 ^c	Na ₂ S ₂ O ₄ (10 equiv), THF–MeOH (1:1), reflux	12	3c
10	3 + 4 ^c	H ₂ (3.45 bar), PtO ₂ , EtOH	62 ^b	3c
11	3	H ₂ (5 bar), 10% Pd/C, EtOAc	99	2
12	3 + 4 ^c	H ₂ (Parr apparatus), 10% Pd/C, AcOH	94 ^b	16a

^a Mixture of two isomers (no ratio indicated), isolated as hydrochlorides.

^b The crude product was used as such in the next step (yield is given for two steps).

^c Ratio not available.

With **1** in hand, we looked for its conversion into **2**, a key building block for the preparation of imidazobenzodiquinones.⁴ The synthesis of **2** is based on the general method of Phillips,¹⁴ which refers to the condensation of *ortho*-benzenediamines with carboxylic acids. Thus, reaction of **1** with acetic acid gives **2**,^{4a,j,n} but our attempts to reproduce the described literature procedure led to impure **2** and only in fair yield.¹⁵ During attempts to improve its

preparation, we found that performing the reaction under argon with freshly prepared **1** and using degassed acetic acid were decisive: this led to a reliable procedure, **2** being isolated in 96% yield.

Thus the preparations of **1** and **2** are now made simple and high yielding (74% and 71% overall yields, respectively, from 1,4-dimethoxybenzene), which thus improves previous procedures.

Pd/C was purchased from Acros (palladium on activated carbon unreduced 10%; specific area: 800 m²/g; particle size distribution: 90% < 90 μm). Reactions were monitored by TLC using Al-backed silica gel plates (Merck, Kieselgel 60 PF₂₅₄); TLC spots were visualized under UV light and after spraying with 5% phosphomolybdic acid-EtOH followed by heating. NMR spectra were recorded on a Bruker Avance 300.12 spectrometer operating at 300.12 MHz (¹H) and 75.47 MHz (¹³C); internal standards (δ[¹H] CHCl₃ = 7.26; δ[¹³C] CDCl₃ = 77.0). Elemental analyses were performed by the Service de Micro-Analyses, Département de Chimie Moléculaire, Grenoble.

1,4-Dimethoxy-2,3-dinitrobenzene (**3**) and 1,4-Dimethoxy-2,5-dinitrobenzene (**4**)

The nitration of 1,4-dimethoxybenzene was carried out according to ref. 2; crystallization (AcOH) afforded a mixture of **3** and **4** in 91:9 ratio.

ortho-Isomer **3**

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.92 (s, 6 H, OCH₃), 7.21 (s, 2 H, H₂, H₃).

para-Isomer **4**

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.97 (s, 6 H, OCH₃), 7.56 (s, 2 H, H₂, H₅).

3,6-Dimethoxybenzene-1,2-diamine (**1**)

The above mixture of **3** and **4** (4 g, 17.5 mmol) in EtOAc (80 mL) was stirred under a H₂ atmosphere (balloon) in the presence of 10% Pd/C (0.4 g) until the soln became colorless (2–3 d), at which stage TLC analysis or ¹H NMR showed the absence of intermediate **5** [*R_f* = 0.71, CH₂Cl₂, orange spot; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.82 (2 s, 6 H, CH₃), 5.35 (br s, 2 H, NH₂), 6.16 (d, *J* = 8.9 Hz, 1 H, H₄), 6.74 (d, *J* = 8.9 Hz, 1 H, H₅)]. After filtration over a short pad of Celite and rinsing with a small amount of EtOAc (10 mL), the volatiles were removed under reduced pressure to afford **1** as the sole product (2.44 g, 83%, 96% based on **3**); **1** was flushed with argon and used immediately in the next step; mp 73–74 °C.¹⁰

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.50 (br s, NH₂), 3.81 (s, 6 H, OCH₃), 6.31 (s, 2 H, H₄, H₅).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 55.9, 100.6, 124.6, 143.1.

4,7-Dimethoxy-2-methyl-1H-benzimidazole (**2**)

Argon was bubbled with stirring for 30 min through distilled AcOH (80 mL); this was then added to freshly prepared **1** (2.44 g, 12.7 mmol) and the soln was stirred under argon at 110 °C for 15 h; after removal of AcOH acid under reduced pressure, co-evaporation with toluene was performed twice; the residue was then washed with Et₂O to afford pure **2** (2.52 g, 96%); mp 210 °C (dec) (EtOH) (Lit.^{4a} 224–226 °C).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.62 (s, 3 H, 2-CH₃), 3.91 (s, 6 H, OCH₃), 6.54 (s, 2 H, H₄, H₅), 6.70 (br s, NH).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 14.6, 55.9, 102.4, 129.9, 142.6, 149.4.

Anal. Calcd for C₁₀H₁₂N₂O₂: C, 62.25; H, 6.29; N, 14.58. Found: C, 61.97; H, 6.42, N, 14.78.

Acknowledgment

T.B. is grateful to the French 'Ministère de l'Éducation Nationale, de la Recherche et de la Technologie' for a doctoral fellowship.

References

- (1) Nishida, J.; Naraso, M. S.; Fujiwara, E.; Tada, H.; Tomura, M.; Yamashita, Y. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2007.
- (2) Hammershoej, P.; Reenberg, T. K.; Pittelkow, M.; Nielsen, C. B.; Hammerich, O.; Christensen, J. B. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2786.
- (3) (a) King, F. E.; Clark, N. G.; Davis, P. M. H. *J. Chem. Soc.* **1949**, 3012. (b) Mitra, G. K.; Pathak, B. C. *J. Indian Chem. Soc.* **1978**, *55*, 422. (c) Shaikh, I. A.; Johnson, F.; Grollman, A. P. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 1329. (d) Bock, H.; Dickmann, P.; Herrmann, H.-F. *Z. Naturforsch., B: Chem. Sci.* **1991**, *46*, 326. (e) Ahmad, A. R.; Mehta, L. K.; Parrick, J. J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1996**, 2443. (f) Bu, X.-H.; Liu, H.; Du, M.; Wong, K. M.-C.; Yam, V. W.-W.; Shionoya, M. *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 4143. (g) Lion, C.; Baudry, R.; Hedayatullah, M.; da Conceicao, L.; Genard, S.; Maignan, J. J. *Heterocycl. Chem.* **2002**, *39*, 125. (h) Morin, C.; Besset, T.; Moutet, J.-C.; Fayolle, M.; Brückner, M.; Limosin, D.; Becker, K.; Davioud-Charvet, E. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 2731.
- (4) (a) Weinberger, L.; Day, A. R. *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 1451. (b) Taffs, K. H.; Posser, L. V.; Wigton, F. B.; Joullié, M. M. *J. Org. Chem.* **1961**, *26*, 462. (c) Zakhs, E. R.; Efros, L. R. *Zh. Org. Khim.* **1966**, *2*, 1095. (d) Grinev, A. N.; Zotova, S. A. A.; Bogdanova, N. S.; Nikolaeva, I. S.; Pershin, G. N. *Khim.-Farm. Zh.* **1974**, *8*, 5; *Chem. Abstr.* **1974**, *81*, 25605. (e) Shaikh, I. A.; Johnson, F.; Grollman, A. P. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 329. (f) Narayan, S.; Kumar, V.; Pujari, H. K. *Indian J. Chem., Sect. B: Org. Chem. Incl. Med. Chem.* **1986**, *25*, 267. (g) Antonini, I.; Claudi, F.; Cristalli, G.; Franchetti, P.; Grifantini, M.; Martelli, S. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 260. (h) Flader, C.; Liu, J.; Borch, R. F. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3157. (i) Garuti, L.; Roberti, M.; Pession, A.; Leoncini, E.; Hrelia, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 3147. (j) Alvarez, F.; Gherardi, A.; Nebois, P.; Sarciron, M.-E.; Petavy, A.-F.; Walchofer, N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 977. (k) Ryu, C.-K.; Song, E.-H.; Shim, J.-Y.; You, H.-J.; Choi, K. U.; Choi, I. H. K.; Lee, E. Y.; Chae, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 17. (l) Hong, S.-Y.; Chung, K.-H.; You, H.-J.; Choi, I. H.; Chae, M. J.; Han, S. Y.; Jung, O.-J.; Kang, S.-O.; Ryu, C.-K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 3563. (m) Garuti, L.; Roberti, M.; Pizzirani, D.; Pession, A.; Leoncini, E.; Cenici, V.; Hrelia, S. *Farmaco* **2004**, *59*, 663. (n) O'Shaughnessy, J.; Aldabbagh, F. *Synthesis* **2005**, 1069. (o) Lavergne, O.; Fernandes, A.-C.; Brehu, L.; Sidhu, A.; Brezak, M.-C.; Prevost, G.; Ducommun, B.; Contour-Galceran, M.-O. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 171. (p) Taleb, A.; Alvarez, F.; Nebois, P.; Walschofer, N. *Heterocycl. Commun.* **2006**, *12*, 111. (q) Chung, K.-W.; Hong, S.-Y.; You, H.-J.; Park, R.-E.; Ryu, C.-K. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 5795. (r) Ryu, C.-K.; Lee, R.-Y.; Lee, S.-Y.; Chung, H.-J.; Lee, S. K.; Chung, K.-H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 2948. (s) For closely related analogues see: Newsome, J. F.; Colucci, M. A.; Hassani, M.; Beal, H. W.; Moody, C. J. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 3665.

- (5) (a) Warren, J. D.; Lee, V. J.; Angier, R. B. *J. Heterocycl. Chem.* **1979**, *16*, 1617. (b) Dzieduszycka, M.; Stefanska, B.; Martelli, S.; Bontemps-Gracz, M.; Borowski, E. *Eur. J. Med. Chem.* **1994**, *29*, 561.
- (6) Nietski, R.; Regberg, F. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1890**, *23*, 1212.
- (7) Kawai, S.; Kosaka, J.; Hatano, M. *Proc. Jpn. Acad.* **1954**, *30*, 774.
- (8) Ref. 7 reads that this is a co-crystallization process and that, provided there are no 'small aggregates', the separation of 'rhombic plates' from 'long columns' can be effected by hand.
- (9) The ratio of isomers is determined by relative integration in ^1H NMR spectra, for data see experimental.
- (10) The mp recorded for this material is in the range of literature values (68–70 °C,^{4e} 75 °C,² 85–87 °C^{3a}). Note that this material is labile: darkening with time of this electron-rich diamine has been noted previously and we found experimentally that even after minimal exposure to air, **1** became unreactive.
- (11) A H_2 -filled balloon is used, monitoring of the reaction can be performed by TLC or NMR (for data see experimental) but, most simply, it can be done by visual inspection as the mixture becomes colorless when reaction is complete.
- (12) Hydrogenation of a 6:4 mixture of **3** and **4** was performed under the same protocol and, here also, only diamine **1** is isolated (51% yield; 85% based on **3**).
- (13) When the Celite pad was thoroughly washed with MeOH, 2,5-dimethoxybenzene-1,4-diamine was obtained together with minor unidentified material. The 2,5-dimethoxybenzene-1,4-diamine was identified spectroscopically, see: Miller, S. E.; Lukas, A. S.; Marsh, E.; Bushard, P.; Wasielewski, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7802.
- (14) Phillips, M. A. *J. Chem. Soc.* **1928**, 2393.
- (15) Impure **2** could not be freed from byproducts by crystallization or by chromatography, which furthermore led to severe losses of material.
- (16) (a) Gum, W. F. Jr.; Joullié, M. M. *J. Org. Chem.* **1967**, *32*, 53. (b) Fisher, G. H.; Moreno, H. R.; Oatis, J. E. Jr.; Schultz, H. P. *J. Med. Chem.* **1975**, *18*, 746. (c) Dwyer, C. L.; Holzapfel, C. W. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 7843. (d) Nose, M.; Suzuki, H. *Synthesis* **2000**, 1539. (e) Wu, J.; Fang, F.; Lu, W.-Y.; Hou, J.-L.; Li, C.; Wu, Z.-Q.; Jiang, X.-K.; Li, Z.-T.; Yu, Y.-H. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 2897. (f) Mascal, M.; Yin, L.; Edwards, R.; Jarosh, M. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 6148.

Synthèse d'un podocarpane fonctionnalisé et préparation d'hétéroquinones pour l'inhibition de phosphatases et de réductases

Résumé

Le travail présenté dans ce mémoire a pour thème central la synthèse de nouvelles quinones, et plus spécialement des terpénylquinones et des hétéroquinones, composés bien connus pour avoir des propriétés biologiques intéressantes. Dans une première partie, la synthèse d'un podocarpane fonctionnalisé, intermédiaire avancé vers l'accès de terpénylquinones naturelles comme le célaphanol A, est présentée. La seconde partie, qui a été consacrée à la synthèse d'hétéroquinones, s'articule autour de deux axes, la préparation d'hétéroquinones substituées par deux chaînes thioalkyles d'une part et la synthèse d'hétéroquinones possédant une activité antipaludique d'autre part. Les produits obtenus dans le cadre du premier axe ont été testés en tant qu'agents anticancéreux (inhibiteurs de phosphatases CDC25), et l'évaluation de l'activité biologique des hétéroquinones comme agents antipaludiques nous a permis d'identifier le meilleur substrat qui a été couplé avec un dérivé terpénique.

Mots clés : terpénylquinones, podocarpanes, célaphanol A, hétéroquinones, thioalkylation, phosphatases CDC25, glutathiones et thiorédoxines réductases.

Synthesis of a functionalized podocarpane and preparation of heteroquinones as phosphatases and reductases inhibitors.

Abstract

The main subject of this presented thesis deals with the synthesis of new quinones, especially terpenylquinones and heteroquinones, compounds that are known to have interesting biological properties. The first part concerns the preparation of a functionalized podocarpane, a key intermediate in the synthesis of natural compounds like celaphanol A. The second part deals with the preparation of heteroquinones and it is divided in two subparts: the synthesis of thioalkylated heteroquinones and the preparation of heteroquinones with antimalarial activity. The thioalkylated compounds were tested as potential anticancer drugs (inhibition of CDC25 phosphatases) and the evaluation of the biological activity of the antimalarial quinones allowed the identification of a key compound that was coupled with a terpenic derivative.

Keywords : terpenylquinones, podocarpane, celaphanol A, heteroquinones, thioalkylation, CDC25 phosphatases, glutathione et thioredoxine reductases.

