



HAL
open science

Synthèse et Evaluation de nouveau agents de protection contre les rayonnements ionisants

Brice Nadal

► **To cite this version:**

Brice Nadal. Synthèse et Evaluation de nouveau agents de protection contre les rayonnements ionisants. Chimie. Université Paris Sud - Paris XI, 2009. Français. NNT : . tel-00447089

HAL Id: tel-00447089

<https://theses.hal.science/tel-00447089>

Submitted on 14 Jan 2010

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.

N° D'ORDRE : 9602

UNIVERSITÉ PARIS SUD XI
FACULTÉ DES SCIENCES D'ORSAY

THÈSE DE DOCTORAT

Présentée en vue de l'obtention du grade de

DOCTEUR EN SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ PARIS SUD XI
Spécialité Chimie Organique

Par

Brice NADAL

Ingénieur CPE Lyon

**Synthèse et évaluation de nouveaux agents de protection contre les
rayonnements ionisants**

Soutenu le 29 octobre 2009 devant la commission d'examen :

Professeur Cyrille Kouklovsky
Docteur Paul-Henri Ducrot
Professeur Olivier Piva
Docteur Claude Lion
Docteur Pierre Bischoff
Docteur Thierry Le Gall

Président
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Directeur de thèse

N° D'ORDRE : 9602

UNIVERSITÉ PARIS SUD XI
FACULTÉ DES SCIENCES D'ORSAY

THÈSE DE DOCTORAT

Présentée en vue de l'obtention du grade de

DOCTEUR EN SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ PARIS SUD XI
Spécialité Chimie Organique

Par

Brice NADAL

Ingénieur CPE Lyon

**Synthèse et évaluation de nouveaux agents de protection contre les
rayonnements ionisants**

Soutenue le 29 octobre 2009 devant la commission d'examen :

Professeur Cyrille Kouklovsky
Docteur Paul-Henri Ducrot
Professeur Olivier Piva
Docteur Claude Lion
Docteur Pierre Bischoff
Docteur Thierry Le Gall

Président
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Directeur de thèse

Ce travail de thèse a été financé par la Direction Générale pour l'Armement. Il a été réalisé au CEA de Saclay, dans le Service de Chimie Bioorganique et de Marquage (SCBM) de l'Institut de Biologie et de Technologies de Saclay (iBiTec-S) au sein de la Direction des Sciences du Vivant (DSV).

Remerciements

Je voudrais en premier lieu remercier le Dr Thierry Le Gall pour la confiance qu'il m'a accordée en m'intégrant dans son équipe. Ses qualités scientifiques et sa passion pour la chimie m'ont permis de mener à bien ce travail de thèse.

Je tiens à exprimer ma gratitude au Pr Cyrille Kouklovsky, au Dr Paul-Henri Ducrot, au Pr Olivier Piva, au Dr Claude Lion et au Dr Pierre Bischoff pour avoir accepté de juger ce travail.

Mes remerciements s'adressent aussi au Dr Bernard Rousseau, responsable du SCBM, pour m'avoir accueilli au sein de son service mais également pour ses conseils et sa disponibilité.

Je tiens à exprimer ma gratitude à tous ceux qui ont contribué au bon déroulement scientifique de ce travail. Je tiens plus particulièrement à remercier le Dr Stéphane Meunier de l'Université de Strasbourg et Marie-Claire Nevers du Service de Pharmacologie et d'Immunologie pour leur patience et leur aide mais également pour m'avoir initié aux dosages immuno-enzymatiques.

Je remercie le Dr Serge Pin et le Dr Jean-Philippe Renault du Laboratoire de Radiolyse pour leurs conseils, leurs contributions ainsi que pour nos nombreuses discussions sur les tests biologiques sous irradiations.

Un grand merci au Dr Pierre Bischoff, au Dr Damien Habrant, à Antoine Le Roux de l'Université de Strasbourg, au Dr Ghassoub Rima et à Damien Cressier de l'Université de Toulouse pour les tests antioxydants et les études de radioprotection.

Je remercie Hélène pour son travail rigoureux, sa persévérance et son courage. Merci à Sophie pour son aide pour la synthèse de composés et pour la réalisation de tests antioxydants.

Je tiens à remercier Elisabeth Zekri, Estelle Léonce, David Buisson du service d'analyse pour leur aide au bon déroulement de ce projet.

Un très grand merci à Aurélie qui a été d'un grand soutien au labo pendant mes deux premières années de thèse dans les moments difficiles où la chimie ne marchait pas ... Et merci Delphine d'avoir pris le relais pendant cette dernière année. Nous avons beaucoup discuté ces derniers mois et ton amitié m'a permis de tenir le coup dans des moments difficiles.

Je remercie chaleureusement tous les permanents, thésards, post-docs et stagiaires de la « Recherche » que j'ai rencontrés pendant ces trois années et plus particulièrement Yves, Marie, Xavier, Julien C., Julien R., Fanny, Véro ... pour l'ambiance agréable qui régnait dans le laboratoire.

Je tiens également à adresser mes remerciements à tous mes collègues des labos tritium, ^{14}C et de la combi pour leur accueil sympathique et leurs soutiens occasionnels. Je remercie également Chantal et Eric Le Gallo.

Je souhaite remercier toutes les personnes d'Eurisotop pour leur bonne humeur et tous les petits services qu'ils peuvent nous rendre : Fredo, Yannick, Géraldine, Fredy ainsi qu'Alain Valleix et tous les autres.

Je remercie chaleureusement ma famille sans qui tout cela n'aurait été possible et tout particulièrement mes parents, mes frères et mes grands-parents. Je souhaite également remercier Françoise et Yves pour m'avoir chaleureusement accueilli et soutenu.

Enfin, un grand merci à Caro pour m'avoir accompagné et encouragé pendant ces dernières années. Ta présence et ton soutien au quotidien sont d'un grand réconfort et me permettent d'avancer.

Abréviations

A

AAPH : dichlorhydrate de 2,2'-azobis-2-méthyl-propanimidamide

ABTS : acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

Ac : acétyle

AChE : acétylcholinestérase

ADN : acide désoxyribonucléique

AIBN : azobis(isobutyronitrile)

AMT : 3'-amino-3'-déoxythymidine

Ar : aryle

ARP : pouvoir antiradicalaire

B

BER : excision de bases

BHA : 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole

Bn : benzyle

Boc : *tert*-butoxycarbonyle

B-PE : B-phycoérythrine

BSA : albumine sérique bovine

Bu : butyle

C

CAN : nitrate de cérium ammoniacal

CAS : anticorps polyclonal de chèvre anti-immunoglobulines de souris

CCM : chromatographie sur couche mince

CEA : Commissariat à l'Energie Atomique

CNRS : Centre National de la Recherche Scientifique

CUPRAC : cupric reducing antioxidant capacity

D

DBN : 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-ène

DBU : 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène

DCC : *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide

DGA : Direction Générale pour l'Armement

DL : dose létale

DMAP : 4-(diméthylamino)pyridine

DMF : *N,N*-diméthylformamide

DMPU : 1,3-diméthyl-3,4,5,6-tétrahydro-2(1*H*)-pyrimidinone

DMSO : diméthylsulfoxyde

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

DTNB : 5,5'-dithiobis(acide 2-nitrobenzoïque)

E

EAO : espèces activées de l'oxygène

ED : dose efficace

EDC : 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide

EDTA : acide éthylènediaminetétraacétique

Abréviations

EIA : dosage immuno-enzymatique
éq. : équivalent
ESI : ionisation par électrospray
Et : éthyle

F

FDA : Food and Drug Administration
FRAP : ferric reducing antioxidant power

G

Gp : groupement protecteur

H

HMBC : corrélation hétéronucléaire à longues distances
HR : réparation par recombinaison homologue
HRMS : spectrométrie de masse à haute résolution
HSQC : corrélation hétéronucléaire à simple quantum

I

ID : dose infectieuse
Ig : immunoglobuline
IR : infrarouge
IRAMIS : Institut Rayonnement et Matière de Saclay

K

KMBA : acide 2-céto-4-méthiobutyrique

L

LDA : diisopropylamide de lithium
LICA : *N*-cyclohexyl-*N*-isopropylamide de lithium
LiHMDS : bis(triméthylsilyl)amide de lithium
Litt. : littérature
LNS : liaison non spécifique

M

MDA : malonaldéhyde
Me : méthyle
Ms : méthanesulfonyle
MS : spectrométrie de masse

N

NBS : *N*-bromosuccinimide
NER : excision de nucléotides
NHEJ : réparation par religation non homologue
NIS : *N*-iodosuccinimide

O

ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity

P

PBS : Phosphate Buffered Saline

Ph : phényle

ppm : partie par million

PROPERGAL : PROtection du PERsonnel – Nouvelle formulation GALénique

R

rdt : rendement

R_f : rapport frontal

RMN : résonance magnétique nucléaire

RPE : résonance paramagnétique électronique

S

SBIGeM : Service de Biologie Intégrative et Génétique Moléculaire

SCBM : Service de Chimie Bioorganique et de Marquage

SIS2M : Service Interdisciplinaire sur les Systèmes Moléculaires et les Matériaux

SOD : superoxyde dismutase

SPI : Service de Pharmacologie et d'Immunoanalyse

T

t.a. : température ambiante

TBA : acide thiobarbiturique

TBAF : fluorure de tétrabutylammonium

t-Bu : *tert*-butyle

Tf : triflate

TFA : acide trifluoroacétique

TFAA : anhydride trifluoroacétique

THF : tétrahydrofurane

TMS : triméthylsilyle

TOF : temps de vol

TOSC : Total Oxyradical Scavenging Capacity

TRAP : Total Radical trapping Antioxidant Parameter

Ts : tosyle

U

UAF : unité arbitraire de fluorescence

UV : ultraviolet

Sommaire

Introduction générale.....	1
Chapitre 1 : Les rayonnements ionisants : effet et protection.....	5
I. Les rayonnements ionisants.....	5
1. Définition.....	5
2. Interaction avec la matière.....	6
3. Utilisation des rayonnements ionisants.....	7
II. Effets des rayonnements ionisants sur l'organisme.....	8
1. Génération des espèces activées de l'oxygène (EAO).....	8
2. Effets des EAO sur les constituants cellulaires.....	11
3. Pathologies associées aux rayonnements ionisants.....	16
III. Les défenses naturelles contre les rayonnements ionisants.....	18
1. Les défenses endogènes.....	18
2. Les défenses exogènes.....	20
IV. Les agents radioprotecteurs.....	23
1. Les composés soufrés.....	23
2. Les nitroxydes.....	24
3. Les bis(benzimidazoles).....	25
4. Les superoxyde dismutases et les complexes métalliques.....	25
5. Les cytokines.....	26
6. Les immunomodulateurs.....	27
7. Les complexes organométalliques.....	27
8. Les radioprotecteurs naturels.....	28
V. Conclusions.....	29
Chapitre 2 : Acides pulviniques : aspects biologiques et synthétiques.....	31
I. Les acides pulviniques.....	31
1. Généralités.....	31
2. Biosynthèse des acides pulviniques.....	33
II. Synthèses des acides pulviniques : rappels bibliographiques.....	34
1. Ouverture d'une bis(lactone) pulvinique.....	34
2. Utilisation d'un anhydride maléique.....	37
3. Cyclisation de Dieckmann.....	40
4. Utilisation d'une dioxolanone.....	41
5. Réaction de dérivés silylés.....	41
6. Utilisation d'un acide tétronique.....	43
III. Propriétés biologiques.....	45
1. Activités biologiques décrites dans la littérature.....	45
2. Etudes antioxydantes réalisées au laboratoire.....	47
IV. Conclusion et objectifs du travail.....	53
Chapitre 3 : Synthèse d'analogues d'acides pulviniques.....	55
I. Première approche : addition d'un acide tétronique.....	55
1. Etude rétrosynthétique.....	56
2. Synthèse du synthon commun 90	56
II. Deuxième approche : utilisation du tartrate de diméthyle.....	59
1. Etude rétrosynthétique.....	59
2. Rappels sur la cyclisation de Dieckmann.....	60
3. Cyclisation du O-acétyltartrate de diméthyle.....	62
4. Synthèse de dérivés pulviniques monosubstitués.....	64
5. Synthèse des pulvinales de méthyle.....	71
III. Synthèse d'un dérivé pulvinamide.....	76
IV. Conclusion et perspectives.....	78

Chapitre 4 : Synthèse de pulvinones.....	79
I. Les pulvinones.....	79
1. Généralités	79
2. Synthèse de pulvinones dans la littérature.....	80
II. Application de notre stratégie à la synthèse de pulvinones	86
1. Etude rétrosynthétique.....	87
2. Préparation d'époxyde par la réaction de Darzens	88
3. Ouverture de l'époxyde	89
4. Réaction d'estérification.....	90
5. Déprotection de l'éther allylique.....	92
6. Synthèse des pulvinones par un processus tandem.....	93
III. Conclusion et perspectives	97
Chapitre 5 : Synthèse d'acides 3-aryltétramiques.....	99
I. Les acides tétramiques	99
1. Présentation.....	99
2. Synthèses d'acides tétramiques dans la littérature.....	101
II. Synthèse d'acides 3-aryltétramiques par un processus tandem.....	104
1. Travaux préliminaires	105
2. Préparation d'acides tétramiques N-2,4-diméthoxybenzylés	107
3. Déprotection des acides tétramiques.....	108
4. Synthèse d'un acide tétramique bicyclique.....	109
III. Conclusion.....	110
Chapitre 6 : Evaluation des propriétés antioxydantes et radioprotectrices.....	111
I. Tests d'activité antioxydante <i>in vitro</i>	112
1. TRAP (Total Radical Trapping Antioxidant Parameter).....	112
2. ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity).....	112
3. TOSC (Total Oxyradical Scavenging Capacity).....	113
4. FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	113
5. Folin-Ciocalteu TPC (Total phenolic content).....	114
6. Test à l'acide thiobarbiturique (TBA)	114
7. Spectrométrie RPE (résonance paramagnétique électronique).....	115
8. Test 3D	115
9. Test Comète	116
10. Test de protection de l'ADN.....	117
II. Evaluations antioxydantes réalisées	119
1. Test par capture du radical DPPH.....	119
2. Test de protection de la thymidine.....	125
3. Test à l'ABTS.....	134
4. Etude de la peroxydation lipidique.....	139
5. Conclusion : bilan des évaluations antioxydantes.....	143
III. Evaluation de l'activité radioprotectrice	145
1. Etude sur des cellules TK6	145
2. Etude de radioprotection sur souris	151
IV. Conclusion.....	153
Conclusion générale	155
Partie expérimentale : synthèses chimiques.....	159
Partie expérimentale : évaluations biologiques	249
Références bibliographiques	255

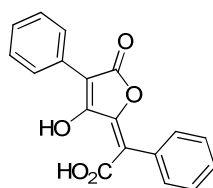
Introduction générale

Les rayonnements ionisants sont présents partout dans l'univers. Ils proviennent par exemple de l'espace ou des radio-isotopes naturels. Aucun être vivant ne peut y échapper. Cependant, avant la découverte des rayons X par Röntgen en 1895 et de la radioactivité en 1896 par Becquerel, les effets biologiques des rayonnements étaient méconnus. Très rapidement après ces découvertes, les effets des rayonnements ionisants sur les organismes vivants ont été observés. De nos jours, ces effets sont bien connus, tant par leur nature que par leur gravité.

Pourtant, même si les rayonnements ionisants peuvent être dommageables, leur utilisation est devenue de plus en plus fréquente et diversifiée depuis quelques dizaines d'années. L'uranium 235 est utilisé dans les centrales nucléaires pour produire de l'électricité. En médecine, les rayons X sont employés dans des méthodes de diagnostic (radiographie) et de traitement (radiothérapie). Des radioéléments sont également présents par exemple dans les balisages d'issues de secours et dans les détecteurs de fumée. Et de plus en plus de produits alimentaires sont stérilisés par exposition aux rayonnements issus du cobalt 60.

Du fait de ces nombreuses applications, les rayonnements ionisants et les éléments radioactifs améliorent notre vie quotidienne. Leur utilisation a engendré la nécessité de mettre en place des systèmes performants de protection contre les rayonnements. À l'heure actuelle, la radioprotection repose essentiellement sur des moyens physiques. Ces méthodes visent à réduire au maximum les doses reçues en s'éloignant le plus possible de la source de rayonnement, en se munissant d'écrans de protection et en diminuant la durée d'exposition. Cependant, ces techniques ne sont pas applicables en cas d'exposition accidentelle à des radiations ou lors des traitements de cancers par radiothérapie. Un radioprotecteur chimique capable de diminuer les effets des rayonnements ionisants pourrait donc être utile lorsque des moyens de protection physiques ne sont pas adéquats.

Récemment, un criblage à haut débit réalisé au laboratoire a permis de mettre en évidence les propriétés antioxydantes de dérivés de l'acide pulvinique, un pigment de champignons de la famille des bolets. Grâce à leur aptitude à capturer les radicaux libres, les antioxydants peuvent en principe être utilisés comme agents de protection contre les rayonnements ionisants. Ce travail de thèse s'inscrit dans un programme de recherche qui vise à développer un nouveau radioprotecteur à partir de la famille des acides pulviniques.



acide pulvinique



Pulveroboletus ravenelii

Figure 1

Dans un premier chapitre, les rayonnements ionisants et leurs effets biologiques seront présentés. Nous détaillerons également les pathologies associées aux rayonnements et les mécanismes naturels mis en place par l'organisme pour diminuer les effets des irradiations. Enfin, un rappel bibliographique sur les radioprotecteurs chimiques existants clôturera ce chapitre.

La seconde partie sera consacrée aux acides pulviniques, plus précisément à l'étude bibliographique des synthèses existantes et à la description de leurs propriétés biologiques. Nous résumerons également les études déjà effectuées au laboratoire sur cette famille de composés afin de développer de nouveaux radioprotecteurs.

Dans les troisième, quatrième et cinquième chapitres, les stratégies de synthèse mises en œuvre pour accéder à de nouveaux analogues des acides pulviniques seront exposées. Nous verrons notamment, dans le troisième chapitre, comment une voie de synthèse nous a permis de préparer trois familles de dérivés pulviniques différentes (Figure 2). Le quatrième chapitre sera axé sur la préparation d'autres pigments de champignons apparentés aux acides pulviniques, les pulvinones. Dans le chapitre cinq, des travaux préliminaires sur la synthèse de dérivés pulviniques azotés seront énoncés et la synthèse d'acides 3-aryltétramiques sera présentée.

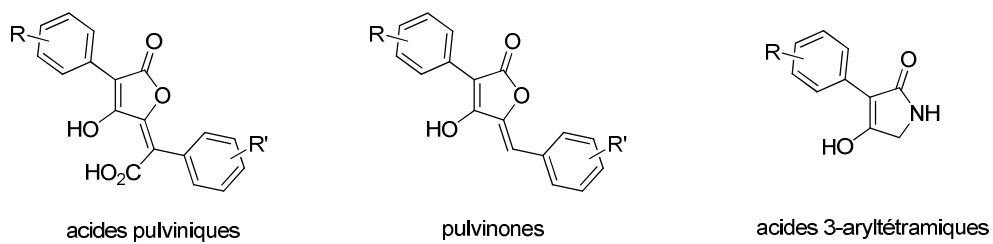


Figure 2

Enfin, dans la dernière partie, les méthodes les plus employées pour évaluer les propriétés antioxydantes de molécules diverses seront tout d'abord décrites. Puis, nous présenterons les études menées sur les composés synthétisés afin d'évaluer leurs propriétés antioxydantes et radioprotectrices.

Chapitre 1 : Les rayonnements ionisants : effet et protection

Depuis son apparition sur Terre, l'homme, comme les autres êtres vivants, est exposé à des rayonnements (Figure 3). Ces rayonnements proviennent notamment de l'espace, du soleil ou bien de son environnement. Le développement technologique a également engendré l'apparition de nouveaux rayonnements tels que les ondes radio. Cependant, tous les rayonnements perçus par l'homme n'ont pas le même impact sur sa santé, tout dépend de leur énergie.

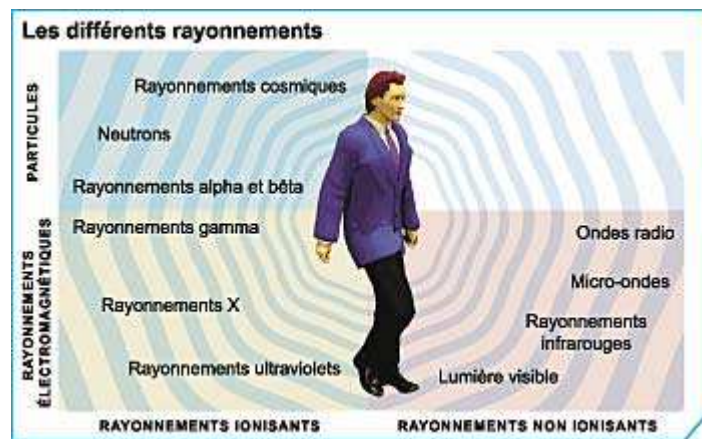


Figure 3

I. Les rayonnements ionisants

1. Définition¹

Un rayonnement ionisant est une particule ou une onde électromagnétique dont l'énergie est suffisante pour arracher un électron à un atome ou à une molécule. Un rayonnement est considéré comme ionisant lorsque son énergie est supérieure ou égale à 10 keV. Les rayonnements ionisants regroupent :

Les rayonnements cosmiques : On appelle rayonnement cosmique un flux de particules, principalement des protons, d'origine solaire ou galactique. Ces protons de haute énergie (de l'ordre du GeV) entrent en collision avec les noyaux des atomes de l'atmosphère

¹ Cherry Jr. R. N. *Les Rayonnements Ionisants, Encyclopédie de Sécurité et de Santé au Travail*, 3ème édition, 2000, chapitre 48.

et créent des fragments eux-mêmes dotés d'une énergie élevée (protons, neutrons, muons, neutrinos, mésons, ...).

Les particules α : Les particules α sont issues d'une désintégration α d'un noyau. Ces particules sont émises à une vitesse avoisinant les 20 000 km/s. Elles sont constituées de deux protons et de deux neutrons et correspondent donc à un noyau d'hélium chargé positivement (He^{2+}).

Les particules β : Il existe deux types de particules β , la particule β^- qui correspond à un électron et la particule β^+ qui correspond à un positon. Elles sont toutes deux issues d'une désintégration β d'un noyau.

Les rayons X et γ : Les rayons X et γ sont des rayonnements électromagnétiques dont la longueur d'onde est inférieure à 10 nm. Les rayons X (λ de 5 pm à 10 nm) sont produits par certains changements d'orbite des électrons dans un noyau. Quant aux rayons γ ($\lambda < 5$ pm), ils sont souvent émis en même temps que des désintégrations α ou β .

Les neutrons libres : Les neutrons libres sont surtout présents dans les réacteurs nucléaires. Ils sont émis, par exemple, lors de la fission d'atomes d'uranium 235. Les neutrons sont également présents aux altitudes de vol des avions long courrier.

2. *Interaction avec la matière*

Du fait de leur énergie, les rayonnements ionisants sont pénétrants, c'est-à-dire qu'ils peuvent traverser la matière. Cependant, leur pouvoir de pénétration varie pour chacun d'entre eux. Ce pouvoir de pénétration dépend des processus d'ionisation et d'excitation lors d'interaction avec la matière.

2.1. Les particules chargées

Les particules chargées, particules α et rayonnements β , sont des rayonnements directement ionisants. Les rayonnements de ce type agissent sur la matière en vertu de la loi de Coulomb, leur charge attirant ou repoussant les électrons qui gravitent autour des atomes.

La particule lourde α interagit principalement avec les électrons des atomes cibles. Très lourde, elle a une trajectoire rectiligne et très courte. Elle possède un pouvoir ionisant important et très dangereux mais elle est très facilement arrêtée, par quelques centimètres d'air ou une feuille de papier.

Les particules légères β^- interagissent également avec les électrons des atomes constituant le milieu traversé. Il en résulte soit une ionisation, soit une excitation de l'atome, en fonction de l'énergie transférée. Quant aux particules β^+ , à la fin de leur parcours, lorsqu'elles ont perdu

la totalité de leur énergie, elles s'associent avec un électron. Ce phénomène est appelé l'annihilation et il en résulte l'émission de deux rayonnements γ de 0,511 MeV émis dans deux directions opposées. Les particules β sont un peu plus pénétrantes que les particules α , mais elles sont tout de même arrêtées par quelques mètres d'air, une feuille d'aluminium ou bien du verre.

2.2. Les rayonnements électromagnétiques

Les rayonnements électromagnétiques, photons, constitués de particules neutres (rayons X et γ), sont des rayonnements indirectement ionisants. Leur interaction avec la matière peut provoquer une ionisation de trois manières différentes.

L'effet photoélectrique : ce phénomène intervient dans le cas de photons de faible énergie. Un photon entre en collision avec un électron et cède toute son énergie à l'atome. Un électron est alors expulsé pour évacuer l'excédent d'énergie sous forme d'énergie cinétique. Cette énergie est ensuite absorbée par le milieu par des phénomènes d'ionisation qui sont à l'origine des radiolésions.

L'effet Compton : les photons d'énergie intermédiaire agissent essentiellement par l'effet Compton. Un photon interagit avec un électron de faible énergie. Le photon poursuit sa course dans une direction différente et avec une énergie réduite. Quant à l'électron, il est expulsé dans une direction différente grâce à l'énergie absorbée.

Production de paires : La production de paires n'est possible que dans le cas de photons dont l'énergie est supérieure à 1,02 MeV. Le photon, en passant à proximité du noyau, est transformé en une paire électron-positon grâce au champ électrique intense. Ensuite, l'électron émis va directement ioniser le milieu alors que le positon va s'annihiler avec un électron et provoquer l'émission de deux rayons γ .

Les rayonnements X et γ ont un fort pouvoir de pénétration et peuvent traverser des centaines de mètres d'air. Une forte épaisseur de béton ou de plomb permet de s'en protéger.

3. Utilisation des rayonnements ionisants

Les rayonnements ionisants, lorsqu'ils sont bien maîtrisés, peuvent avoir de multiples applications, principalement regroupées dans deux domaines :

- **Le domaine médical :** les rayonnements ionisants sont utilisés pour les radiographies médicales et dentaires. Ils sont également appliqués lors de radiothérapies pour des traitements contre le cancer.

- **Le domaine industriel** : du fait de leur pénétration et de leur interaction avec la matière, les rayonnements ionisants sont utilisés dans divers appareillages (gammagraphie, radiographie X, jauges, détecteur de fumée...). Ils permettent également de stériliser certains aliments (radioconservation) ou du matériel médical. Enfin, les rayonnements ionisants permettent la production d'électricité dans les centrales nucléaires.

II. Effets des rayonnements ionisants sur l'organisme

Comme nous l'avons vu précédemment, les rayonnements ionisants ont suffisamment d'énergie pour provoquer l'expulsion d'électrons des atomes avec lesquels ils interagissent. Ainsi, en passant à travers les cellules vivantes, les rayonnements ionisants heurtent, de manière aléatoire, des atomes et des molécules, et donnent naissance à des ions et des radicaux libres. Les rayonnements ionisants peuvent agir sur le matériel biologique selon deux modes d'action bien distincts².

Les effets directs : les molécules biologiques sont attaquées directement par les rayonnements ionisants. Elles sont alors ionisées ou excitées et doivent évoluer pour retrouver leur stabilité. Mais cette perte d'énergie conduit souvent à des molécules endommagées.

Les effets indirects : les rayonnements ionisants interagissent avec les molécules d'eau présentes dans les tissus biologiques, ce qui aboutit à la formation de radicaux. Ce phénomène est appelé radiolyse de l'eau. Ensuite, ces espèces radicalaires attaquent les molécules biologiques.

Notre organisme est constitué principalement d'eau, de ce fait, les dégradations des biomolécules par les rayonnements ionisants sont provoquées essentiellement par des effets indirects. L'interaction des rayonnements ionisants avec les molécules d'eau engendre la formation d'espèces très réactives appelées espèces activées de l'oxygène (EAO).

1. Génération des espèces activées de l'oxygène (EAO)

Notre organisme produit en permanence des EAO pour son bon fonctionnement physiologique. En effet, ces espèces sont impliquées, par exemple, dans la régulation de l'apoptose et dans l'activation des réponses immunitaires ou des facteurs de transcription. En temps normal, les EAO sont régulées par notre organisme grâce à des défenses antioxydantes. Mais des facteurs extérieurs comme la pollution, le soleil, le tabagisme ou les rayonnements

² Spotheim-Maurizot M., Begusova M., Charlier M. *L'Actualité Chimique* **2003**, 269-270, 97-102.

ionisants provoquent une surproduction des EAO. À ce moment là, l'organisme n'arrive plus à les réguler et les conséquences peuvent être nombreuses et néfastes pour l'organisme.

1.1. Formation des radicaux libres³

Sous les effets des rayonnements ionisants, les molécules d'eau peuvent subir soit une ionisation, soit une excitation (Figure 4). Ces deux transformations se produisent à l'échelle du temps de la transition électronique (10^{-16} s)⁴. Cependant, l'excitation directe de l'eau est un processus mineur en comparaison avec celui de l'ionisation.

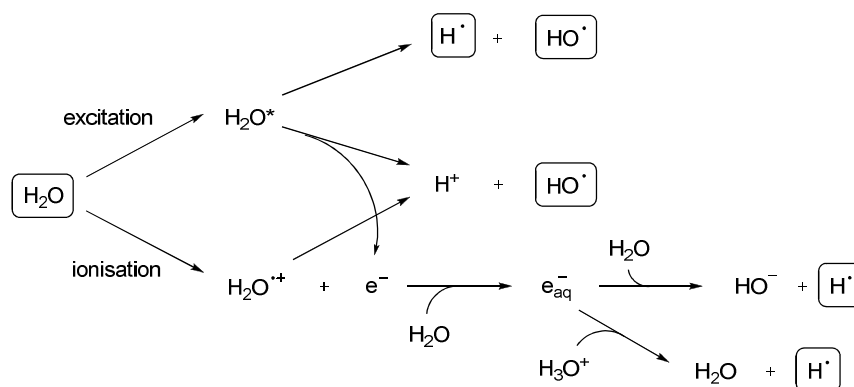


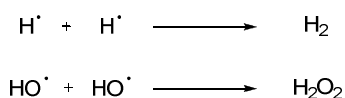
Figure 4

Le processus majoritaire, l'ionisation, engendre l'expulsion d'un électron et la formation du radical cation H_2O^+ . Cette espèce est extrêmement instable (durée de vie 10^{-10} s) et perd très rapidement un proton pour générer un radical hydroxyle.

Dans le cas du processus d'excitation, la molécule d'eau peut subir une coupure homolytique pour former le radical $H\cdot$ et le radical hydroxyle (après 10^{-13} s). Une seconde dissociation est envisageable par émission d'un électron et formation du radical hydroxyle et d'un proton.

Les électrons libérés dans le milieu sont piégés par des molécules d'eau et donnent des électrons aqueux (après 10^{-12} s). Parmi les molécules d'eau associées aux électrons aqueux, certaines d'entre elles vont se dissocier pour former des radicaux $H\cdot$.

Certains radicaux formés peuvent ensuite réagir entre eux pour donner des espèces neutres tels que l'hydrogène et le peroxyde d'hydrogène.



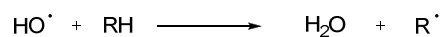
³ Breen A. P., Murphy J. A. *Free Rad. Biol. Med.* **1995**, 18, 1033-1077.

⁴ Buxton G. V. In *L'actualité chimique (livre), Radiation chemistry, from basics to applications in material and life sciences*, Spothem-Maurizot M., Mostafavi M., Douki T., Belloni J., EDP sciences: Les Ulis, 2008, pp 3-16.

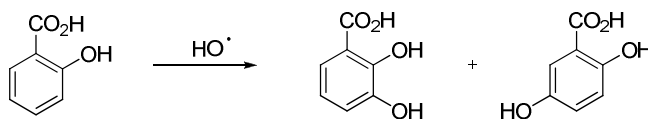
En résumé, la radiolyse de l'eau conduit très rapidement (environ 10^{-9} s) à une solution contenant des radicaux $\text{HO}\cdot$ et $\text{H}\cdot$ ainsi que des molécules d'hydrogène et de peroxyde d'hydrogène. Ces espèces vont ensuite diffuser dans le milieu et interagir avec les molécules environnantes. Cependant, biologiquement parlant, le radical hydroxyle est l'entité la plus active et va produire la majorité des lésions ou des modifications chimiques au niveau des constituants cellulaires.

Le radical hydroxyle est un agent oxydant puissant possédant une grande réactivité chimique et une durée de vie très courte. Ce radical attaque les lipides, les protéines, les sucres et l'acide désoxyribonucléique (ADN)⁵. Il va interagir avec ces biomolécules par différents processus, par exemple :

- Arrachement d'un atome d'hydrogène et formation d'un radical



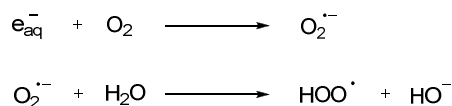
- Hydroxylation de noyaux aromatiques



- Addition sur des liaisons insaturées

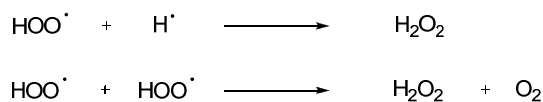
1.2. Effet de l'oxygène

La présence d'oxygène augmente les effets biologiques des rayonnements ionisants. Les mécanismes mis en jeu sont multiples et complexes, toutefois, l'oxygène peut réagir avec les espèces actives de l'oxygène formées par les rayonnements ionisants. Ainsi un électron aqueux, produit lors de la radiolyse de l'eau, peut interagir avec l'oxygène pour former l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ lequel peut réagir à son tour avec une molécule d'eau pour donner le radical $\text{HOO}\cdot$.



Le radical $\text{HOO}\cdot$ est un agent oxydant moins puissant que le radical hydroxyle mais sa durée de vie est plus grande donc il se diffuse plus dans l'organisme. Il entraîne également la formation de peroxyde d'hydrogène, toxique pour les cellules.

⁵ Fontecave M., Pierre J.-L. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1991**, 128, 505-520.



L'oxygène peut également réagir avec les radicaux libres organiques formés par le radical hydroxyle. Ces radicaux peroxydes sont très toxiques pour l'organisme puisqu'ils sont assez réactifs pour entretenir une séquence de peroxydation (Schéma 1).

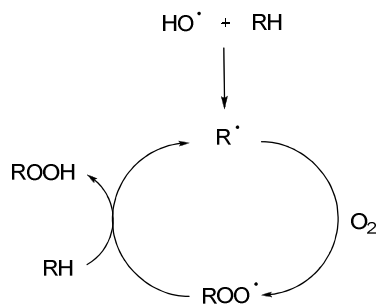


Schéma 1

Ainsi l'oxygène est un radiosensibilisateur puissant qui, présent au moment de l'irradiation, augmente les effets initiaux du radical hydroxyle et contribue à rendre les lésions moléculaires irréparables.

2. Effets des EAO sur les constituants cellulaires⁶

La production excessive de radicaux libres entraîne des dommages multiples dans l'organisme. Les premières conséquences sont des attaques directes du matériel biologique par les espèces activées de l'oxygène, ce qui provoque l'oxydation de l'ADN, des protéines et des lipides.

2.1. La peroxydation lipidique⁷

Les lipides constituent la matière grasse des êtres vivants. Ce sont des molécules hydrophobes principalement constituées de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Parmi les lipides, les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées du radical hydroxyle. Ces réactions radicalaires ont des conséquences néfastes sur le fonctionnement cellulaire. Un exemple de dégradation de lipide est représenté Schéma 2 avec le cas de l'acide arachidonique.

⁶ Favier A. *L'Actualité Chimique*, 2003, 269-270, 108-115.

⁷ Halliwell B., Gutteridge J. M. C. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Third edition, Oxford University Press, 1985.

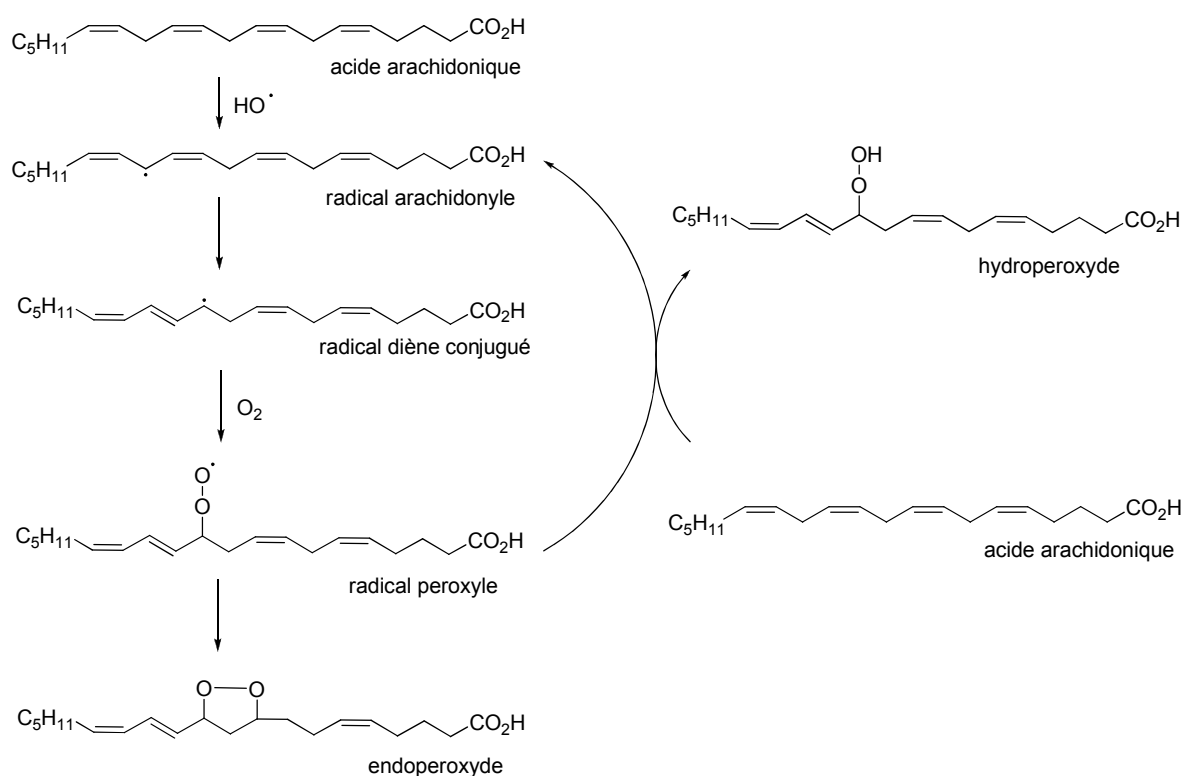


Schéma 2

Le radical hydroxyle peut arracher à l'acide arachidonique un hydrogène en position allylique pour former un radical arachidonyle. La persistance de ce radical lui permet d'évoluer puis de réagir avec l'oxygène, conduisant à un radical peroxy. Cette séquence est appelée peroxydation lipidique. Il s'agit d'une réaction en chaîne, puisque le radical peroxy obtenu peut réagir avec un autre acide gras et former à nouveau un radical diène conjugué.

Les radicaux peroxydes peuvent évoluer en peroxydes cycliques, qui subissent plusieurs transformations et peuvent libérer notamment des aldéhydes toxiques (malonaldéhyde, hydroxynonéal) et des alcanes ou des alcènes (éthane, pentane, éthylène). Ces dégradations de lipides par le radical hydroxyle concernent surtout les membranes lipidiques des cellules, mais aussi les lipoprotéines circulantes.

La réaction en chaîne de peroxydation lipidique peut-être stoppée par des molécules antioxydantes telles que la vitamine E⁸.

⁸ Devasagayam T. P. A., Tilak J. C., Bolor K. K., Sane K. S., Ghaskadbi S. S., Lele R. D. *J. Assoc. Physicians India* **2004**, 52, 794-804.

2.2. Dégradations de l'ADN

L'ADN est une molécule que l'on retrouve dans toutes nos cellules. Il renferme toutes les informations nécessaires au bon fonctionnement de notre organisme. Sa dégradation par des radicaux libres peut mener à des mutations ou bien à la mort cellulaire.

L'ADN est constitué de trois éléments liés entre eux : un groupement phosphate, un sucre (désoxyribose) et une base azotée. Il existe quatre bases azotées différentes (Figure 5) : la thymine, la cytosine, l'adénine et la guanine. Chaque base est fixée sur un désoxyribose qui est relié, quant à lui, à plusieurs phosphates. Cet enchaînement, aussi appelé nucléotide, est répété tout le long du brin d'ADN. La molécule d'ADN est constituée par deux brins se faisant face et reliés par des liaisons hydrogène. Ces liaisons faibles sont formées entre deux bases complémentaires (thymidine-adénine ou cytosine-guanine).

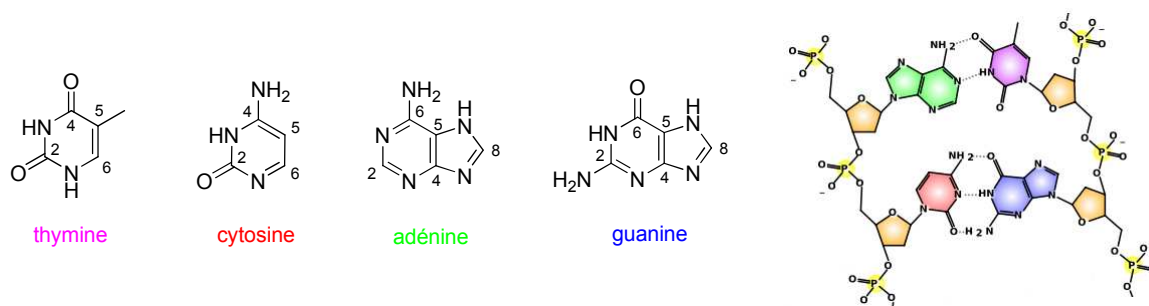


Figure 5

Les principaux dommages radio-induits de la molécule d'ADN sont des ruptures de chaînes ou bien des dégradations localisées.

Les cassures simple ou double brin sont consécutives à des ruptures de liaisons sucre-phosphate. La première étape de ces cassures est, par exemple, la capture d'un hydrogène du désoxyribose en position C_{4'} par le radical hydroxyle (Schéma 3)³. Les ruptures simple brin représentent une part importante des conséquences dues aux irradiations. Les cassures double brin sont plus rares puisqu'elles correspondent à deux ruptures de brins opposés, séparées de moins de dix paires de bases l'une de l'autre.

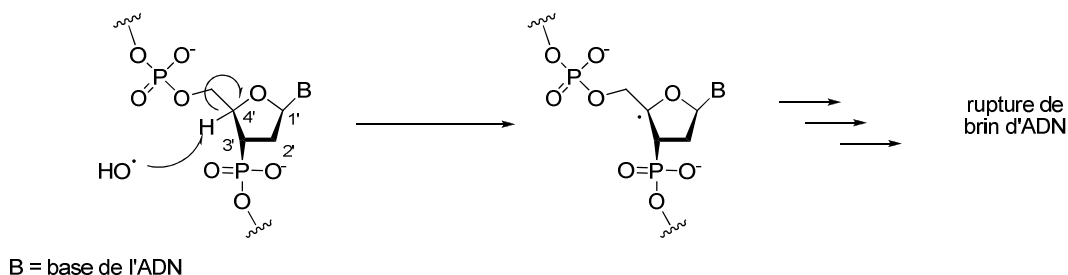


Schéma 3

Les dégradations localisées de l'ADN sont principalement des altérations des bases azotées. Ces dégradations résultent essentiellement de l'addition du radical hydroxyle sur les doubles liaisons des bases azotées. Les positions C₅ et C₆ des bases pyrimidiques (thymine, cytosine) et C₄ et C₈ des bases puriques (adénine, guanine) sont principalement atteintes. Les bases pyrimidiques sont les plus sensibles face à l'attaque des espèces actives de l'oxygène.

Cependant, au sein d'un organisme, l'ADN subit, quotidiennement, jusqu'à dix mille lésions d'origine chimique, radiative ou biologique. Par conséquent, notre organisme possède un système perfectionné de réparation de l'ADN. Plusieurs mécanismes existent pour faire face aux différentes modifications que l'ADN peut subir⁴.

Tout d'abord, des mécanismes d'excision sont mis en place lors d'altérations des bases ou bien lors de cassures simple brin. Ce type de procédé inclut l'excision de base (BER) et l'excision de nucléotides (NER). Ce mécanisme débute par la reconnaissance de la lésion, puis une phase d'excision permet de retirer, si nécessaire, le fragment d'ADN qui contient l'imperfection. Finalement, la réparation se termine par la resynthèse du fragment manquant et sa ligation au reste du brin d'ADN. Le mécanisme par excision de base est le procédé le plus employé pour la réparation des dommages de l'ADN causés par des rayonnements ionisants.

D'autres mécanismes existent également comme la réparation homologue (HR) ou la recombinaison non homologue (NHEJ). Ils sont employés, par exemple, lors de ruptures double brin. Mais ce type de procédé est beaucoup moins efficace que les mécanismes d'excision.

2.3. Dégradations des protéines⁷

Les protéines sont des macromolécules biologiquement très importantes, constituées d'une ou plusieurs chaînes d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques. Les protéines sont des éléments nécessaires à la vie des cellules, en effet elles assurent de nombreuses fonctions cellulaires. Les radicaux, issus des rayonnements ionisants, entraînent essentiellement des réactions d'oxydation des protéines.

Les protéines les plus sensibles aux attaques des radicaux libres sont celles qui comportent des acides aminés possédant un atome de soufre (cystéine, méthionine). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport. Par exemple, les résidus cystéines des protéines sont facilement oxydés par des EAO pour former un radical thiyle (Schéma 4).

Et si deux résidus cystéines sont assez proches, ces derniers forment des ponts disulfures. Quant aux résidus méthionines, ils peuvent être oxydés rapidement en sulfones.

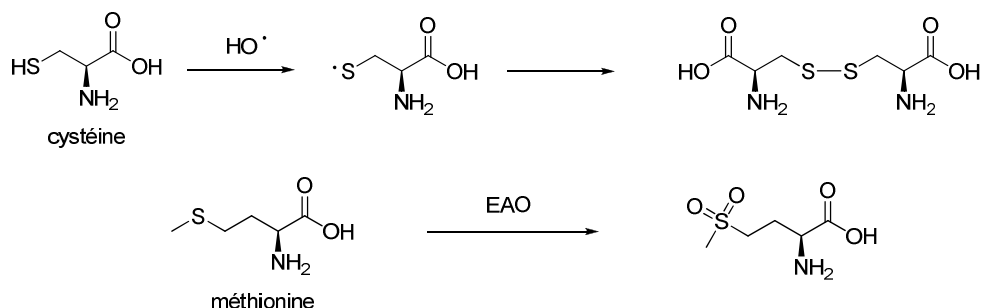


Schéma 4

Bien d'autres lésions irréversibles d'acides aminés sont possibles et conduisent par exemple à la formation d'intermédiaires radicalaires. Les protéines sont alors sujettes à des réticulations comme la formation de ponts di-tyrosine, à des coupures en cas de forte agression ou tout simplement à des modifications d'acides aminés. Les protéines modifiées deviennent inactives et plus sensibles à l'action des protéases. Certaines protéines oxydées deviennent également hydrophobes et forment des amas anormaux dans et autour des cellules.

2.4. Conséquences au niveau cellulaire¹

Les dommages cellulaires induits par les rayonnements ionisants sont dus à leurs effets sur les lipides, les protéines et surtout sur l'ADN. Les conséquences biologiques sont extrêmement variables selon la dose, le type de cellules et la nature des tissus. À de faibles doses, les effets biologiques se limitent à l'échelle moléculaire et les cellules restent intactes. Pour des doses plus élevées, les dommages moléculaires ne sont pas tous réparables par la cellule, ce qui peut être à l'origine d'une mutation ou de la mort cellulaire. À des doses très élevées, le fonctionnement cellulaire est stoppé instantanément et les membranes cellulaires se trouvent désorganisées, ce qui provoque la lyse rapide des cellules.

Les cellules sont plus sensibles lors du processus de la mitose et plus résistantes entre deux phases de division. De ce fait, les tissus dans lesquels la régénération cellulaire est rapide, comme la moelle osseuse, l'épiderme et la muqueuse intestinale sont les plus vulnérables aux rayonnements ionisants.

3. Pathologies associées aux rayonnements ionisants⁹

Les effets des rayonnements ionisants varient fortement selon la dose reçue et peuvent conduire à des manifestations clinique diverses. Ces effets peuvent être classés en deux familles dont les caractéristiques sont totalement différentes : les effets déterministes et les effets stochastiques.

3.1. Les effets déterministes

Les effets déterministes apparaissent dans tous les cas lorsqu'une certaine dose est dépassée et leur gravité augmente avec la dose reçue. Ces effets sont des conséquences de la mort cellulaire et surviennent quand un grand nombre de cellules d'un même organe sont atteintes. Ils apparaissent assez rapidement après une irradiation, dans les jours ou les semaines qui suivent.

3.1.a. Syndrome hématopoïétique

Le syndrome hématopoïétique est la conséquence de la destruction partielle ou totale des cellules hématopoïétiques de la moelle osseuse et des lymphocytes périphériques. Il est observé à partir de 0,5 à 1 Gy. La déficience hématopoïétique se traduit par une chute des lymphocytes en quelques heures et du taux de granulocytes (immunodéficiences), de thrombocytes et de plaquettes (défaut de coagulation) en quelques semaines. Cela peut être la cause d'infections graves ou d'hémorragies internes.

3.1.b. Syndrome cutané

La peau, du fait de sa situation par rapport à l'organisme, est exposée aux irradiations dans tous les cas. Le syndrome cutané apparaît à de fortes doses, supérieures à 3-8 Gy. Il se manifeste quelques heures après l'exposition aux radiations sous la forme d'érythèmes (rougeurs) passagers et de démangeaisons. Après une période de latence, deux à quatre semaines, ces symptômes réapparaissent, accompagnés en plus d'alopécie (chute des poils et des cheveux) et de desquamation (perte des couches superficielles de l'épiderme). À des doses supérieures à 20 Gy, les effets de l'exposition peuvent conduire à la nécrose de la peau.

3.1.c. Syndrome gastro-intestinal

Le syndrome gastro-intestinal est observé pour des doses supérieures à 8 Gy et s'ajoute au syndrome hématopoïétique. La rupture de la barrière intestinale radio-induite permet le

⁹ Nénot J.-C. *Effets biologiques des rayonnements ionisants*, Techniques de l'ingénieur, BN3902, 1999.

passage de bactéries qui induisent des infections. Il s'agit d'un syndrome grave qui entraîne généralement la mort dans les quinze jours par septicémie ou déshydratation.

3.1.d. Syndrome neurovasculaire

Le syndrome neurovasculaire se manifeste en général à des doses supérieures à 50 Gy mais les symptômes peuvent apparaître dès 20 Gy. Après quelques minutes, les premiers symptômes se manifestent : apathie, désorientation, troubles de l'équilibre, vomissement, diarrhée, perte de connaissance. Durant la période de latence, très courte (4 à 6 heures), le sujet récupère partiellement ses capacités. Puis les symptômes nerveux réapparaissent avec des convulsions qui conduisent au coma puis au décès.

3.1.e. Effets sur le système de reproduction

Les cellules germinales sont extrêmement sensibles aux rayonnements. L'exposition à des radiations ionisantes peut entraîner une stérilité temporaire ou permanente en fonction de la dose reçue. Chez l'homme, les premiers effets sont observables à partir de 0,15 Gy et peuvent provoquer une stérilité transitoire. Elle devient définitive à des doses supérieures à 6 Gy. Chez la femme, à des doses inférieures à 3 Gy, une fertilité normale peut être retrouvée. Et à des doses supérieures à 8 Gy, la stérilité devient définitive.

3.1.f. Effets sur l'embryon et le fœtus¹⁰

Les effets des radiations sur l'embryon et le fœtus dépendent du stade de développement. L'œuf fécondé est très radiosensible avant le 9^e jour et une exposition pendant cette période peut entraîner la perte de celui-ci. Pendant la phase de développement de l'embryon, la mort ou la mutation cellulaire peut provoquer un défaut dans l'organogenèse et être à l'origine de malformations. En particulier, le système nerveux central est très sensible et des retards mentaux peuvent résulter d'une exposition pendant cette période (de la 8^e à la 16^e semaine).

3.2. Les effets stochastiques

Les effets stochastiques, contrairement aux effets déterministes, n'apparaissent que des années ou des dizaines d'années après une irradiation. Leur probabilité augmente avec la dose reçue mais leur gravité est totalement indépendante du niveau de dose. Ces effets résultent généralement d'une faible exposition aux rayonnements. Ces maladies se développent suite à des dommages radio-induits des cellules de l'individu ou de ses cellules germinales. Les effets peuvent se traduire par l'induction d'un cancer (tumeur ou leucémie) qui se développe

¹⁰ *Developmental effects of irradiation on the brain of the embryo and fetus*, International commission on radiological protection (ICRP), publication 49, 17, Pergamon Press: Oxford, New York, 1986.

directement chez l'individu irradié (effets somatiques). Des troubles héréditaires peuvent également être transmis à la descendance (effets génétiques).

III. Les défenses naturelles contre les rayonnements ionisants

Comme nous l'avons vu, l'exposition aux rayonnements ionisants est à l'origine de la production d'espèces activées de l'oxygène (EAO). En raison des dommages potentiels que peuvent engendrer ces espèces sur les biomolécules plusieurs systèmes de défense antioxydants sont présents dans les cellules afin de les réguler. La protection des cellules est assurée par un système de défense endogène constitué essentiellement, par des enzymes et des antioxydants synthétisés par l'organisme mais également par une défense exogène assurée par des antioxydants apportés par notre alimentation.

1. *Les défenses endogènes*⁷

1.1. Les systèmes enzymatiques

Les systèmes antioxydants enzymatiques convertissent les espèces activées de l'oxygène en molécules non réactives.

1.1.a. *Les superoxyde dismutases (SOD)*

Les superoxyde dismutases sont des métalloprotéines qui catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en oxygène et en peroxyde d'hydrogène. Il existe quatre types de SOD suivant le métal qui y est associé : cuivre-zinc, manganèse, fer, nickel.

Le peroxyde d'hydrogène formé lors de la dismutation peut être ensuite pris en charge par d'autres systèmes enzymatiques à activité peroxydase ou catalase.

1.1.b. *Les glutathion peroxydases*

Les glutathion peroxydases sont des enzymes formées de quatre sous-unités contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénocystéine. Elles nécessitent la présence de glutathion réduit et permettent l'élimination du peroxyde d'hydrogène ou de peroxydes organiques.

1.1.c. *Les catalases*

Les catalases sont des enzymes constituées de quatre chaînes polypeptidiques d'environ 500 acides aminés comportant chacune un atome de fer dans leur site actif. Elles catalysent la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire.

1.2. Les systèmes non enzymatiques

En plus des systèmes enzymatiques, des molécules antioxydantes synthétisées par l'organisme sont utilisées pour lutter contre les EAO. Ces molécules sont des capteurs de radicaux qui réagissent rapidement avec le radical hydroxyle ou avec d'autres radicaux initiateurs ou propagateurs de réactions en chaînes.

1.2.a. Les dérivés soufrés

Les dérivés soufrés possèdent de très bonnes activités antioxydantes conférées par la présence d'un atome de soufre dans leur structure. Cette catégorie de molécules comprend notamment le glutathion, un tripeptide formé par la condensation d'acide glutamique, de cystéine et de glycine, et l'acide lipoïque. Ces deux dérivés soufrés sont essentiellement utilisés comme co-facteurs associés avec un système enzymatique.

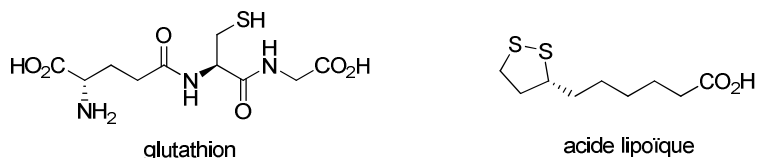


Figure 6

1.2.b. L'acide urique

L'acide urique est le produit de dégradation et d'excrétion des purines chez l'homme. Il peut réagir facilement avec des EAO, plus particulièrement avec le radical hydroxyle ce qui lui confère une bonne activité antioxydante. Il apparaît comme l'antioxydant plasmatique le plus efficace du point de vue de la réactivité avec les EAO.

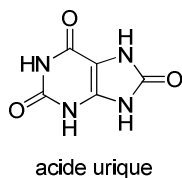
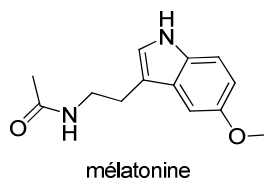


Figure 7

1.2.c. La mélatonine

La mélatonine, ou hormone du sommeil, est surtout connue comme une hormone centrale de la régulation des rythmes chronobiologiques et des sécrétions hormonales. Cependant, cette

hormone semble également être un puissant antioxydant, qui traverse facilement les parois cellulaires ou la barrière hémato-encéphalique.

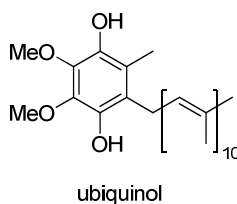


mélatonine

Figure 8

1.2.d. La coenzyme Q₁₀

La coenzyme Q₁₀, ou ubiquinone, est une molécule essentielle pour la production de l'énergie au niveau des mitochondries. Cette molécule agit essentiellement sous sa forme réduite, l'ubiquinol, qui possède des propriétés antioxydantes. Ce composé, très lipophile, est capable d'inhiber la peroxydation lipidique des membranes cellulaires.



ubiquinol

Figure 9

2. Les défenses exogènes¹¹

Certaines molécules antioxydantes, indispensables pour la régulation des EAO, ne peuvent pas être synthétisées par notre organisme. L'alimentation permet l'apport de ces antioxydants à notre organisme, notamment les fruits et les légumes.

2.1. L'acide ascorbique

L'acide ascorbique, plus connu sous le nom de vitamine C, est un réducteur naturel. À pH physiologique, l'acide ascorbique se trouve sous la forme d'un mono-anion appelé ascorbate. Ce dernier est un cofacteur enzymatique impliqué notamment dans la synthèse du collagène et dans la conversion de la dopamine en noradrénaline. Par ces propriétés réductrices, il peut réagir avec des espèces oxydantes telles que les radicaux libres (Schéma 5). Pour cela,

¹¹ Lee L., Koo N., Min D. B. *Comp. Rev. Food Sci. Saf.* **2004**, 3, 21-33.

l'ascorbate cède un électron à l'espèce à réduire et forme le semidéhydroascorbate qui peut, à son tour, s'oxyder pour donner le déhydroascorbate.

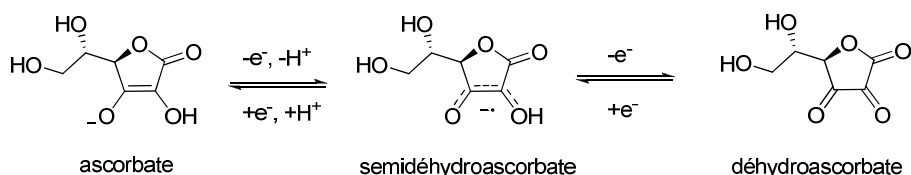


Schéma 5

L'anion ascorbate agit également comme réducteur de cations ferriques et cuivriques. Cependant, en présence de peroxyde d'hydrogène, la réduction de ces cations métalliques aboutit à la formation de radical hydroxyle. Dans ce cas, l'acide ascorbique montre des propriétés pro-oxydantes ce qui induit un stress oxydant supplémentaire et inactive les systèmes de défense contre les EAO.

2.2. La vitamine E

La vitamine E est constituée d'un ensemble de phénols de structures proches, quatre tocophérols et quatre tocotriénols (Figure 10). La vitamine E est peu polaire et est principalement présente dans les phases lipidiques comme les membranes cellulaires.

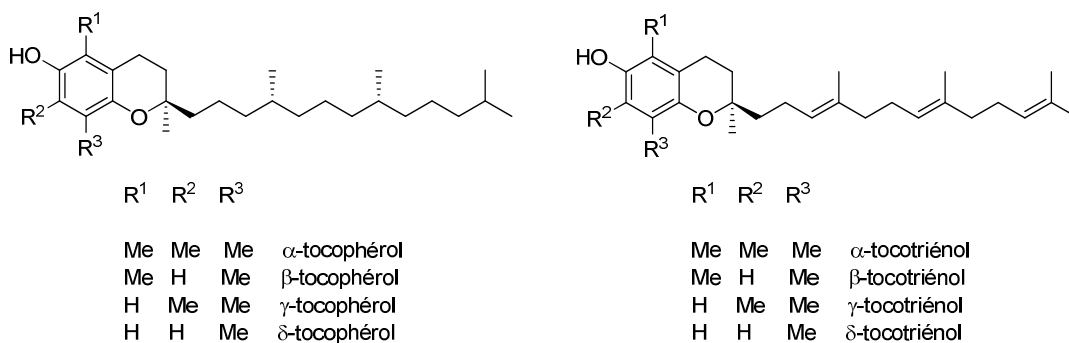


Figure 10

Du fait de ses propriétés antioxydantes et lipophiles, la vitamine E protège efficacement les membranes de la peroxydation lipidique. En effet, la vitamine E cède facilement un hydrogène à des radicaux peroxydes grâce à sa fonction phénol. La vitamine E peut-être ensuite régénérée en présence d'acide ascorbique.

2.3. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des terpénoïdes constitués par la famille des carotènes et la famille des xanthophylles. Ce sont des pigments présents dans les légumes comme la tomate (lycopène) ou la carotte (β -carotène) mais également chez certains animaux et certaines bactéries.

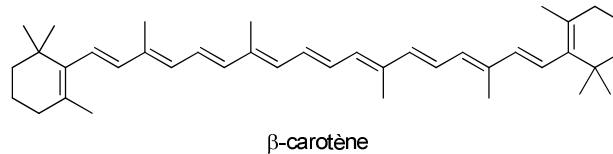


Figure 11

Les caroténoïdes sont très hydrophobes et sont localisés notamment dans les lipoprotéines circulantes, à l'intérieur des membranes ou bien dans les poches hydrophobes de certaines protéines. Les caroténoïdes jouent un rôle antioxydant en inhibant la formation des EAO ou bien en les neutralisant.

2.4. Les polyphénols

Les polyphénols sont des substances naturelles présentes dans les plantes, caractérisés par la présence d'une ou plusieurs fonctions phénols. Cette famille de composés compte plus de 8000 structures différentes¹² dont les flavonoïdes et les coumarines. Les composés polyphénoliques présentent des propriétés antioxydantes et antimutagènes. Et des études ont montré que la consommation de polyphénols réduit les risques cardiovasculaires et diminue la probabilité d'avoir un cancer^{12,13}.

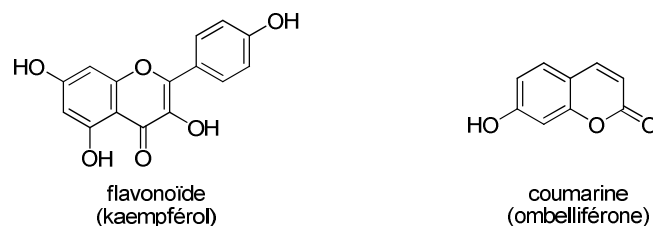


Figure 12

¹² Bravo L. *Nutr. Rev.* **1998**, 56, 317-333.

¹³ German J. B., Walzem R. L. *Annu. Rev. Nutr.* **2000**, 20, 561-593.

IV. Les agents radioprotecteurs

Les radioprotecteurs sont des composés synthétiques ou naturels qui sont administrés pour réduire les effets causés par une exposition à des rayonnements ionisants. Les critères principaux de l'agent radioprotecteur idéal peuvent être résumés par les points suivants :

- Posséder une bonne activité pour protéger l'organisme contre les EAO générés par les rayonnements et réparer les dommages radio-induits
- Être efficace contre tous les types de rayonnements (β , γ , X, neutrons)
- Être facilement administrable (par voie orale préférentiellement) et avoir une bonne distribution dans les tissus
- Avoir le minimum d'effets secondaires et une toxicité non significative aux doses utilisées
- Avoir une action prolongée (au moins de plusieurs heures)
- Être compatible avec d'autres médicaments
- Être chimiquement stable dans le temps pour un stockage facile
- Pouvoir être synthétisé facilement en grande quantité avec un coût minimum

À l'heure actuelle, aucun radioprotecteur connu ne respecte tous ces critères à la fois. Pourtant, depuis 60 ans, dans un but médical, de nombreuses études ont été réalisées afin de trouver le traitement le plus efficace et le moins toxique possible. Ces dernières années, de nouvelles voies de radioprotection, autres que chimiques, ont été explorées^{14,15}.

1. Les composés soufrés

Depuis les premiers travaux sur des radioprotecteurs de Patt et Bacq, de nombreux dérivés soufrés ont été synthétisés et évalués. En 1949, Patt¹⁶ a démontré que l'injection de cystéine à des rats (de 175 à 575 mg/kg) conduisait à un taux de survie de 75 à 89 % pour une dose de 8 Gy contre 10 à 25 % chez des contrôles n'ayant pas reçu d'injection. Et en 1951, Bacq¹⁷ a observé que la cystéamine était environ 5 fois plus efficace que la cystéine. Malheureusement, ces deux molécules ont montré une certaine toxicité (caractérisée par un choc cardiovasculaire, de l'hypotension...) ce qui a empêché toute application chez l'homme. Dans les années 50, les meilleurs radioprotecteurs développés possédaient tous une fonction thiol séparée de 2 ou 3 atomes de carbone d'une fonction basique telle qu'une amine.

¹⁴ Hosseinimehr S. J. *Drug Discovery Today* **2007**, *12*, 794-805.

¹⁵ Greenberger J. S. *in vivo* **2009**, *23*, 323-336.

¹⁶ Patt H. M., Tyree E. B., Straube R. L., Smith D. E.. *Science* **1949**, *110*, 213-214.

¹⁷ Bacq Z. M., Herve A., Lecomte J., Fischer P., Blavier J., Dechamps G., Le Bihan H., Rayet P. *Arch. Int. Physiol.* **1951**, *59*, 442-447.

En 1959, l'armée américaine a démarré un vaste programme de recherche afin de développer un traitement radioprotecteur¹⁸. Environ 4000 composés ont été testés jusqu'en 1973 et le composé le plus efficace qui ait été identifié est le WR 2721 ou amifostine.

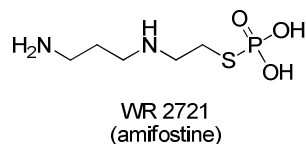


Figure 13

En fait, le WR 2721 est une prodrogue ; la liaison S-P est hydrolysée rapidement *in vivo* par une enzyme membranaire, la phosphatase alcaline. Cette coupure permet de libérer la fonction thiol, conduisant à la forme active de l'amifostine. Le groupement phosphorothioate permet une meilleure vectorisation intracellulaire de la forme active du radioprotecteur. Des études ont montré que WR 2721 était plus efficace pour réduire les dommages radio-induits des tissus sains que des tissus tumoraux¹⁹. À ce jour, l'amifostine est le meilleur radioprotecteur connu. Cependant, elle possède de nombreux désavantages : toxicité, durée d'efficacité limitée et protection limitée du système nerveux central. Mais, elle est la seule molécule approuvée par la FDA (Food and Drug Administration) pour un usage clinique comme radioprotecteur. Récemment, le phosphonol ou WR3689, dérivé de l'amifostine, a montré une activité similaire, mais ce composé provoque également des effets secondaires. Cependant, il semble être un peu moins toxique et avoir une meilleure biodisponibilité que le WR 2721²⁰.

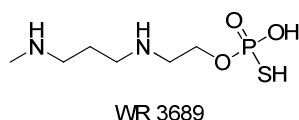


Figure 14

2. Les nitroxydes

Une série de nitroxydes stables ont été testés en tant que radioprotecteurs. Cette famille de composés conduit également à une protection différente des tissus sains par rapport aux tissus tumoraux²¹. Le tempol est le composé leader des nitroxydes, montrant des effets

¹⁸ Piper J. R., Stringfellow Jr. C. R., Elliott R. D., Johnston T. P. *J. Med. Chem.* **1969**, 2, 236-243; Piper J. R., Stringfellow Jr. C. R., Johnston T. P. *J. Med. Chem.* **1969**, 2, 244-253.

¹⁹ Yuhas J. M., Storer J. B. *J. Nat. Cancer Inst.* **1969**, 42, 331-335; Yuhas J. M. *Radiat. Res.* **1970**, 44, 621-628; Yuhas J. M., Proctor J. O., Smith L. H. *Radiat. Res.* **1973**, 54, 222-233.

²⁰ Seed T. M. *Health Phys.* **2005**, 89, 531-545.

²¹ Hahn S. M., Krishna M. C., DeLuca A. M., Coffin D., Mitchell J. B. *Free Radic. Biol. Med.* **2000**, 28, 953-958.

radioprotecteurs significatifs. Mais, ce composé engendre de l'hypotension et une augmentation du rythme cardiaque. De plus, il possède une durée d'efficacité limitée. Malgré ces points négatifs, les nitroxydes pourraient être utilisés comme radioprotecteurs mais devront probablement être limités à des applications cliniques (radiothérapie) à cause de leur faible durée d'efficacité.

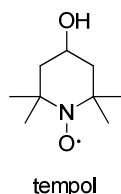


Figure 15

3. Les bis(benzimidazoles)

Les bis(benzimidazoles) sont des composés qui se complexent sélectivement avec les doubles brins de l'ADN²². Cette proximité permet aux bis(benzimidazoles) de protéger l'ADN. En effet, les parties de l'ADN endommagées sous l'effet des rayonnements ionisants peuvent être réparées par transfert d'électron à partir de ces composés. Le dérivé le plus connu de cette famille est le Hoechst 33342.

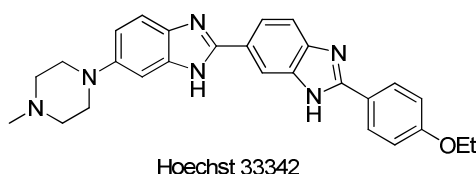


Figure 16

4. Les superoxyde dismutases et les complexes métalliques

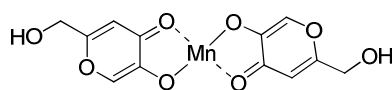
Comme précisé précédemment, les superoxyde dismutases sont des enzymes naturelles qui catalysent la conversion de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Une version pharmaceutique a été développée sous le nom d'orgotéine et a été utilisée pour diminuer les effets secondaires lors de traitements par radiothérapie²³. L'association de

²² Martin R. F., Broadhurst S., Reum M. E., Squire C. J., Clark G. R., Lobachevsky P. N., White J. M., Clark C., Sy D., Spothem-Maurizot M., Kelly D. K. *Cancer Res.* **2004**, *64*, 1067-1070.

²³ Epperly M. W., Gretton J. A., DeFilippi S. J., Sikora C. A., Liggitt D., Koe G., Greenberger J. S. *Radiat. Res.* **2001**, *155*, 2-14; Epperly M. W., Kagan V. E., Sikora C. A., Gretton J. E., Defilippi S. J., Bar-Sagi D., Greenberger J. S. *Int. J. Cancer* **2001**, *96*, 221-231; Guo H., Seixas-Silva Jr. J. A., Epperly M. W., Gretton J. E., Shin D. M., Bar-Sagi D., Archer H., Greenberger J. S. *Radiat. Res.* **2003**, *159*, 361-370.

superoxyde dismutases avec des liposomes a donné également de très bons résultats, cependant la toxicité de tels traitements n'a pas encore été totalement explorée^{23,24}.

Plusieurs composés synthétiques ont été préparés pour mimer les superoxyde dismutases. Ils possèdent un ion métallique (Cu, Fe, Mn ou Zn) au niveau de leur site actif. Par exemple, les complexes de manganèse de l'acide kojique et de la 7-hydroxyflavone montrent de bonnes propriétés mimétiques de superoxyde dismutases *in vitro*. Et le complexe avec l'acide kojique (Figure 17) est dix mille fois plus efficace que l'acide kojique tout seul²⁵. Il est tout même moins bon radioprotecteur que l'amifostine mais il possède une DL₅₀ plus élevée et il est efficace même lorsqu'il est administré 24 h avant l'irradiation²⁶.



complexe Mn-acide kojique

Figure 17

5. Les cytokines

Les rayonnements ionisants affectent les tissus hématopoïétiques et réduisent le nombre des neutrophiles et des plaquettes dans le sang. Cette diminution peut conduire à une septicémie, une hémorragie, une anémie ou même au décès. Une nouvelle stratégie de radioprotection est la stimulation, la maintenance de la prolifération de cellules souches au niveau de la moelle osseuse. Les cytokines peuvent stimuler les cellules souches hématopoïétiques. Le traitement de souris avec les cytokines IL-1 et IL-6, 20 h avant une irradiation de 9,5 Gy, a donné un taux de survie de 84 % contre 13 % pour les témoins non traités²⁷. Et avec une injection, 24 h avant une irradiation de 11 Gy, de la cytokine progénipoïétine-1, 100 % des souris traitées ont survécu et étaient encore vivantes 9 mois après l'expérience²⁸. Cependant, les cytokines sont limitées à un usage clinique. De plus, certaines cytokines ont montré des effets secondaires, comme des activités pro-inflammatoires.

²⁴ Epperly M. W., Carpenter M., Agarwal A., Mitra P., Nie S., Greenberger J. S. *in vivo* **2004**, *18*, 401-410; Epperly M. W., Wegner R., Kanai A. J., Kagan V., Greenberger E. E., Nie S., Greenberger J. S. *Radiat. Res.* **2007**, *167*, 289-297.

²⁵ Vajragupta O., Boonchoong P., Sumanont Y., Watanabe H., Wongkrajang Y., Kammasud N. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 2329-2337.

²⁶ Emami S., Hosseinimehr S. J., Taghdisi S. M., Akhlaghpour S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 45-48.

²⁷ Legué F., Guitton N., Brouazin-Jousseume V., Collet-Durel S., Nourgalieva K., Chenal C. *Cytokine* **2001**, *16*, 232-238.

²⁸ Streeter P. R., Dudley L. Z., Fleming W. H. *Exp. Hematol.* **2003**, *31*, 1119-1123.

6. Les immunomodulateurs

Les immunomodulateurs sont des composés chimiques qui ont les mêmes effets que les cytokines sur la stimulation hématopoïétique des cellules souches. Les β -glucanes et le gisan sont des polysaccharides hydrosolubles qui stimulent une immuno-réponse et induisent une radioprotection chez des souris²⁹. Une bonne radioprotection a également été obtenue avec l'oxymétholone, un stéroïde anabolisant, chez la souris avec 75 % de survie, contre 15 % pour les contrôles³⁰. Enfin, le 5-androstendiol, une hormone naturelle, qui stimule la production de cytokines IL-1, IL-3 et IL-6, a donné des effets radioprotecteurs encourageants avec une faible toxicité³¹.

Très récemment, une équipe américaine a eu l'idée de développer un traitement permettant d'inhiber le processus de l'apoptose³², mécanisme majeur de la perte cellulaire après une irradiation³³. Il est bien connu que les cellules tumorales persistent dans le corps parce qu'elles sont capables de bloquer l'apoptose en activant un facteur de transcription, le NF- κ B (nuclear factor- κ B)³⁴, impliqué dans la réponse immunitaire. Cette équipe a utilisé une protéine bactérienne, la flagelline, qui se lie au récepteur toll-like 5 (TLR5) présent sur les cellules et active la voie NF- κ B. Par la suite, ils ont développé un dérivé de cette protéine moins immunogène et moins toxique. Ce dérivé, appelé CBLB502, a été testé chez la souris. Une injection de CBLB502, 30 min avant une irradiation de 13 Gy, a protégé 87 % des souris alors que sans traitement aucune souris n'a survécu. Il conduit donc à une des meilleures protections observées à ce jour. CBLB502 s'est montré également radioprotecteur chez le singe.

7. Les complexes organométalliques

Des complexes organométalliques à base de silicium, de sélénium et de germanium ont été synthétisés et évalués récemment par l'équipe de Rima³⁵. Des structures organométalliques telles que des métallathiazolidines et des métalladithioacétals (Figure 18) ont été étudiées

²⁹ Maisin J. R., Albert C., Henry A. *Radiat. Res.* **1993**, *135*, 332-337; Song J.-Y., Han S.-K., Bae K.-G., Lim D.-S., Son S.-J., Jung I.-S., Yi S.-Y., Yun, Y.-S. *Radiat. Res.* **2003**, *159*, 768-774.

³⁰ Hosseinimehr S. J., Zakaryae V., Froughizadeh M. *Mol. Cell. Biochem.* **2006**, *287*, 193-199.

³¹ Stickney D. R., Dowding C., Garsd A., Ahlem C., Whitnall M., McKeon M., Reading C., Frincke J. *Int. Immunopharmacol.* **2006**, *6*, 1706-1713; Stickney D. R., Dowding C., Authier S., Garsd A., Onizuka-Handa N., Reading C., Frincke J. M. *Int. Immunopharmacol.* **2007**, *7*, 500-505.

³² Burdelya L. G., Krivokrysenko V. I., Tallant T. C., Strom E., Gleiberman A. S., Gupta D., Kurnasov O. V., Fort F. L., Osterman A. L., DiDonato J. A., Feinstein E., Gudkov A. V. *Science* **2008**, *320*, 226-230.

³³ Potten C. S. *Cancer Metastasis Rev.* **1992**, *11*, 179-195; Gudkov A. V., Komarova E. A. *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 117-129; Kolesnick R., Fuks Z. *Oncogene* **2003**, *22*, 5897-5906.

³⁴ Karin M. *Nature* **2006**, *441*, 431-436.

³⁵ Rima G., Satgé J., Dagiral R., Lion C., Fatôme M., Roman V., Laval J. D. *Appl. Organomet. Chem.* **1999**, *13*, 583-594.

dans le but d'augmenter les activités radioprotectrices des structures non métalliques et de diminuer leur toxicité.

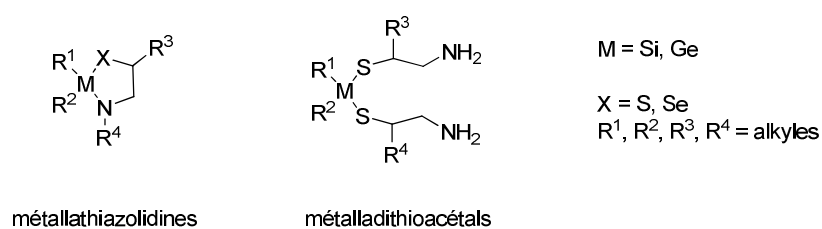


Figure 18

L'incorporation de silicium et de germanium dans de telles structures a permis d'avoir de bonnes activités radioprotectrices *in vivo* (jusqu'à 70 % de survie) alors que les dérivés organiques correspondants étaient, en règle générale, peu actifs. De plus, la présence du métal a conduit à des composés moins toxiques que les précurseurs organiques.

8. Les radioprotecteurs naturels

Les composés synthétiques qui ont été décrits précédemment montrent de bonnes radioprotectrices mais présentent, très souvent, une certaine toxicité. Les antioxydants naturels, qui sont de bons capteurs de radicaux, peuvent être utilisés en tant que radioprotecteurs, tout en ayant une plus faible toxicité. Cependant, les composés naturels ont généralement des indices de protection plus faibles que l'amifostine³⁶. D'après Venkatachalam, la plupart des dérivés naturels ont une activité radioprotectrice spécifique à un organe³⁷. Ainsi, le système hématopoïétique est protégé par la vitamine E ou l'acide lipoïque et le système nerveux central est protégé par la vitamine C ou le mannitol. La réparation de l'ADN est favorisée par l'utilisation de mélatonine ou de nicotinamide.

Même si les radioprotecteurs naturels ont une activité plus faible que des composés synthétiques, ils ont l'avantage de montrer peu ou pas de toxicité. De plus, la combinaison de plusieurs dérivés naturels pourrait apporter un traitement viable contre les effets des rayonnements ionisants.

³⁶ Weiss J. F., Landauer M. R. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2000**, 899, 44-60.

³⁷ Venkatachalam S. R., Chattopadhyay S. *Curr. Org. Chem.* **2005**, 9, 389-404.

V. Conclusions

Dans ce chapitre, nous avons, tout d'abord, présenté les rayonnements ionisants et leurs effets sur notre organisme. Ils provoquent notamment la radiolyse de l'eau présente dans notre corps et engendrent la formation d'espèces très réactives, les EAO, néfastes pour les constituants cellulaires. Une exposition à des radiations est à l'origine de nombreux symptômes qui sont parfois irréversibles et même fatals pour le sujet.

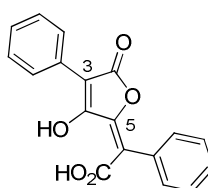
Notre organisme possède des systèmes de défense de différentes natures (enzymes ou antioxydants) pour lutter contre les EAO ou bien pour réparer les dommages causés. Mais ces systèmes de défense ne permettent de réguler que la quantité des EAO produite quotidiennement par l'organisme. Ils sont peu efficaces lors de productions excessives des EAO, comme dans le cas d'une exposition aux rayonnements ionisants.

La recherche d'un radioprotecteur efficace reste un véritable challenge. Un tel composé pourrait avoir des applications médicales (pour la protection des tissus sains lors de traitement par radiothérapie), civiles (pour un traitement en cas d'exposition accidentelle) ou militaires (lors d'une intervention en zone contaminée). De nombreux travaux de recherche ont permis de développer différents systèmes de protection. À ce jour, un seul composé, l'amifostine, est reconnu et utilisé comme radioprotecteur, cependant il possède de nombreux effets secondaires: chute de la tension artérielle, évanouissement, nausées, vomissements, étourdissements, somnolence.

Au laboratoire, des travaux de recherche, qui seront décrits dans le chapitre suivant, ont montrés que des composés de la famille des acides pulviniques possédaient de remarquables propriétés antioxydantes. Cette famille de molécules naturelles est isolée de champignons comestibles. Nous nous sommes donc intéressés à la synthèse d'acides pulviniques afin de développer de nouveaux radioprotecteurs.

Chapitre 2 : Acides pulviniques : aspects biologiques et synthétiques

Les acides pulviniques sont des 5-arylidène-buténolides dont le membre le plus simple est l'acide pulvinique lui-même (Figure 19). Les acides pulviniques sont des pigments isolés à partir de différents champignons, en particulier ceux de la famille des bolets³⁸. Ils sont également présents dans certains lichens³⁹.



acide pulvinique

Figure 19

I. Les acides pulviniques

1. Généralités

Les acides pulviniques ont été isolés pour la première fois en 1831⁴⁰, mais leur structure n'est connue que depuis 1883, suite à des études menées par Spiegel⁴¹. Leur structure comporte plusieurs caractéristiques générales :

- une lactone à 5 chaînons, insaturée et hydroxylée, aussi appelée acide tétronique (Figure 20)
- un groupement aromatique en position 3 de cet hétérocycle
- une double liaison exocyclique en position 5, à laquelle sont liés une fonction carboxylée et un deuxième groupement aromatique

La fonction carboxylée est généralement présente sous forme d'acide carboxylique mais sur certains produits naturels, comme l'acide vulpinique (Figure 21), cette fonction se trouve sous la forme d'un ester méthylique. Les pulvinates de méthyle peuvent être aussi désignés sous le

³⁸ Gill M., Steglich W. *Progr. Chem. Org. Nat. Prod.* **1987**, 51, 1-317.

³⁹ Huneck S. *Progr. Chem. Org. Nat. Prod.* **2001**, 81, 1-276.

⁴⁰ Bebert J. *Journal de Pharmacie et des Sciences Accessoires* **1831**, 17, 696-700.

⁴¹ Spiegel A. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1883**, 219, 1-56.

terme d'acides vulpiniques. Tous les acides pulviniques naturels, sans exception, présentent une configuration *E* au niveau de la double liaison exocyclique.

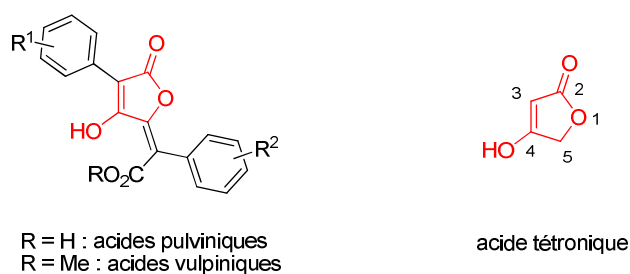


Figure 20

Les membres de cette famille de composés sont différenciés par la substitution des groupements aromatiques. Ils sont très souvent hydroxylés ou méthoxylés et plus rarement chlorés. Lorsque les deux groupements aromatiques sont identiques, les acides pulviniques sont dits symétriques et inversement, lorsque ces groupements sont différents, ils sont dits dissymétriques. La Figure 21 représente certains acides pulviniques naturels avec leur nom usuel.

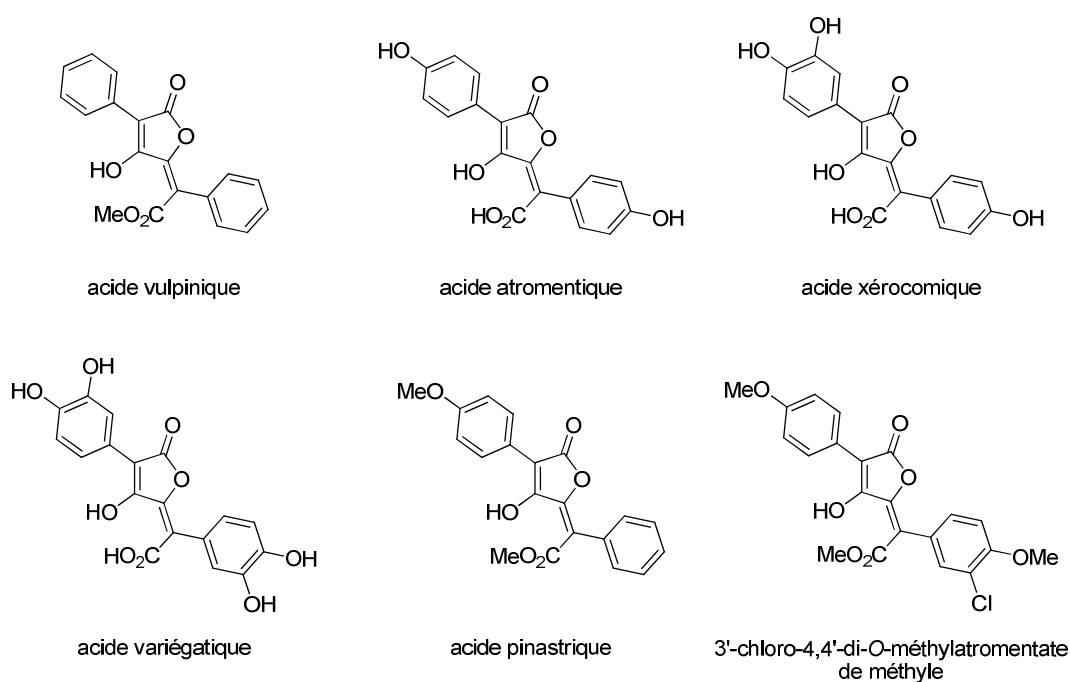


Figure 21

Les acides pulviniques sont à l'origine de la couleur jaune ou orange de certains lichens et des chapeaux de nombreux bolets. De plus, l'acide variégatique et l'acide xérocémique sont

responsables du bleuissement de certains bolets lorsqu'ils sont coupés ou abîmés^{42,43}. Ce phénomène a pour origine l'oxydation des groupements catéchols présents sur ces deux structures. Certains acides pulviniques possèdent des activités biologiques remarquables qui seront détaillées dans une autre partie de ce chapitre.

D'autres pigments apparentés structurellement aux acides pulviniques sont également présents dans certains champignons (Figure 22). Leur formation est issue de la dimérisation d'acides pulviniques. Par exemple, la norbadione A, isolée en 1984 par Steglich⁴⁴ à partir d'un bolet bai (*Xerocomus badius*), provient de la dimérisation de l'acide xérocomique^{38,45}. Plus récemment, un autre pigment, la chalcitrine, a été isolé à partir du scléroderme vulgaire (*Scleroderma citrinum*). Ce composé proviendrait également de la dimérisation de l'acide xérocomique par une voie de biosynthèse différente.

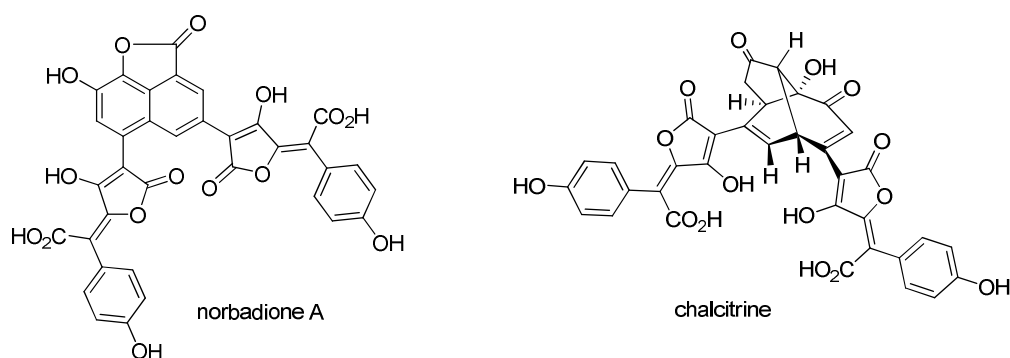


Figure 22

2. Biosynthèse des acides pulviniques

La biosynthèse des acides pulviniques se déroule de manière similaire dans les champignons et dans les lichens³⁸. Elle a été étudiée par incorporation de tyrosine marquée au ¹³C dans des lichens⁴⁶. La biosynthèse des acides pulviniques est issue de la voie du shikimate (Schéma 6) qui permet la biosynthèse de nombreux composés naturels tels que des acides aminés aromatiques, des alcaloïdes ou d'autres métabolites aromatiques. Dans cette voie, l'acide shikimique est un précurseur du chorismate. Ce dernier subit un réarrangement sigmatropique

⁴² Beaumont P. C., Edwards R. L., Elsworth G. C. *J. Chem. Soc. C* **1968**, 2968-2974.

⁴³ Steglich W., Furtner W., Porx A. *Z. Naturforsch. B: Chem. Sci.* **1968**, 23, 1044-1050.

⁴⁴ Steffan B., Steglich W. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1984**, 23, 445-447.

⁴⁵ Winner M., Gimenez A., Schmidt H., Sontag B., Steffan B., Steglich W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 1883-1886.

⁴⁶ Read G., Vining L. C., Haskins H. *Can. J. Chem.* **1962**, 40, 2357-2361; Mosbach K. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1964**, 17, 363-367; Mosbach K. *Acta Chem. Scand.* **1967**, 21, 2331-2334; Maass W. S. G., Neish A. C. *Can. J. Bot.* **1967**, 45, 59-72; Mosbach K. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1969**, 8, 240-250.

[3,3] de type Claisen pour former le préphénate. Ensuite une décarboxylation oxydante génère l'acide 4-hydroxyphénylpyruvique **1**. Une double condensation de cet acide conduit à la terphénylquinone **2**, aussi appelée atromentine. Celle-ci est ensuite oxydée par une réaction enzymatique en acide atromentique en passant par un intermédiaire hypothétique **3**.

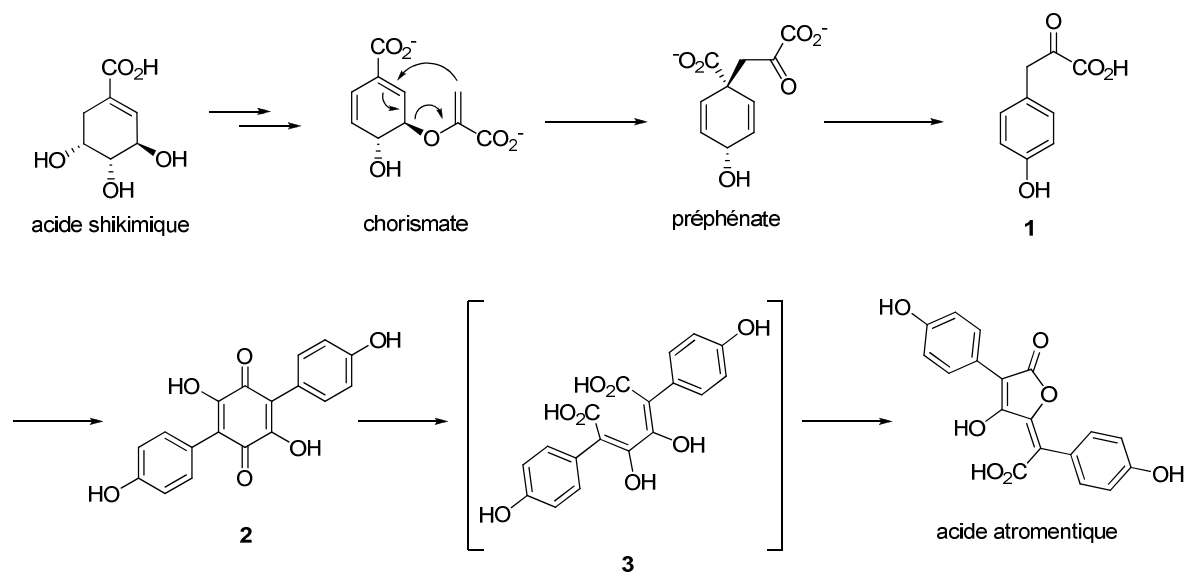


Schéma 6

Il est à noter que certaines synthèses d'acides pulviniques décrites dans la littérature sont inspirées de cette biosynthèse.

II. Synthèses des acides pulviniques : rappels bibliographiques

La première synthèse d'acides pulviniques a été publiée en 1894⁴⁷. Depuis, de nombreuses voies d'accès ont été décrites dans la littérature^{48,49}. Nous présenterons dans cette partie les principales voies d'accès aux acides pulviniques en essayant de les regrouper par stratégie de synthèse.

1. Ouverture d'une bis(lactone) pulvinique

1.1. Méthode de Volhard

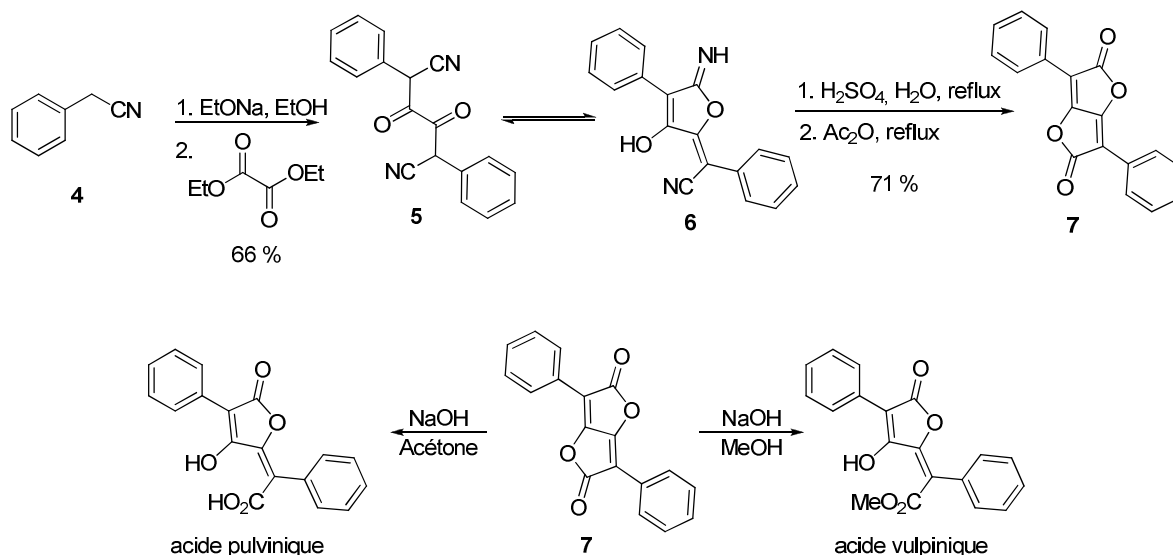
Volhard a décrit en 1894 la première synthèse d'acide pulvinique (Schéma 7)⁴⁷. Cette méthode débute par une condensation de deux molécules de phénylacétonitrile **4** sur l'oxalate

⁴⁷ Volhard J. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1894**, 282, 1-21.

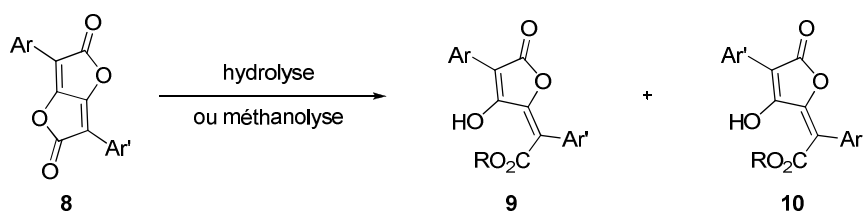
⁴⁸ Rao Y. S. *Chem. Rev.* **1976**, 76, 625-694; Pattenden G. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* **1978**, 35, 133-198; Zografos A. L., Georgiadis D. *Synthesis* **2006**, 3157-3188.

⁴⁹ Brückner R. *Curr. Org. Chem.* **2001**, 5, 679-718.

d'éthyle en présence d'éthylate de sodium. Il se forme alors la dicétone **5** qui est en équilibre avec la forme cyclique **6**. Après traitement en milieu acide et lactonisation en présence d'anhydride acétique, la bis(lactone) pulvinique **7** est obtenue. L'hydrolyse ou la méthanolyse du composé conduisent respectivement à l'acide pulvinique ou à l'acide vulpinique.



Cette méthode n'avait pas alors été appliquée à la préparation d'acides pulviniques dissymétriques. Mais en 1933, Asano⁵⁰ a condensé deux phénylacétonitriles différents sur l'oxalate d'éthyle. Cela a permis, après traitement acide et lactonisation, d'obtenir une bis(lactone) pulvinique dissymétrique de type **8**, précurseur d'acides pulviniques dissymétriques (Schéma 8). De plus, en 1961, Åkermark⁵¹ a montré que l'utilisation d'hydruire de sodium lors de la condensation des arylacétonitriles améliorait les rendements. En effet, l'hydruire de sodium permet d'éviter des réactions de rétro-aldolisations observées lors de l'utilisation d'éthylate de sodium. Mais, dans tous les cas, l'hydrolyse ou la méthanolyse de la bis(lactone) conduit à un mélange de deux dérivés pulviniques **9** et **10**.



⁵⁰ Asano M., Kameda Y. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1934**, 1522-1526.

⁵¹ Åkermark, B. *Acta Chem. Scand.* **1961**, 15, 1695-1700.

Par la suite, cette méthodologie a été largement employée pour la préparation d'acides pulviniques naturels^{42,43,52} ou non naturels⁵³.

Plus récemment, des travaux réalisés par l'équipe de Mioskowski et Wagner à Strasbourg ont montré que l'ouverture de bis(lactones) dissymétriques comportant un seul groupement aromatique pouvait être réalisée de manière régiosélective (Schéma 9)^{54,55}. En effet, lorsque l'ouverture de la bis(lactone) **11** est effectuée avec un alcool ou une amine en présence de fluorure de tétrabutylammonium, des régiosélectivités comprises entre 85/15 et 99/1 en faveur des composés **12** ou **14** sont observées.

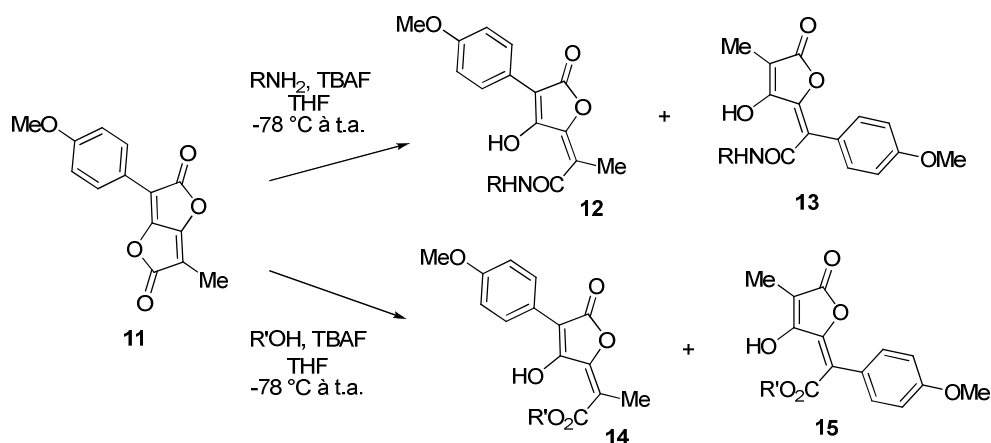


Schéma 9

1.2. Oxydation de quinones

Une alternative à la préparation de bis(lactones) pulviniques a été développée en s'inspirant du réarrangement oxydatif biomimétique d'une terphénylquinone. En 1928, Kögl⁵⁶ a réalisé la conversion d'une terphénylquinone naturelle, l'atromentine **2**, en bis(lactone) **16** par oxydation en présence de peroxyde d'hydrogène et d'acide chlorhydrique (Schéma 10). Par la suite, d'autres systèmes d'oxydation ont été étudiés, tels que le tétraacétate de plomb⁵⁷ ou un mélange anhydride acétique/DMSO⁵⁸.

⁵² Mittal O. P., Seshadri T. R. *J. Chem. Soc.* **1956**, 1734-1735.

⁵³ Foden F. R., J. McCormick J., O'Mant D. M. *J. Med. Chem.* **1975**, *18*, 199-203.

⁵⁴ Habrant D., Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg 1, 2008.

⁵⁵ Habrant D., Le Roux A., Poigny S., Meunier S., Wagner A., Mioskowski C. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 9490-9493.

⁵⁶ Kögl F., Becker H. *Liebigs Ann. Chem.* **1928**, *465*, 211-242.

⁵⁷ Frank R. L., Clark G. R., Coker J. N. *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 1824-1826.

⁵⁸ Moore H. W., Wikholm R. J. *Tetrahedron Lett.* **1968**, *9*, 5049-5052; Wikholm R. J., Moore H. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6152-6158; Lohrisch H.-J., Schmidt H., Steglich W. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1986**, 195-204; Pattenden G., Pegg N. A., Kenyon R. W. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 4749-4752; Pattenden G., Pegg N. A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1991**, 2363-2372; Besl H., Bresinsky A., Kilpert C., Marschner W., Schmidt H. M., Steglich W. *Z. Naturforsch.* **2008**, *63b*, 887-893.

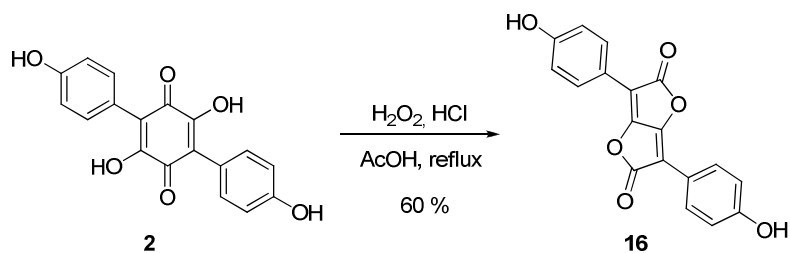


Schéma 10

En 1970, Moore a développé une méthode intéressante de réarrangement thermique d'une azidoquinone directement en acide vulpinique (Schéma 11)⁵⁹. La 2,5-diphényl-1,4-benzoquinone **17** a donné le diépoxyde **18** avec un rendement de 75 % par traitement avec du peroxyde d'hydrogène. Le traitement de ce composé avec de l'acide chlorhydrique a fourni la chlorohydroxyquinone **19**. L'addition d'azide de sodium a permis la formation de l'azidoquinone **20**, qui a été convertie en buténolide **21** au reflux de l'éthanol. Enfin, l'acide vulpinique est obtenu par méthanolyse de la fonction nitrile.

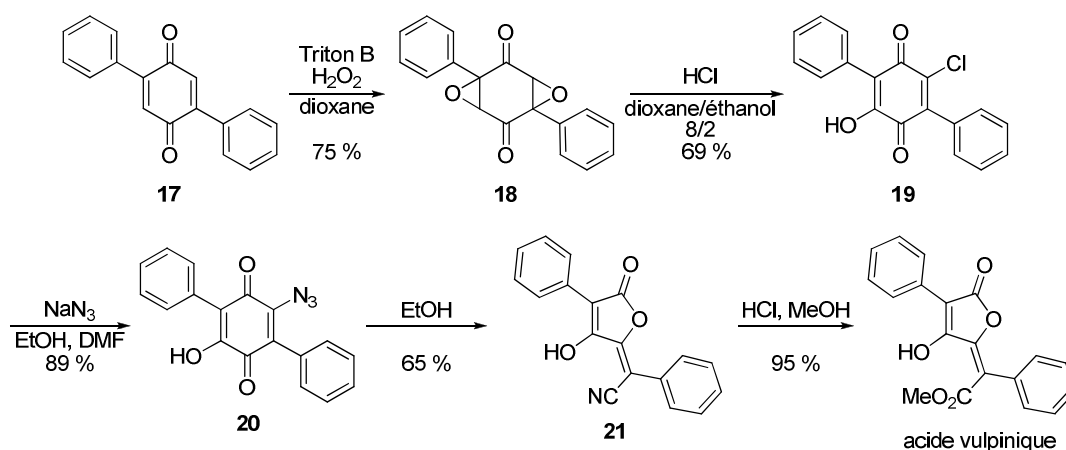


Schéma 11

2. Utilisation d'un anhydride maléique

Pattenden a exploité les propriétés de dérivés de l'anhydride maléique pour développer trois approches distinctes. Elles ont l'avantage de mener à des synthèses totalement contrôlées d'acides vulpiniques dissymétriques.

⁵⁹ Moore H. W., Shelden H. R., Deters D. W., Wikholm R. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 1675-1681.

2.1. Réduction régiosélective et alkyldénation

La première voie s'appuie sur la réduction régiosélective de l'anhydride maléique **22** par l'hydrure de lithium aluminium pour fournir un dérivé tétronique **23** (Schéma 12)⁶⁰. Le tétronate de méthyle **23** est déprotoné avec la *N*-cyclohexyl-*N*-isopropylamidure de lithium (LICA) puis l'anion obtenu est mis à réagir avec le benzoylformiate de méthyle, pour conduire à l'alcool **24**⁶¹. Une déshydratation de **24** réalisée avec du pentoxyde de phosphore dans le benzène fournit l'acide pulvinique perméthylé **25**.

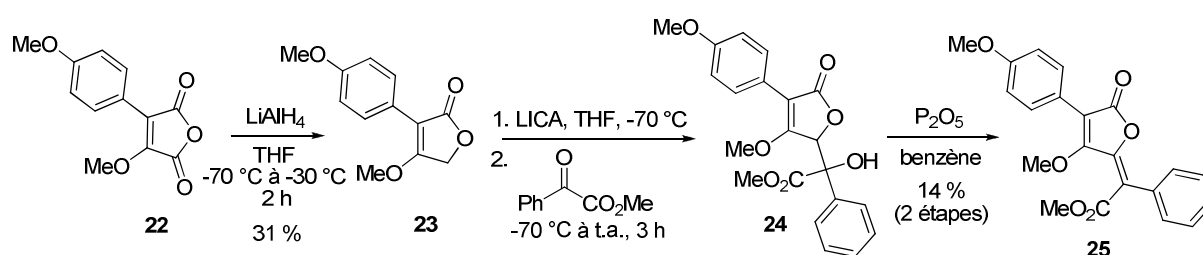


Schéma 12

Cette méthode est intéressante pour obtenir des dérivés d'acides pulviques dissymétriques mais les rendements obtenus pour les étapes d'addition et de déshydratation sont relativement faibles.

2.2. Réaction de Reformatsky

En 1986, Pattenden a décrit une seconde approche basée sur une réaction de Reformatsky entre l'énolate zincique **27** et un anhydride maléique **26** (Schéma 13)^{62,63}. L'alcool tertiaire **28** est obtenu sous la forme d'un seul diastéréoisomère grâce à un état de transition supposé de type chaise où les substituants encombrés adoptent une orientation équatoriale. La déshydratation de l'alcool **28** est effectuée par formation d'un mésylate puis élimination en présence de 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-ène (DBN). L'ester **29** est obtenu sous forme d'un mélange d'isomères *Z* et *E*. Il est intéressant de noter que le composé *Z* s'isomérisé quantitativement en quelques jours, sous l'effet de la lumière, pour donner l'isomère *E*. La dernière étape consiste à déprotéger les éthers méthyliques par réaction avec l'iodure de triméthylsilyle et permet l'obtention de l'acide gomphidique

⁶⁰ Knight D. W., Pattenden G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1979**, 62-69.

⁶¹ Knight D. W., Pattenden G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1979**, 84-88.

⁶² Gedge D. R., Pattenden G., Smith A. G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1986**, 2127-2131.

⁶³ Pattenden G. Pegg N. Smith A. G. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 403-406.

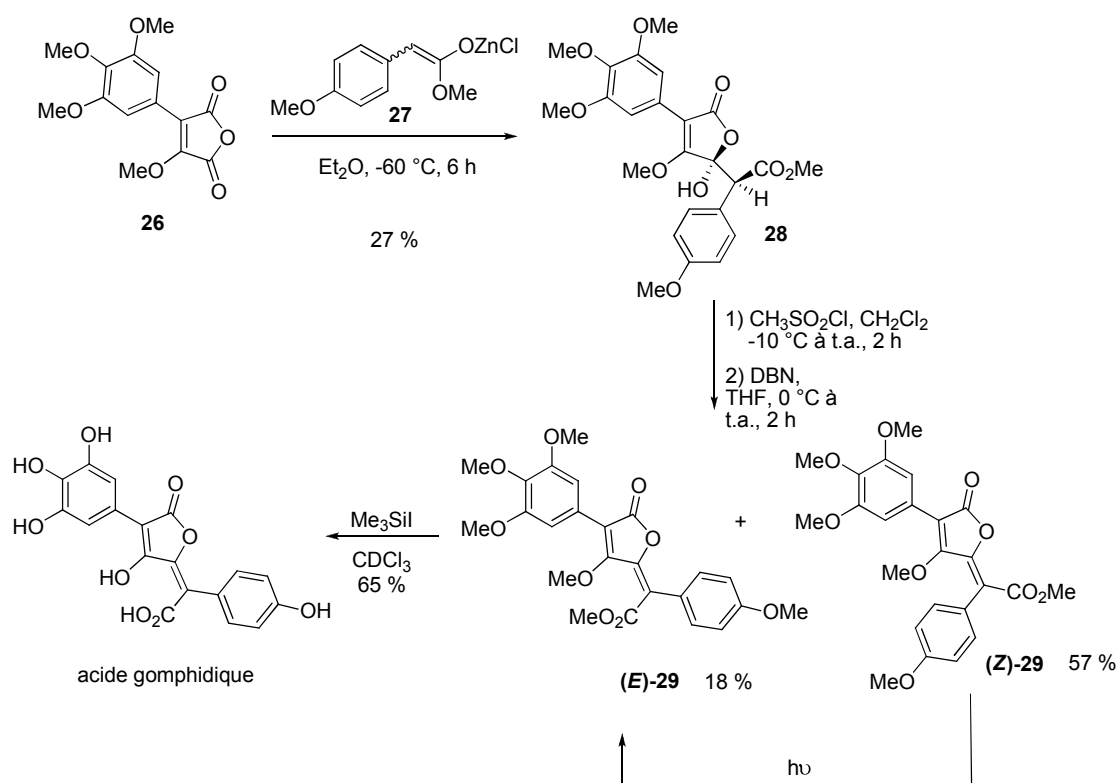


Schéma 13

Comme l'approche précédente, cette voie de synthèse est également efficace, mais le rendement global de 13 % reste modéré.

2.3. Oléfination de Horner-Wadsworth-Emmons

Enfin, Pattenden a décrit la synthèse d'acides pulviniques par une réaction d'oléfination de type Horner-Wadsworth-Emmons⁶⁴. L'anion du phosphite de méthyle est mis en réaction avec l'anhydride maléique **30** pour former le phosphonate **31**. Ce dernier est placé dans des conditions d'oléfination en ajoutant de l'hydruire de sodium puis un cétoester **32**, pour conduire à la préparation de l'ester **33** sous forme d'un mélange d'isomères *Z* et *E*.

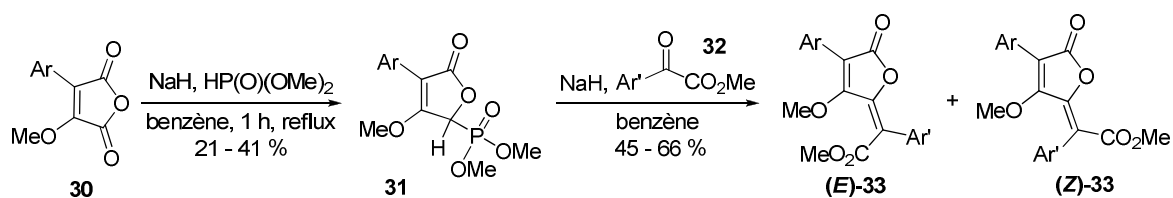


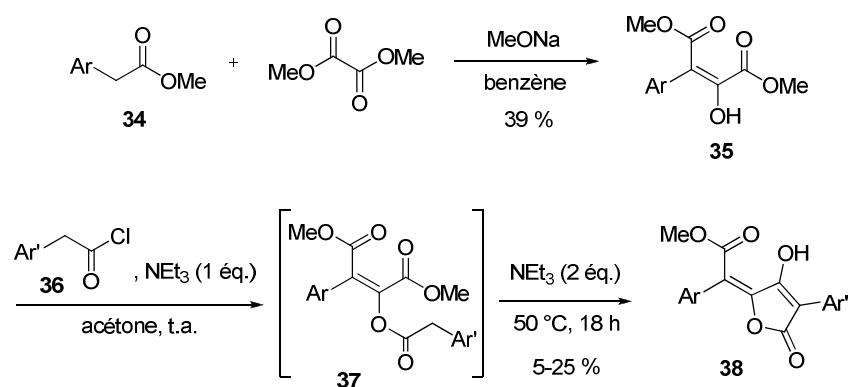
Schéma 14

⁶⁴ Pattenden G., Turvill M. W., Chorlton A. P. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1991**, 2357-2361.

Toutes les approches mettant en jeu un dérivé de l'anhydride maléique, développées par Pattenden, ont l'avantage d'être assez concises et de mener à des acides pulviniques dissymétriques, mais elles souffrent de rendements globaux faibles.

3. Cyclisation de Dieckmann

En 1979, Weinstock⁶⁵ a développé une nouvelle voie d'accès aux acides pulviniques dissymétriques en se basant sur des travaux de Haynes et Stanners⁶⁶ concernant la préparation d'acides tétroniques. Dans ce cas, le motif pulvinique est obtenu par une cyclisation de Dieckmann (Schéma 15). Dans un premier temps, l'arylacétate de méthyle **34** est condensé sur l'oxalate de méthyle en présence de méthylate de sodium. L'énol **35** obtenu est ensuite acylé par un chlorure d'acide **36** en présence d'un équivalent de triéthylamine. Et dans le même pot, la cyclisation de Dieckmann est réalisée par addition de deux équivalents supplémentaires de triéthylamine et par chauffage à 50 °C. L'acide vulpinique **38** est alors obtenu mais avec un rendement faible.



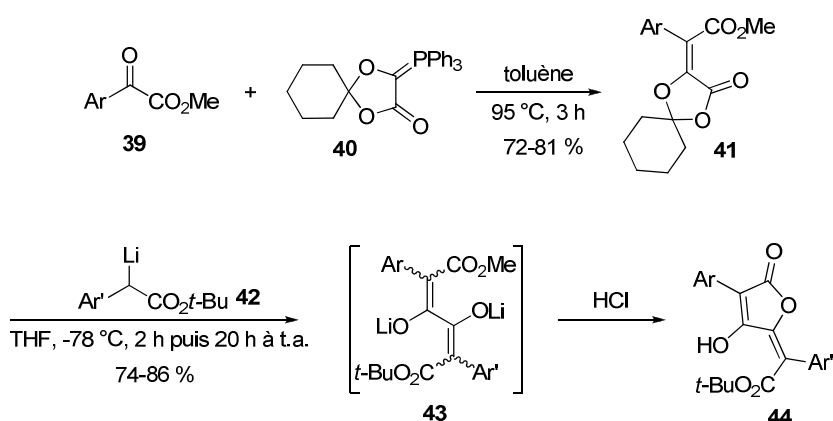
En faisant varier la nature de l'ester et celle du chlorure d'acide, Weinstock a préparé de nombreux dérivés pulviniques originaux. Il a réussi également à préparer des analogues d'acide vulpinique dans lesquels le groupement Ar a été remplacé par un groupement non-aromatique. Cependant, dans tous les cas, les rendements globaux obtenus restent faibles et ne dépassent pas les 10 %.

⁶⁵ Weinstock J., Blank J. E., Oh H.-J., Sutton B. M. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 673-676.

⁶⁶ Haynes L. J., Stanners A. H. *J. Chem. Soc.* **1956**, 4103-4107.

4. Utilisation d'une dioxolanone

Une autre voie d'accès, décrite par Ramage en 1984, utilise comme intermédiaire une dioxolanone⁶⁷. Ramage a utilisé une réaction d'oléfination entre un phosphorane **40** et un cétoester **39** pour obtenir la dioxolanone **41** sous forme d'un mélange d'isomères *Z* et *E*, qui sont séparés par chromatographie sur gel de silice (Schéma 16). L'isomère *E* est mis à réagir avec l'énolate lithié **42** pour conduire à un intermédiaire diénolate **43** qui, lors du traitement acide aqueux, cyclise pour donner l'acide vulpinique **44**. La régiosélectivité de la cyclisation est contrôlée par la différenciation des deux fonctions esters.



Cette séquence réactionnelle a permis la préparation d'acides pulviniques avec de bons rendements. Par exemple, l'acide xérocémique a été obtenu avec un rendement global de 60 % à partir du phosphorane **40**.

5. Réaction de dérivés silylés

5.1. Cyclisation de Langer

Plus récemment, Langer a développé un nouvel accès à des acides 5-alkylidènetétroniques par une réaction de condensation entre un diène silylé et le chlorure d'oxalyle⁶⁸. Dans cette approche, le 1,3-bis(triméthylsilyloxy)-1,3-diène **46** est obtenu par silylation du composé 1,3-dicarbonylé **45** (Schéma 17). La cyclisation de **46** avec le chlorure d'oxalyle catalysée par le triflate de triméthylsilyle, suivant le mécanisme décrit dans le Schéma 17, permet d'obtenir le buténolide **50**.

⁶⁷ Ramage R., Griffiths G. J., Sweeney J. N. A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1984**, 1547-1553.

⁶⁸ Langer P., Stoll M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1803-1805; Langer P., Schneider T., Stoll M. *Chem. Eur. J.* **2000**, 6, 3204-3214; Langer P., Eckardt T. *Synlett* **2000**, 844-846; Langer P., Eckardt T., Schneider T., Gobel C., Herbst-Irmer R. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 2222-2226.

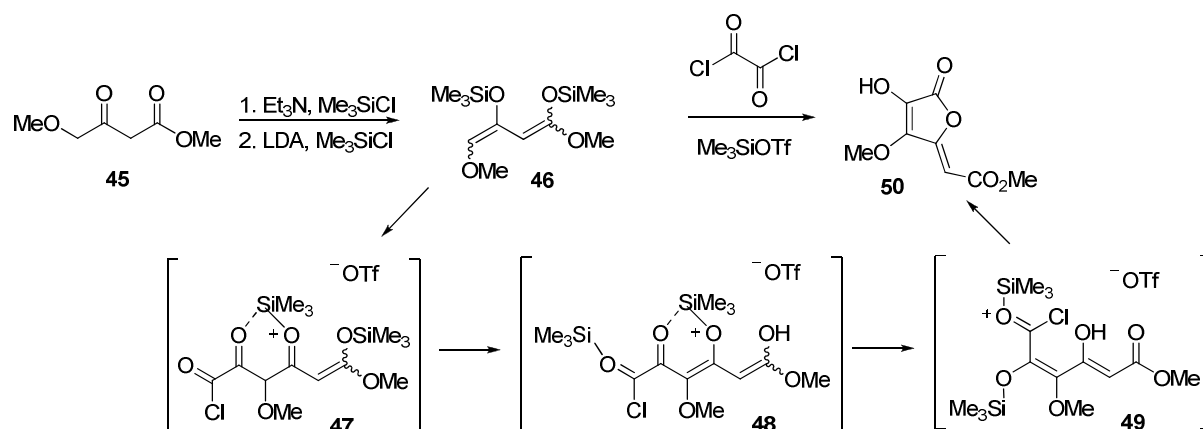


Schéma 17

Par la suite, Langer a appliqué cette méthodologie à la synthèse d'acides pulviniques^{69,70}. Dans notre laboratoire, nous avons également utilisé cette méthode dans le cadre de la synthèse totale de la norbadione A et pour obtenir de nouveaux acides pulviniques⁷¹. Dans ce cas, la formation du cétoester **52** est réalisée par une condensation de Claisen entre le méthoxyacétate de méthyle **51** et un arylacétate de méthyle **34** (Schéma 18). L'alkylidènebuténolide **54** est obtenu par deux étapes successives de silylation puis une cyclisation de Langer dans les conditions décrites précédemment. Ensuite le triflate **55** est préparé et des couplages de Suzuki-Miyaura avec des boronates **56** ont permis la formation de pulvinate de méthyle *O*-méthylés. Enfin les acides pulviniques sont obtenus par déprotection des groupements méthoxy par traitement avec de l'iodure de triméthylsilyle.

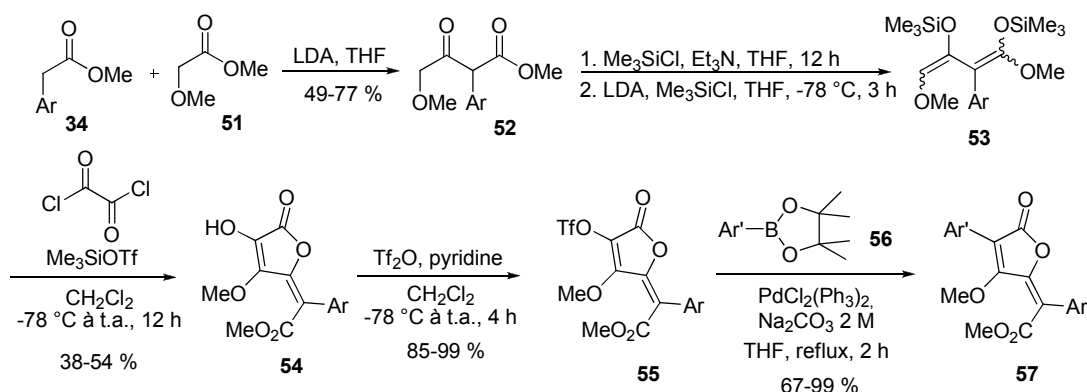


Schéma 18

⁶⁹ Ahmed Z., Langer P. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3753-3757.

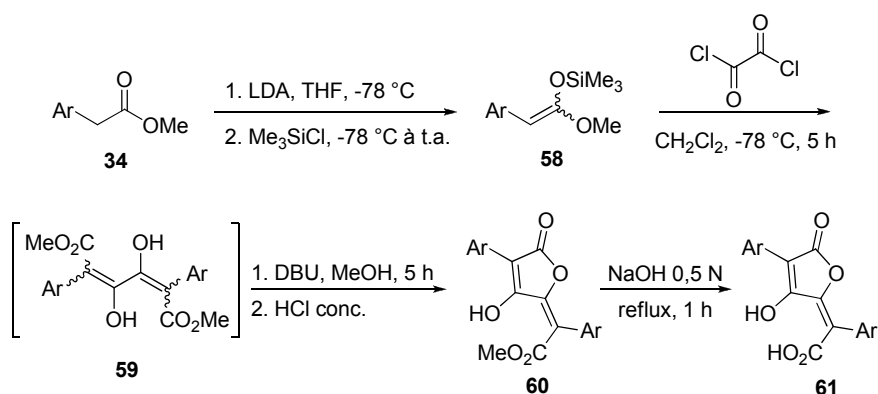
⁷⁰ Ahmed Z., Langer P. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 2055-2063; Ahmed Z., Albrecht U., Langer P. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 3469-3474.

⁷¹ Desage-El Murr M., Nowaczyk S., Le Gall T., Mioskowski C., Amekraz B., Moulin C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1289-1293; Desage-El Murr M., Nowaczyk S., Le Gall T., Mioskowski C. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 1489-1498; Bourdreux Y., Nowaczyk S., Billaud C., Mallinger A., Willis C., Desage-El Murr M., Toupet L., Lion C., Le Gall T., Mioskowski C. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 22-26.

Cette stratégie est très efficace et permet la préparation de nombreux acides pulviniques grâce notamment à la flexibilité apportée par le couplage au palladium. Cependant, le nombre d'étapes est relativement important et les intermédiaires silylés utilisés au cours de la synthèse sont instables et peu faciles à manipuler.

5.2. Condensation d'un acétal de cétène silylé

Dans notre laboratoire, une méthode de préparation d'acides pulviniques symétriques, reposant également sur l'utilisation d'un acétal de cétène silylé, a été développée^{72,73}. Le dérivé silylé **58** est obtenu à partir de l'arylacétate de méthyle **34**. Ensuite, la condensation de deux molécules de dérivé **58** sur le chlorure d'oxalyle a fourni la dicétone **59** qui n'est pas isolée. Le traitement avec deux équivalents de DBU a permis de provoquer une cyclisation intramoléculaire pour donner l'ester **60** sous forme d'un seul stéréoisomère. L'acide pulvinique **61** est ensuite préparé par saponification.



Cette approche permet la préparation d'acides pulviniques symétriques de façon très concise avec de bons rendements variant généralement de 60 à 75 %. Cette méthode n'a pas pour l'instant été efficacement adaptée à la synthèse d'acides pulviniques dissymétriques.

6. Utilisation d'un acide tétronique

Enfin, récemment, une nouvelle stratégie a été étudiée dans notre laboratoire. Elle fait appel à la condensation d'anions dérivés d'acides tétronomiques sur des cétoesters. Deux approches, comportant une même étape clé d'alkylidénation, ont été développées successivement.

⁷² Heurtaux B., Thèse de Doctorat, Université de Paris XI, Orsay, 2006.

⁷³ Heurtaux B., Lion C., Le Gall T., Mioskowski C. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1474-1477.

6.1. Utilisation du tétronate de benzyle

Dans cette première approche, l'acide tétronique est tout d'abord protégé sous forme d'un éther de benzyle **62** par réaction avec du carbonate de potassium et du bromure de benzyle (Schéma 20)⁷⁴. L'anion du tétronate de benzyle, formé par la déprotonation par le *n*-butyllithium de **62**, est additionné sur un benzoylformate pour conduire à l'alcool **63** sous forme de deux diastéréoisomères. La déshydratation, par l'anhydride trifluoroacétique en présence de DMAP et de triéthylamine, a permis la formation majoritaire de l'isomère *E* de **64**. La position 3 du motif tétronique est ensuite iodée en présence d'iode et de nitrate de cérium ammoniacal (CAN). Enfin, le dérivé iodé **65** est engagé dans des réactions de Suzuki avec différents arylboronates **66**. Plusieurs dérivés pulviniques **10** sont obtenus après hydrogénolyse en présence de palladium sur charbon des groupements benzyles protégeant la fonction énol et les fonctions phénols sur les groupements Ar et Ar'.

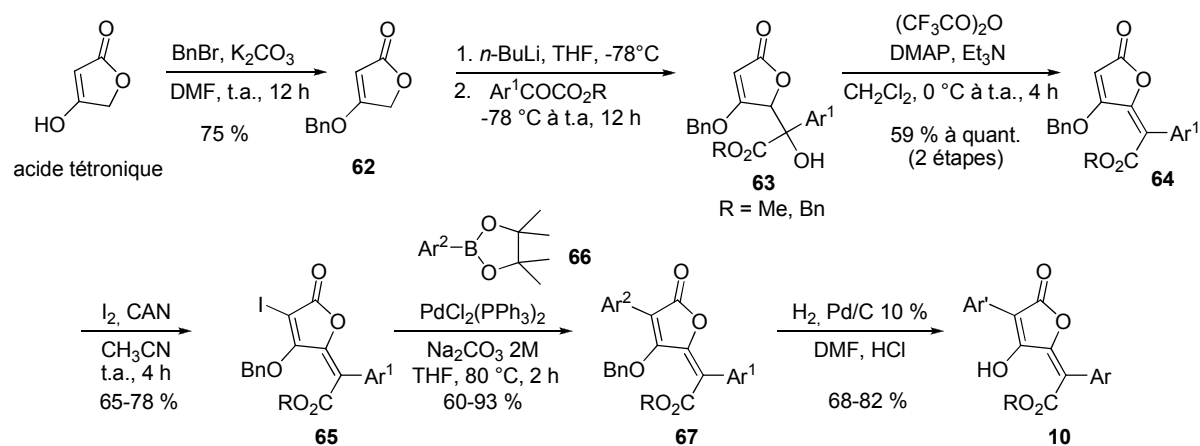


Schéma 20

6.2. Utilisation d'un acide 3-aryltétronique

Cette deuxième approche se base également sur une séquence d'alkylidénation entre un motif tétronique et un cétoester⁷⁵. Mais cette fois-ci, le motif tétronique utilisé est un acide 3-aryltétronique qui peut être synthétisé en une seule étape à partir d'un arylacétate et d'un hydroxyester⁷⁶. Ainsi, l'acide tétronique **70** est obtenu à partir du glycolate de méthyle **69** et du 4-méthoxyphénylacétate de méthyle **68** en présence de *tert*-butylate de potassium. La formation de **70** fait intervenir successivement une transestérification et une cyclisation de Dieckmann. L'addition du dianion de l'acide tétronique **70** généré avec du

⁷⁴ Willis C., Bodio E., Bourdreux Y., Billaud C., Le Gall T., Mioskowski C. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 6421-6424; Bourdreux Y., Bodio E., Willis C., Billaud C., Le Gall T., Mioskowski C. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 8930-8937.

⁷⁵ Mallinger A., Le Gall T., Mioskowski C. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 1124-1129.

⁷⁶ Mallinger A., Le Gall T., Mioskowski C. *Synlett* **2008**, 386-388.

diisopropylamide de lithium, sur un dérivé du benzoylformiate de méthyle fournit l'alcool **71**, sous forme d'un mélange de deux diastéréoisomères. La déshydratation de l'alcool **71**, effectuée en présence d'anhydride trifluoroacétique et de pyridine, conduit à un mélange d'isomères *Z* et *E* du pulvinate de méthyle **72**. Une isomérisation par irradiation sous UV permet d'obtenir uniquement l'isomère de configuration naturelle *E*.

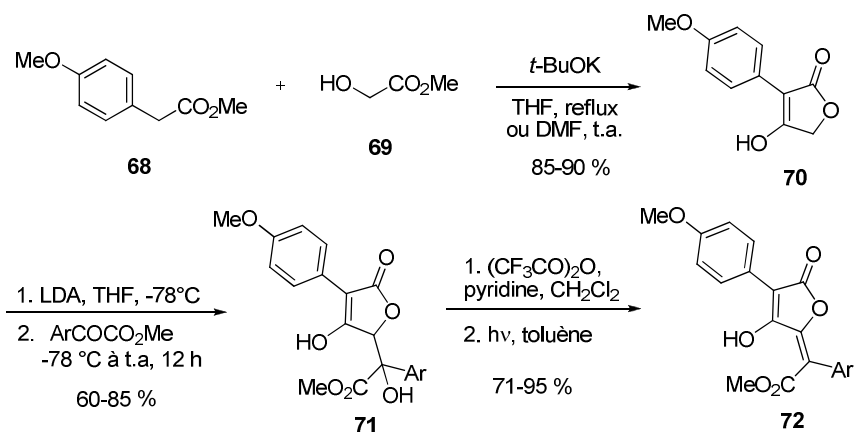


Schéma 21

III. Propriétés biologiques

Les acides pulviniques possèdent de nombreuses activités biologiques intéressantes. Ces activités ont fait l'objet de nombreux travaux de recherche depuis plusieurs dizaines d'années. La première propriété découverte fut l'hyperventilation, provoquée par l'acide vulpinique, qui engendrait des convulsions puis le décès chez certains animaux de laboratoire. Cette toxicité était déjà bien connue avant le 19^e siècle, notamment des esquimaux qui utilisaient des extraits de lichens contenant de l'acide vulpinique comme poison contre les loups. Et en 1952, Söderberg a démontré que l'acide vulpinique était bien à l'origine de l'hyperventilation par des expériences menées sur des chats et des cochons d'inde⁷⁷.

1. Activités biologiques décrites dans la littérature

Dans cette partie, nous allons détailler les principales études décrites dans la littérature concernant les propriétés biologiques des acides pulviniques.

1.1. Propriétés anti-inflammatoires

En 1975, O'Mant⁵³ et son équipe ont préparé de nombreux dérivés pulviniques, symétriques et dissymétriques, en utilisant la méthode décrite par Åkermark, afin d'évaluer leur potentiel

⁷⁷ Söderberg U. *Acta Physiol. Scand.* **1953**, 27, 97-98.

anti-inflammatoire. L'activité de chaque composé a été déterminée grâce à un test mis au point par Newbould⁷⁸ qui consiste à injecter des microbactéries à des rats, ce qui provoque les syndromes de l'arthrite, notamment une inflammation caractéristique. Ainsi, ils ont mis en évidence que des dérivés comportant un halogène en position méta d'un noyau aromatique, tels que **73** et **74**, avaient de bonnes propriétés anti-inflammatoires.

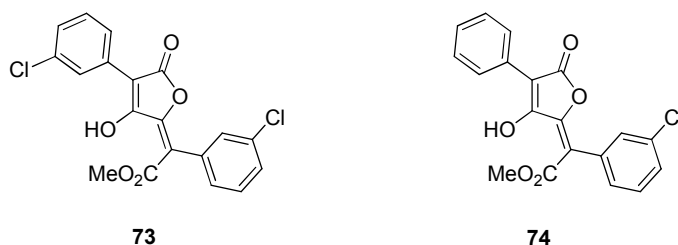


Figure 23

Cependant, des études toxicologiques ont révélé que **73** provoquait de l'hyperventilation chez le rat et le chien, donc ce composé a été abandonné. Par contre, **74** ne présentait pas cet effet secondaire, mais conduisait seulement à des problèmes gastriques, usuellement observés lors de la prise d'agents anti-inflammatoires.

1.2. Propriétés antimicrobiennes

L'activité antimicrobienne des acides pulviniques a intéressé de nombreuses équipes de recherche. Plus spécialement, des propriétés antibactériennes et antivirales ont été décrites dans la littérature.

Ainsi, Brady⁷⁹ a observé une activité antibactérienne de l'acide vulpinique par des tests de croissances bactériennes de *Bacillus subtilis*, de *Staphylococcus aureus* (staphylocoque doré), de *Mycobacterium smegmatis* et d'*Enterobacter aerogenes*. Cependant, son activité (12 à 50 µg/mL) reste modérée par rapport à la pénicilline ou à la tétracycline (0,02 à 2 µg/mL). En 2003, des travaux de Ross⁸⁰ et son équipe, sur l'acide vulpinique, ont confirmé cette propriété antibactérienne sur *Staphylococcus aureus*. Mais Ross a mesuré une activité de 2 µg/mL qui est bien supérieure à celle donnée par Brady.

D'autres acides pulviniques ont également montré des activités antibactériennes, comme l'acide pinastrique ou le dérivé **75**^{81,82}.

⁷⁸ Newbould B. B. *Brit. J. Pharmacol. Chemother.* **1963**, *21*, 127-136.

⁷⁹ Benedict R. G., Brady L. R. *J. Pharm. Sci.* **1972**, *61*, 1820-1822.

⁸⁰ Duncan C. J. G., Cuendet M., Fronczek F. R., Pezzuto J. M., Mehta R. G., Hamann M. T., Ross S. A. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 103-107.

⁸¹ van der Sar S. A., Blunt J. W., Cole A. L. J., Din L. B., Munro M. H. G. *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 1799-1801.

⁸² Dias D., White J. M., Urban S. *Nat. Prod. Res.* **2007**, *21*, 366-376.

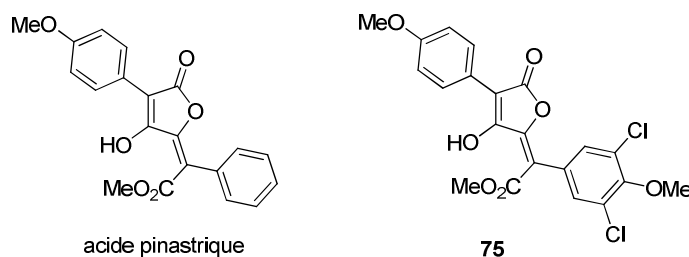


Figure 24

Des propriétés antivirales ont été également identifiées sur le virus de l'herpès, le virus de la polio⁸² et le virus de la grippe⁸³. L'acide pinastrique possède une forte activité contre le virus de l'herpès de type 1 (ATCC VR-733) et le virus de la polio de type 1 (ATCC VR-192) à des doses de 30 µg, sans montrer aucune cytotoxicité. Quant à l'acide vulpinique, il permet de lutter efficacement contre les virus de l'influenza de type A (Philippine) et de type B (Paraha) avec des valeurs d'ID₅₀ allant de 3,9 à 15,5 µg/mL en culture cellulaire. Cependant, il ne possède aucune activité contre le virus de l'influenza de type C et le virus de l'herpès.

1.3. Propriétés antioxydantes

Les acides pulviniques se sont révélés être également de bons antioxydants. Tout d'abord, Kasuga⁸⁴ a étudié l'activité antioxydante de l'acide variégatique par des tests de peroxydation du linoléate de méthyle et de l'acide linoléique. L'acide variégatique montre une forte activité antioxydante par comparaison avec le BHA (3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole) et l'α-tocophérol (constituant de la vitamine E). Cependant, à faible concentration, il paraît être pro-oxydant.

Dans notre laboratoire, un criblage à haut débit d'antioxydants a été mis au point et nous a permis ainsi d'identifier la famille des acides pulviniques comme antioxydants⁸⁵. Dans le chapitre suivant, les résultats obtenus au laboratoire par différents tests antioxydants seront résumés.

2. Etudes antioxydantes réalisées au laboratoire

Au laboratoire, deux tests principaux ont été utilisés jusque-là pour mesurer l'activité antioxydante de nos composés. Le premier est un test de protection de la thymidine et le second est un test de protection d'ADN. Dans cette partie, nous allons résumer les résultats obtenus, avant ce travail de thèse, par ces deux évaluations. Cependant, nous n'expliquerons

⁸³ Rashan L. J., Ayoub M. T., Al-Omar L., Al-Khayatt R. *W. J. Microbiol. Biotechnol.* **1990**, *6*, 155-158.

⁸⁴ Kasuga A., Aoyagi Y., Sugahara T. *J. Food Sci.* **1995**, *60*, 1113-1115.

⁸⁵ Meunier S., Desage-El Murr M., Nowaczyk S., Le Gall T., Pin S., Renault J.-P., Boquet D., Créminon C., Saint-Aman E., Valleix A., Taran F., Mioskowski C. *ChemBioChem* **2004**, *5*, 832-840; Meunier S., Hanédanian M., Desage-El Murr M., Nowaczyk S., Le Gall T., Pin S., Renault J.-P., Boquet D., Créminon C., Mioskowski C., Taran, F. *ChemBioChem* **2005**, *6*, 1234-1241.

que brièvement le principe de chaque test ; de plus amples détails seront donnés dans le chapitre 6.

Les résultats qui vont être présentés ci-dessous sont issus de travaux initiés par Stéphane Meunier⁸⁵ puis poursuivis par Mickaël Hanédanian, Benoît Heurtaux⁷² et Damien Habrant^{54,86}.

2.1. Test de protection de la thymidine⁸⁵

Ce test *in-vitro* a été mis au point au laboratoire par F. Taran (CEA/SCBM, Service de Chimie Bioorganique et de Marquage) en collaboration avec les équipes de C. Créminon et D. Boquet (CEA/SPI, Service de Pharmacologie et d'Immunoanalyse) et de S. Pin et J.-P. Renault (CEA/SIS2M, Service Interdisciplinaire sur les Systèmes Moléculaires et les Matériaux). Il s'appuie sur l'étude de la dégradation d'une cible biologique, la thymidine, nucléoside de l'ADN, soumise à un stress oxydant : irradiation γ , irradiation UV à 254 nm en présence de peroxyde d'hydrogène ou stress de type Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$). La thymidine intacte est ensuite quantifiée par un dosage immuno-enzymatique qui fait appel à un anticorps spécifique de la thymidine (cf. chapitre 6). Ce test est réalisé dans des plaques 96 puits et a permis dans un premier temps de tester simultanément un grand nombre de composés comportant des fonctions phénols ou thiols (Figure 25). Ce criblage de composés a mis en évidence les propriétés antioxydantes remarquables de la norbadione A sous une irradiation γ . En effet, c'est la seule molécule qui a donné plus de 80 % de protection de la thymidine.

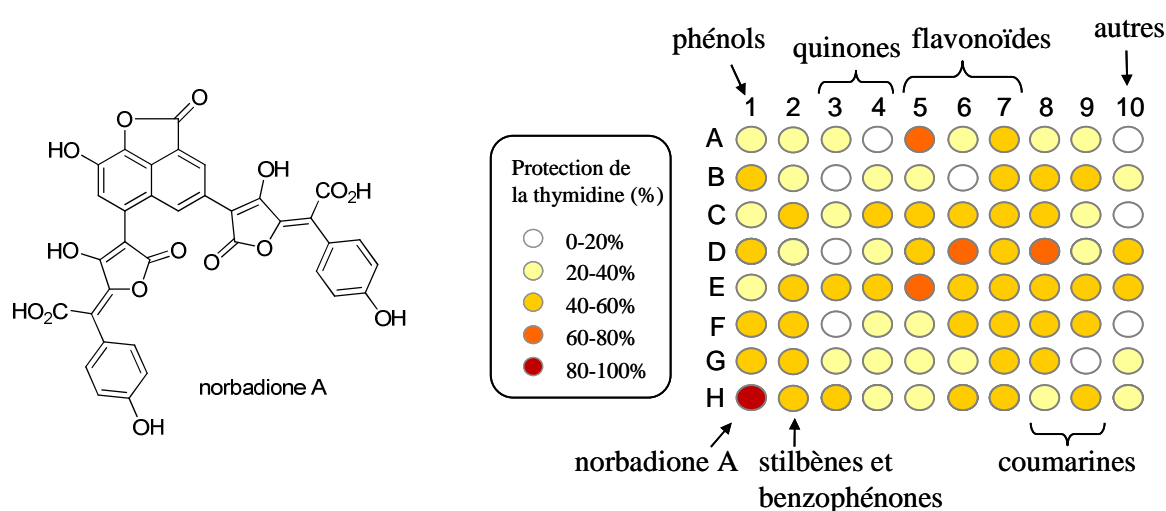


Figure 25

⁸⁶ Habrant D., Poigny S., Ségur-Derai M., Brunel Y., Heurtaux B., Le Gall T., Strehle A., Saladin R., Meunier S., Mioskowski C., Wagner A. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 2454-2464.

L'activité antioxydante de la norbadione A a été ensuite confirmée sous irradiation UV. Par contre, dans le cas d'un stress oxydant de type Fenton, elle ne protège que faiblement la thymidine. Ce résultat est peut être dû à un effet pro-oxydant de la norbadione A dans ces conditions ou bien à son incapacité à capter les espèces oxydantes métalliques générées par ce stress. Suite à ce résultat, il paraissait intéressant d'étudier des molécules analogues à la norbadione A, notamment les acides pulviniques. Dans le cas de la protection de la thymidine, ils ont donné de bons résultats dans les conditions de radiolyse et UV mais également dans les conditions de Fenton. Donc, les acides pulviniques ne présentent pas, *a priori*, les mêmes effets pro-oxydants que la norbadione A.

Avant de démarrer un programme de synthèse, une étude préliminaire de relation structure-activité avait été réalisée sur des dérivés d'acides pulviniques afin de déterminer l'importance du système conjugué dans lequel est incorporée la fonction énol (Figure 26).

Dans cette série de tests de protection de la thymidine sous irradiation γ , la norbadione A a donné le meilleur résultat de protection de la thymidine avec 82 %. L'acide pulvinique et l'acide vulpinique ont été un peu moins efficaces, conduisant à des protections d'environ 60 %. Cependant, leur activité reste supérieure à des antioxydants connus comme le trolox, l'acide ascorbique et l'amifostine, qui conduisent à des protections respectives de 38, 10 et 35 %.

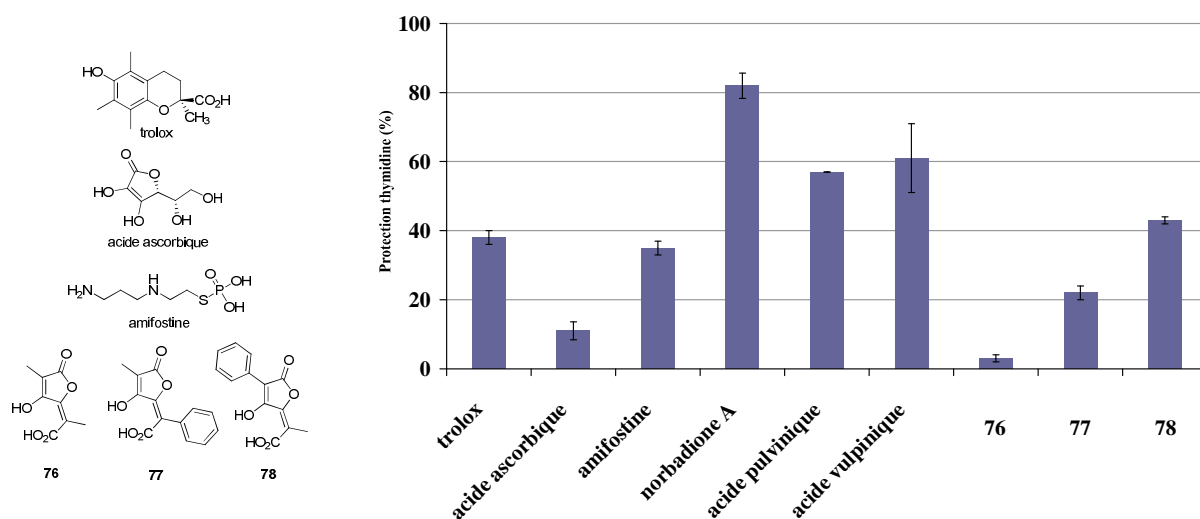


Figure 26

Il est à noter que le passage de la fonction acide carboxylique à un ester méthylique a peu d'incidence sur l'activité. Ensuite, le composé **76**, comportant deux groupements méthyles, a

donné la plus faible protection de la série, suivi du composé **77** comportant un seul groupement méthyle lié la lactone. Quant au composé **78**, qui comporte un seul groupement aromatique lié à la lactone, il a conduit à une protection de la thymidine plus faible que celle induite par des acides pulviniques, mais néanmoins supérieure à celles due aux antioxydants utilisés comme références. Ces résultats ont montré l'importance de la présence d'un groupement aromatique, en position 3 de la lactone, pour l'activité antioxydante des acides pulviniques. De ce fait, la nature du pouvoir antioxydant des acides pulviniques proviendrait d'un part de leur capacité à piéger des radicaux par la fonction éno, et d'autre part, de leur aptitude à stabiliser le radical (Schéma 22). En effet, dans le cas du dérivé **77**, qui présente une activité antioxydante faible, le radical formé ne peut se délocaliser que dans la partie lactone. Alors que pour l'acide pulvinique, dont le pouvoir antioxydant est supérieur, le radical a la capacité de se délocaliser dans la lactone mais également dans le noyau aromatique.

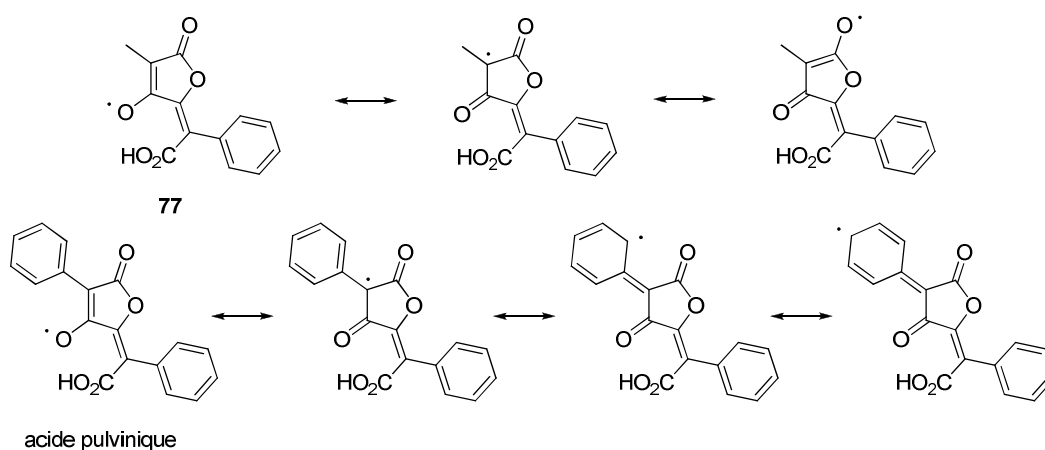


Schéma 22

Par la suite, plusieurs dérivés pulviniques symétriques **61** comportant des groupements aromatiques ou hétéroaromatiques ont été préparés et évalués par le test de protection de la thymidine. Ils ont conduit en général à une bonne protection de la thymidine, avec des valeurs allant de 40 à 68 %. Les composés ont pu être classés du plus actif au moins actif, en fonction du groupement aromatique, de la manière suivante :

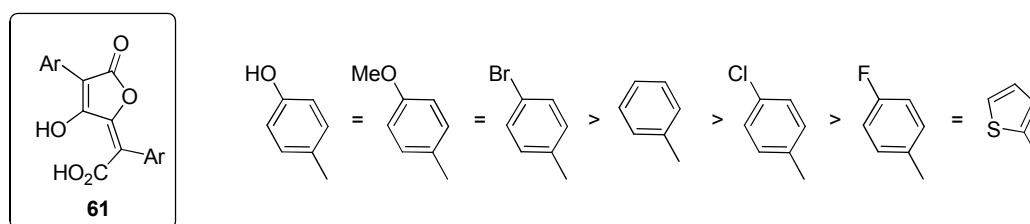


Figure 27

2.2. Test de protection de plasmide

Ce test consiste à étudier la dégradation d'un plasmide (ADN double brin superenroulé, non chromosomique, extrait d'une bactérie) soumis à un stress oxydant en présence d'un composé potentiellement antioxydant. L'action du stress oxydant peut conduire à des coupures simple brin, générant un ADN circulaire, ou à des coupures double brin, générant un ADN linéaire. Les différentes formes d'ADN obtenues sont séparées puis quantifiées afin de déterminer la protection engendrée par le composé présent.

Dans le cas d'une irradiation γ , la norbadione A est un excellent protecteur de plasmide. Par contre, dans le cas d'un stress Fenton, aucune protection n'a été observée. De plus, de multiples fragments d'ADN ont été obtenus ce qui confirme l'effet pro-oxydant de la norbadione A dans ces conditions.

En ce qui concerne les acides pulviniques, sous une irradiation γ , certains d'entre eux ont permis une protection supérieure à celle de la norbadione A. Et en général, tous les dérivés pulviniques évalués étaient plus efficaces que certains antioxydants connus comme l'acide ascorbique ou l'amifostine. Mais pour les acides pulviniques aromatiques symétriques **61**, l'influence des groupements sur l'indice de protection était un peu différente de celle observée dans le cas du test à la thymidine. En effet, les meilleurs résultats ont été obtenus, dans ce cas, avec les dérivés comportant des groupements 4-bromophényles et 2-thiényles. Ensuite, les autres composés ont été classés, en fonction de leur indice de protection, de la manière suivante :

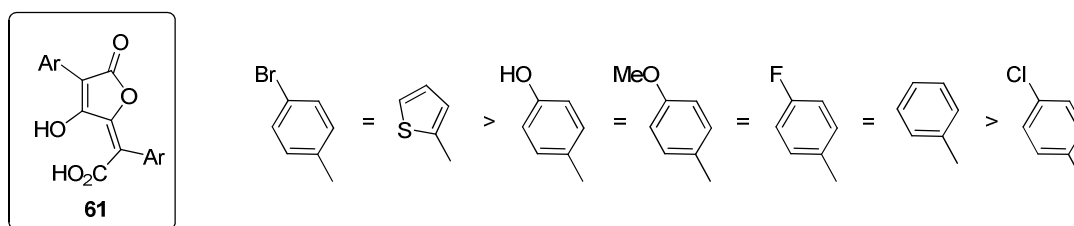


Figure 28

D'autres dérivés d'acides pulviniques ont également été préparés et évalués à l'aide des deux tests présentés précédemment. Il s'agit d'une part d'amides de types **79** et d'autre part de sels d'amines de type **80** (Figure 29). Ces produits ont été préparés dans le but de rendre les dérivés pulviniques plus solubles en milieu aqueux. Cependant que ce soit les dérivés amides

ou bien les sels d'amines, les indices de protection de la thymidine ou de plasmide étaient plus faibles que dans le cas des acides correspondants, sauf cas exceptionnel.

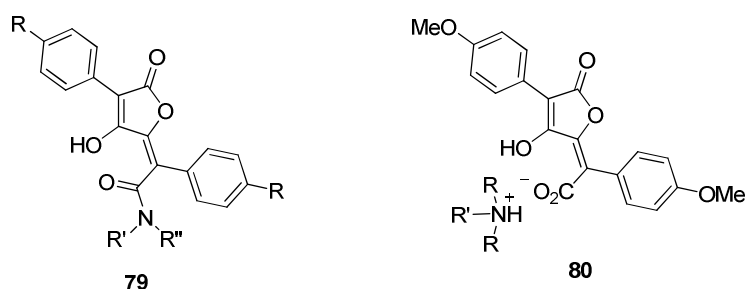


Figure 29

2.3. Toxicité

Des études d'évaluation de la toxicité *in vitro* et *in vivo* de la norbadiolone A et de certains acides pulviniques ont été réalisées. Des premiers tests ont été effectués tout d'abord sur des lignées cellulaires V79 (fibroblastes de poumon de hamster de Chine) par le Dr. F. Leteurtre (CEA, SBIGeM). La norbadiolone A s'est révélée être toxique pour la croissance des cellules V79. En effet à une concentration de 40 μM , la norbadiolone A a engendré une inhibition de 50 % de la croissance cellulaire. Par contre, les acides pulviniques évalués ne se sont pas révélés être toxiques pour les cellules V79 dans les limites de solubilité des différents dérivés (de 500 à 1000 μM).

Ces résultats ont été confirmés par une étude toxicologique *in vivo* réalisée par le Dr. Rima (Université Paul Sabatier de Toulouse) chez la souris. Dans ce cas, la norbadiolone A a montré une toxicité élevée, d'environ 59 mg/kg. Pour les acides pulviniques évalués, aucune toxicité n'a été observée à la limite de leur solubilité (environ 200 mg/kg)

IV. Conclusion et objectifs du travail

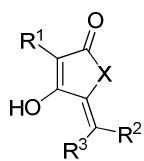
Les acides pulviniques sont des pigments de champignons et de lichens. L'acide vulpinique, ou pulvinate de méthyle, a été isolé pour la première fois en 1831 et la première synthèse décrite d'un acide pulvinique date de 1894. Depuis, de nombreux papiers concernant leur synthèse ou la description de leurs propriétés biologiques ont été publiés.

Au laboratoire, grâce à un criblage à haut débit, la norbadione A et plusieurs acides pulviniques ont été identifiés comme étant d'excellents antioxydants. Cependant, les acides pulviniques, contrairement à la norbadione A, n'ont montré aucune activité pro-oxydante dans les conditions de Fenton mais également aucune toxicité *in vitro* et *in vivo*. La synthèse de dérivés d'acides pulviniques est donc particulièrement intéressante afin d'accéder à de nouvelles molécules potentiellement antioxydantes.

Ce travail de thèse est réalisé dans le cadre d'un projet financé par la DGA (Direction Générale pour l'Armement) intitulé PROPERGAL. Il s'agit d'un projet de recherche pour l'élaboration d'agents de protection contre les rayonnements ionisants et d'agents de décontamination. Pour notre part, nous nous intéresserons seulement à la partie protection.

La préparation et l'évaluation de nouveaux agents de protection contre les rayonnements ionisants dérivés d'acides pulviniques est donc l'objectif de cette thèse. À long terme, les applications visées de tels composés sont, tout d'abord, la protection de personnes évoluant en milieux contaminés. Leur utilisation peut également permettre la préservation des tissus sains lors de traitements de cancers par radiothérapie.

Nous avons envisagé des modifications ciblées des acides pulviniques pour nous permettre de progresser un peu plus dans l'étude structure-activité de tels motifs (Figure 30). Tout d'abord, nous envisageons de synthétiser des acides pulviniques dissymétriques pour étudier, séparément, l'influence des deux noyaux aromatiques présents sur la structure. D'autre part, les groupements R¹ et R² pourraient être remplacés par d'autres fonctions insaturées, telles que des carbonyles, afin de connaître leur capacité à stabiliser le radical formé sur la fonction énole. Enfin, l'oxygène intracyclique de la lactone pourrait être remplacé par un atome de soufre ou d'azote pour étudier l'influence de la nature de l'hétérocycle sur le pouvoir antioxydant des dérivés d'acides pulviniques.



R^1 = aromatique, hétéroaromatique, carbonyle.

R^2 = aromatique, hétéroaromatique, carbonyle.

R^3 = carbonyle, H.

X = O, S, NR.

Figure 30

Toutes les combinaisons des modifications envisagées sont difficilement accessibles par une seule et même voie de synthèse. Plusieurs voies d'accès devront donc être utilisées afin de nous permettre la préparation des dérivés souhaités. Dans un premier temps, des acides pulviniques dissymétriques seront synthétisés afin d'étudier l'effet des substituants présents sur chacun des deux aromatiques. Les travaux réalisés pour la préparation de ces dérivés pulviniques sont décrits dans le chapitre suivant.

Chapitre 3 : Synthèse d'analogues d'acides pulviniques

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, diverses voies de synthèse d'acides pulviniques ont été développées. Cependant, pour la plupart, elles ne permettent que des modifications restreintes des substituants ou bien mettent en jeu des produits de départ difficiles d'accès. Nous avons donc envisagé de préparer un synthon commun **82** (Schéma 23) qui nous permettrait d'introduire une grande variété de groupements R^1 et R^2 de manière concise et à partir de produits commerciaux ou faciles d'accès. Cette variété de composés **83** envisagés permettra par la suite une étude de l'influence des différents groupements introduits sur l'activité antioxydante.

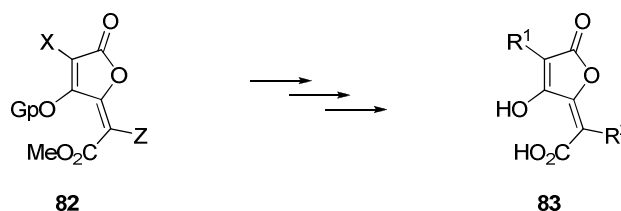


Schéma 23

Afin de réaliser la synthèse du synthon **82**, deux approches distinctes ont été étudiées successivement.

I. Première approche : addition d'un acide tétronique

Pour cette première approche, nous nous sommes appuyés sur des travaux précédemment menés au laboratoire. Dans le rappel bibliographique sur les acides pulviniques, une synthèse réalisée au laboratoire, faisant appel à un dérivé benzylé de l'acide tétronique, a été décrite⁷⁴. Par cette méthode, divers groupements aryles R^1 ont pu être introduits sur le motif pulvinique via une séquence réactionnelle : alkyldénation, halogénéation puis couplage de Suzuki-Miyaura.

Par notre nouvelle approche, nous envisagions de réaliser tout d'abord une alkyldénation puis l'introduction successive des groupements R^1 et R^2 par des couplages de Suzuki-Miyaura.

1. Etude rétrosynthétique

Dans cette stratégie, l'acide pulvinique **83** serait formé par un premier couplage de Suzuki-Miyaura à partir du dérivé **84** préalablement halogéné en position 3. Le groupement R² pourrait être introduit par un second couplage de Suzuki-Miyaura sur le triflate dérivé de l'intermédiaire **85**. Enfin, ce dernier serait obtenu par addition d'un dérivé de l'acide tétronique **86** sur un cétoester **87**.

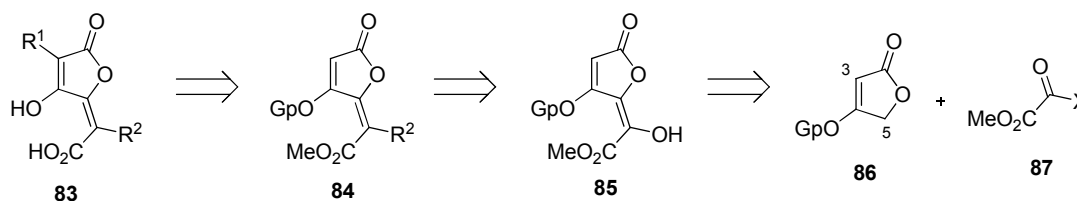


Schéma 24

Cette stratégie de synthèse permettrait un accès rapide à un grand nombre de dérivés à partir d'un synthon commun qui pourrait être préparé en une seule étape.

2. Synthèse du synthon commun 90

Afin de réaliser la synthèse du synthon **90** (Schéma 25) par addition du tétronate de méthyle sur un oxoacétate de méthyle **87**, nous avons envisagé deux méthodes différentes. La première fait appel à la formation d'un énolate lithié **89** qui est directement additionné sur le dérivé carbonyle souhaité **87** (méthode A). Quant à la seconde, elle passe par la formation préalable d'un dérivé silylé **91** qui est isolé puis utilisé pour réaliser les additions désirées (méthode B). Pour ces réactions, le tétronate de méthyle **88** a été employé d'une part parce qu'il est commercial et d'autre part parce que la déprotection du groupement méthoxy situé sur la lactone de dérivés pulviniques est déjà décrite^{63,69,87}.

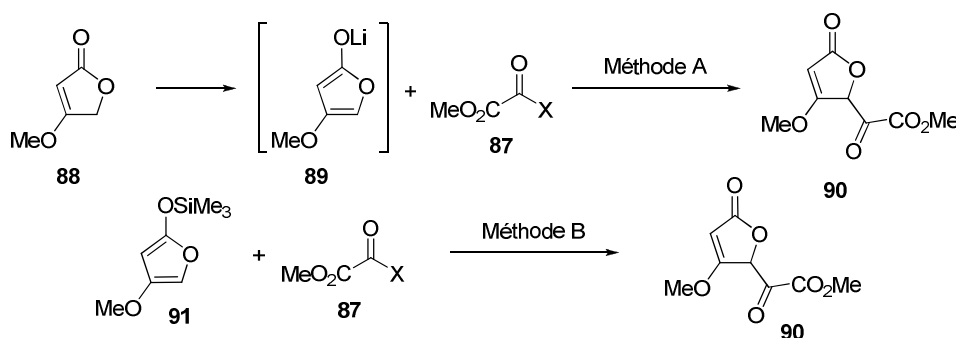


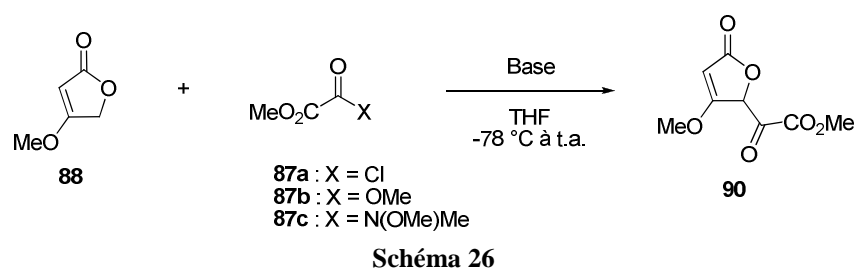
Schéma 25

⁸⁷ Gill M., Kiefel M. J., Lally D. A., Ten A. *Aust. J. Chem.* **1990**, *43*, 1497-1518.

2.1. Passage par un énolate lithié (méthode A)

La formation d'un énolate sur un motif tétronique est bien décrite dans la littérature^{61,88,89}. Généralement, elle fait appel à des bases fortes lithiées telles que le *n*-BuLi ou la LDA et se réalise à -78 °C.

Nous avons donc réalisé différents essais en modifiant la base utilisée, l'électrophile **87**, le nombre d'équivalents ou bien le temps de réaction. Un récapitulatif des expériences réalisées est donné ci-dessous (Tableau 1).



entrée	87	éq. de 87	base	éq. de base	temps de réaction (h)	résultat
1	87a	1,1	<i>n</i> -BuLi	1,1	1	mélange complexe
2	87a	2	<i>n</i> -BuLi	1,1	1	mélange complexe
3	87a	2	<i>n</i> -BuLi	1,1	12	mélange complexe
4	87a	2	LDA	1,1	12	mélange complexe
5	87b	2	<i>n</i> -BuLi	1,1	12	pas de réaction
6	87c	1,1	LDA	1,1	12	pas de réaction
7	87c	1,1	LiHMDS	1,1	12	pas de réaction
8	87c	1,1	LDA	1,1	1	pas de réaction
9	87c	2	LDA	1,1	1	pas de réaction
10	87c	2	LDA	2	1	pas de réaction
11	87c	2	LDA	3	1	pas de réaction

Tableau 1

L'utilisation du chlorooxoacétate de méthyle **87a** dans cette réaction conduit, dans tous les cas, à un mélange de produits, quels que soient la base, le nombre d'équivalents ou le temps de réaction (entrées 1 à 4). En RMN ¹H, de nombreux pics correspondants à des groupements méthyles dans la région 3,5 à 4 ppm, sont observables. Les tentatives de purifications par

⁸⁸ Pelter A., Al-Bayati R. I. H., Ayoub M. T., Lewis W., Pardasani P., Hansel R. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1987**, 717-742.

⁸⁹ Honda T., Satoh A., Yamada T., Hayakawa T., Kanai K. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 397-406; Paintner F. F., Bauschke G., Kestel M. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 9977-9980.

chromatographie sur gel de silice n'ont pas permis d'isoler et d'identifier les produits obtenus. Nous en avons conclu que cet électrophile était trop réactif. Nous avons alors essayé d'utiliser l'oxalate de diméthyle **87b**, mais dans ce cas aucune réaction ne se passe (entrée 5). De même, l'utilisation de l'amide de Weinreb **87c** (entrées 6 à 11), dans différentes conditions, n'a conduit à aucune réaction.

Suite aux résultats décevants obtenus par formation de l'énolate lithié du tétronate de méthyle pour obtenir notre synthon **90**, nous nous sommes dirigés vers l'utilisation d'un dérivé silylé.

2.2. Utilisation d'un dérivé silylé (méthode B)

En 1987, Pelter a décrit la formation et l'utilisation du 4-méthoxy-2-(triméthylsiloxy)furan **91** en tant que nucléophile pour réaliser des additions sur différents substrats tels qu'un orthoester, des acétals, un aldéhyde ou l'acétone⁸⁸. Nous avons donc voulu utiliser cet émol silylé pour effectuer notre réaction d'addition sur des cétoesters. Tout d'abord, nous avons synthétisé le dérivé silylé **91** en utilisant les conditions données par Pelter.

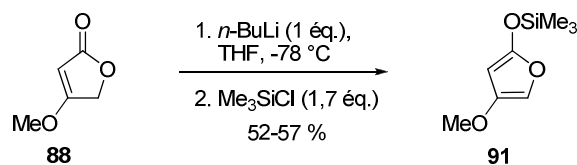


Schéma 27

Puis nous avons utilisé **91** pour réaliser des réactions avec le chlorure d'acide **87a** ou l'amide de Weinreb **87c** afin d'obtenir le composé **90**.

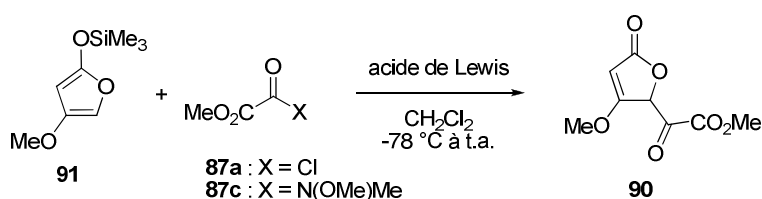


Schéma 28

Les réactions effectuées avec le dérivé silylé **91** étaient, en général, plus propres que celles employant l'énolate lithié **89**. En effet, après réaction, en RMN ¹H, le nombre de pics correspondants aux groupements méthyles était moins important. Cependant, la réaction avec le chlorooxoacétate de méthyle, dans toutes les conditions testées, où la nature de l'acide de Lewis, le nombre d'équivalents ou le temps de réaction ont été modifiés (entrées 1 à 8), n'a jamais permis d'isoler le produit désiré. Et l'utilisation de l'amide de Weinreb dans cette

réaction (entrée 9), n'a conduit, comme avec une base lithiée, qu'à l'isolement des produits de départ.

entrée	87	éq. de 87	acide de Lewis	éq. d'acide de Lewis	temps de réaction (h)
1	87a	1	/	/	3
2	87a	3	Me ₃ SiOTf	0,3	3
3	87a	3	Me ₃ SiOTf	0,3	12
4	87a	3	TiCl ₄	0,3	12
5	87a	3	ZnBr ₂	0,3	12
6	87a	3	BF ₃ .Et ₂ O	1	12
7	87a	2	BF ₃ .Et ₂ O	1	12
8	87a	2	BF ₃ .Et ₂ O	2	12
9	87c	2	BF ₃ .Et ₂ O	1	12

Tableau 2

Malgré les nombreuses tentatives réalisées pour former le composé **90**, nous n'avons jamais été en mesure d'isoler le produit souhaité. Nous nous sommes donc dirigés vers une nouvelle voie d'accès.

II. Deuxième approche : utilisation du tartrate de diméthyle

Cette nouvelle approche se base sur une stratégie tout à fait différente de la précédente. En effet, les étapes clés de cette voie sont une cyclisation de Dieckmann, une déshydratation puis deux couplages de Suzuki-Miyaura.

1. Etude rétrosynthétique

Par cette voie, l'acide pulvinique **83** serait obtenu par un couplage de Suzuki-Miyaura soit sur la position 3 de la lactone à partir du dérivé **84**, ou bien sur la double liaison exocyclique à partir de l'intermédiaire **93** (Schéma 29).

Le groupement R² présent sur **84** pourrait être introduit à partir de **95** par une séquence de déshydratation suivie d'une halogénéation et d'un couplage de Suzuki-Miyaura de **92**. Cette approche n'est envisageable que si la réaction d'halogénéation réalisée sur **92**, en présence des deux doubles liaisons, est sélective. Dans le cas contraire, nous pourrions passer par le dérivé **93** qui serait obtenu, à partir de **94**, par un couplage de Suzuki-Miyaura permettant d'introduire le groupement R¹, suivi d'une déshydratation pour former la double liaison

exocyclique. Dans ce cas, il n'y aurait plus de problème de sélectivité lors de l'étape d'halogénéation. Enfin, l'hydroxyester **95** pourrait être formé à partir du *O*-acétyltartrate de diméthyle **96** par une cyclisation de Dieckmann.

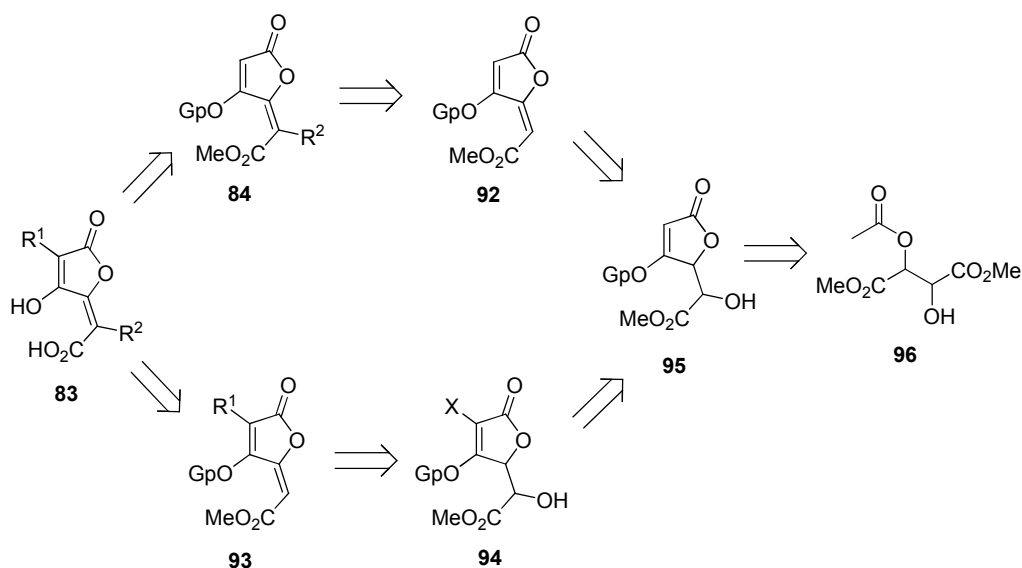


Schéma 29

Cette approche permettrait, comme la précédente, un accès rapide à un grand nombre de dérivés à partir d'un synthon commun **95** qui serait préparé facilement à partir de produits commerciaux.

2. Rappels sur la cyclisation de Dieckmann

En 1894, Dieckmann⁹⁰ réalisa la condensation de Claisen intramoléculaire de l'adipate de diéthyle **97** en présence de sodium et de traces d'éthanol (Schéma 30).

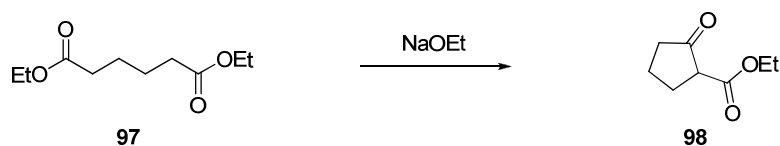


Schéma 30

Cette réaction est maintenant connue sous le nom de cyclisation de Dieckmann et fait partie des réactions les plus utilisées pour former des cycles à cinq ou six chaînons⁹¹.

La réaction de Dieckmann classique se déroule suivant un processus équilibré (Schéma 31). L'étape initiale est la formation, catalysée par la base, d'un énolate sur une fonction ester **99**.

⁹⁰ Dieckmann W. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, 27, 102-103.

⁹¹ Davis B. R., Garrett P. J. In *Comprehensive Organic Synthesis* Vol. 2, Trost B. M., Fleming I. Eds. Pergamon: Oxford **1991**, 806-829; Schaefer J. P., Bloomfield J. J. *Org. React.* **1967**, 15, 1-203.

Ensuite, la réaction de l'énolate sur la deuxième fonction ester se produit. Elle permet une cyclisation *n*-exo-trig, suivant la terminologie de Baldwin, et elle est l'étape cinétiquement limitante de la réaction. Puis, le départ de l'alcoolate est immédiat et conduit à la formation du β -cétoester **98**.

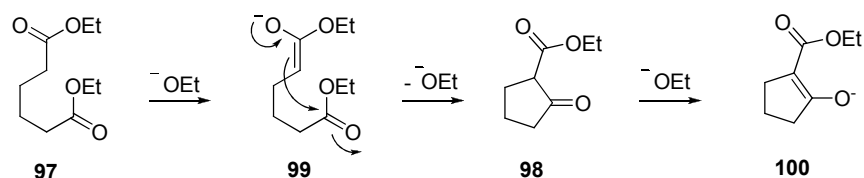


Schéma 31

La formation d'un acide tétronique par la cyclisation de Dieckmann a été décrite pour la première fois par Lacey⁹² en 1954 (Schéma 32). Il réalisa alors la cyclisation de l'acétoacétate **101** pour conduire à la formation de l'acide tétronique **102** en présence d'éthylate de sodium avec un très bon rendement.

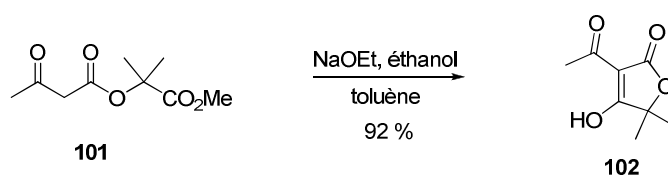


Schéma 32

Mais Lacey indique que lorsque la réaction est menée à partir de l'homologue de **101** ne possédant qu'un seul groupement méthyle en α de l'ester méthylique, le rendement chute à environ 50 %. Cependant, de meilleurs rendements ont été obtenus ultérieurement en changeant la base utilisée. Par exemple, Ley⁹³ a obtenu 85 % de rendement en utilisant du fluorure de tétrabutylammonium. Et Bloomer⁹⁴, en utilisant du *tert*-butylate de potassium dans du *tert*-butanol à reflux, a obtenu 95 % de rendement.

De nos jours, cette réaction est, de loin, la méthode la plus employée pour synthétiser des motifs acides tétroniques au cours de synthèses totales^{95,96,97}.

⁹² Lacey R. N. *J. Chem. Soc.* **1954**, 832-839.

⁹³ Booth P. M., Fox C. M. J., Ley S. V. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1* **1987**, 121-129.

⁹⁴ Bloomer J. L., Kappler F. E. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1* **1976**, 1485-1491.

⁹⁵ Bernier D., Moser F., Brückner R. *Synthesis* **2007**, 2240-2248.

⁹⁶ Bernier D., Brückner R. *Synthesis* **2007**, 2249-2272.

⁹⁷ a) Retipolide E, ornatipolide: Ingerl A., Justus K., Hellwig V., Steglich W. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 6548-6557; b) Abyssomicine C, atropabyssomicine C, and abyssomicine D: Nicolaou K. C., Harrison S. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 429-440; c) (+)- Tetronolide: Boeckman R. K. Jr., Shao P., Wroblewski S. T., Boehmler D. J., Heintzelman G. R., Barbosa A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 10572-10588; d) Quartromicines: Trullinger T. K., Qi, J., Roush W. R. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6915-6922; e) Inhibiteurs de β -secretase : Larbig G., Schmidt B. *J. Comb. Chem.* **2006**, *8*, 480-490.

3. Cyclisation du *O*-acétyltartrate de diméthyle

Dans le but d'obtenir le dérivé **95** (Schéma 33), nous devons tout d'abord réaliser la cyclisation du monoacétate **96**, puis la protection de l'acide tétronique formé.

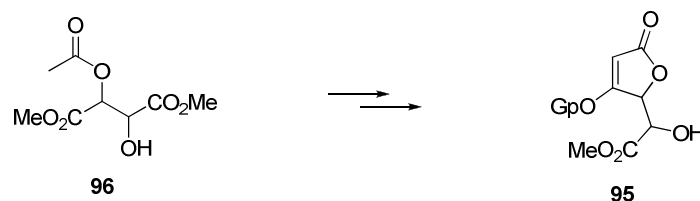


Schéma 33

En 1984, Brandänge⁹⁸ a décrit la cyclisation du *O*-acétyltartrate de diméthyle **103** par la réaction de Dieckmann (Schéma 34). Pour cela, il a utilisé de la bis(triméthylsilyl)amidure de lithium dans du THF à -78 °C et il a obtenu l'acide tétronique **104** avec 78 % de rendement au bout d'une heure de réaction.

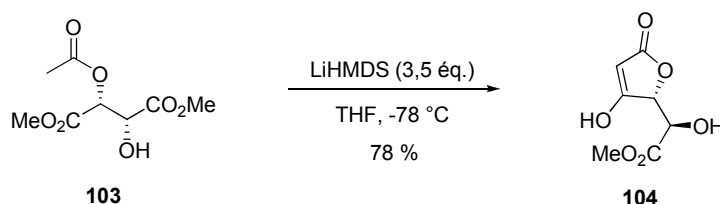


Schéma 34

Nous avons donc préparé le mono-acétate **103**, afin d'utiliser les conditions d'écrites par Brandänge. Pour cela, nous avons employé la méthode de Pagenkopf (Schéma 35)⁹⁹. La réaction est accomplie à partir du *L*-tartrate de diméthyle **105** en présence d'orthoacétate de triméthyle et d'une quantité catalytique d'acide *para*-toluènesulfonique dans du THF. Cette méthode nous a permis de préparer le produit souhaité **103** avec un rendement de 89 %.

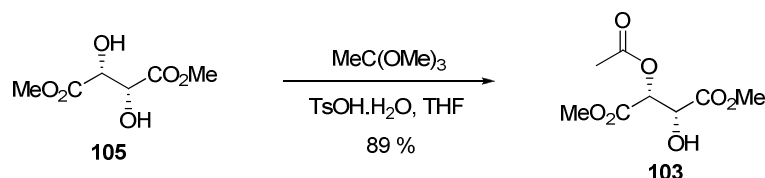


Schéma 35

Ensuite, le produit **103** a été placé dans les conditions de cyclisation de Dieckmann décrites par Brandänge. Après traitement de la réaction, le produit brut obtenu contenait de façon

⁹⁸ Brandänge S., Flodman L., Norberg A. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 927-928.

⁹⁹ Wang J., Pagenkopf B. L. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3703-3706.

majoritaire le composé souhaité. Cependant, malgré plusieurs essais de recristallisation ou de purification par chromatographie sur gel de silice, nous n'avons jamais isolé de manière pure le composé **104**.

Pour essayer de contourner ce problème, nous avons tenté de transformer le mono-acétate **103** sans l'isoler. Pour cela, nous avons réalisé différentes réactions, soit directement sur le produit brut après traitement de la réaction (Schéma 36), ou bien dans le même pot que la cyclisation de Dieckmann (Schéma 37).

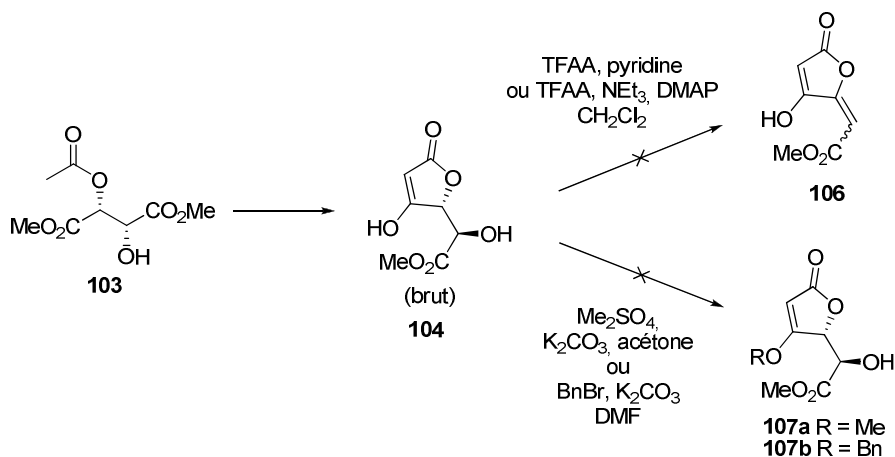


Schéma 36

A la suite de la cyclisation de Dieckmann de **103** et après traitement de la réaction, nous avons tenté d'une part d'effectuer une réaction de déshydratation pour former la double liaison exocyclique conduisant à l'alcène **106** et d'autre part une protection de l'énol présent sur la lactone sous forme d'éther de méthyle **107a** ou d'éther de benzyle **107b**. Mais dans tous les cas, nous n'avons obtenu que des mélanges de produits non identifiés.

Les tentatives de réactions en un seul pot, pour introduire un brome en position 3 de la lactone ou pour benzyler la fonction énol, n'ont pas donné de meilleurs résultats.

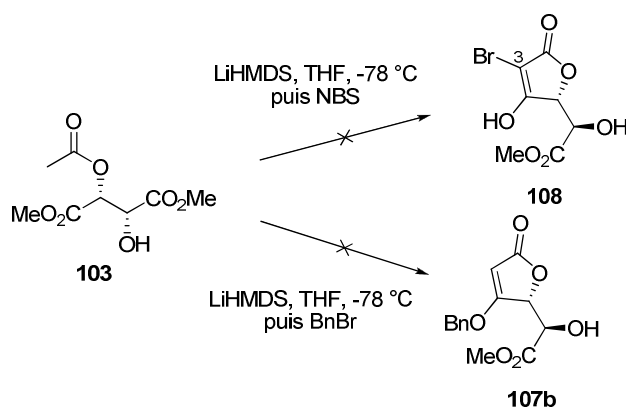
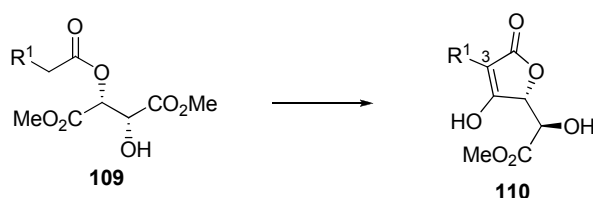


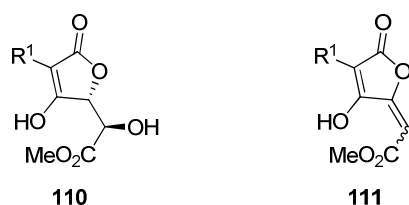
Schéma 37

Suite à ces résultats, nous avons pensé utiliser un ester **109** comportant un acétate substitué par un groupement R^1 (Figure 31). De ce fait, l'acide tétronique **110** formé lors de la cyclisation de Dieckmann serait substitué en position 3 ce qui permettrait, peut-être, de l'isoler plus facilement.

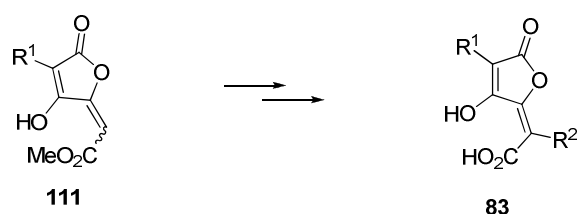


4. Synthèse de dérivés pulviniques monosubstitués

Dans cette nouvelle approche envisagée, le groupement R^1 en position 3 de la lactone serait introduit dès le début de la séquence réactionnelle. Donc, cette voie rendrait la dérivatisation des acides pulviniques moins évidente puisque la construction du motif ne passe plus par un synthon commun. Cependant, elle permettrait une préparation rapide de nouveaux dérivés pulviniques tels que des α -hydroxyesters **110** ou bien des acides pulviniques monosubstitués sur la double liaison exocyclique par une fonction ester **111**.



Pour parvenir ensuite à l'obtention d'acides pulviniques **83**, nous devons mettre en œuvre une séquence d'halogénéation et de couplage de Suzuki-Miyaura à partir de **111** afin d'introduire des groupements R^2 variés.



4.1. Formation des mono-esters dérivés du tartrate de diméthyle

Afin d'obtenir les mono-esters **109** désirés, il fallait réaliser une réaction d'estérification entre le L-tartrate de diméthyle et différents acides acétiques substitués par des groupements R¹ variés. Des fonctions aromatiques et carbonylées ont été spécifiquement choisies afin d'évaluer leur influence sur l'activité antioxydante des produits préparés. Cette réaction a été effectuée en présence de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) et de 4-(diméthylamino)pyridine (DMAP) dans du dichlorométhane.

Cette méthode était susceptible de conduire à un mélange d'un produit mono-estérifié et d'un produit di-estérifié (Schéma 40). Une mise au point de la réaction a donc été accomplie afin de déterminer les conditions optimales pour aboutir à la meilleure sélectivité en mono-acétate. L'acide 4-méthoxyphénylacétique a été utilisé lors de cette mise au point. Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau 3.

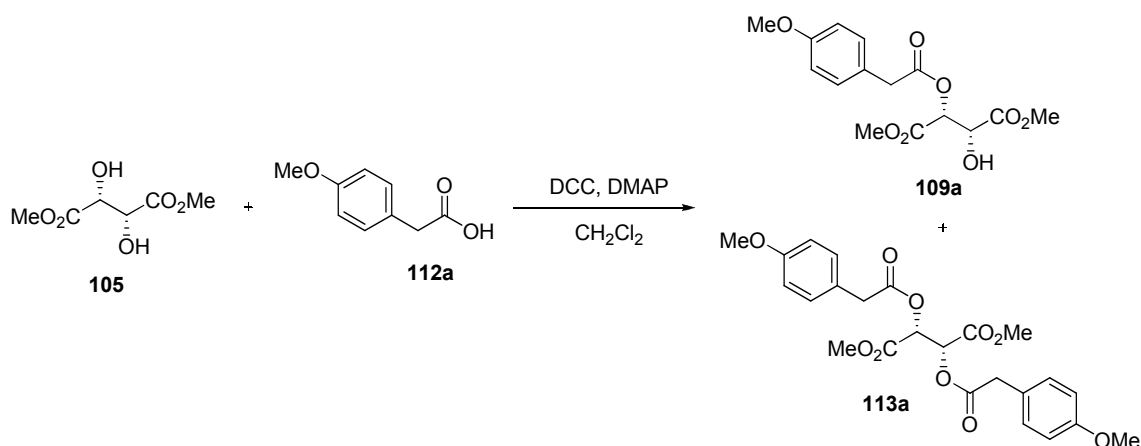


Schéma 40

entrée	112a et DCC (éq.)	température	rdt (%) en 109a
1	1,2	t.a.	48
2	1,2	0 °C	57
3	1	0 °C	60
4	1	-18 °C	65

Tableau 3

L'utilisation d'un équivalent d'acide **112a** et d'un équivalent de DCC à une température de -18 °C permet d'obtenir le meilleur rendement en produit de mono-estérification **109a** (entrée 4). Ces conditions ont été ensuite utilisées pour réaliser la synthèse des différents mono-esters souhaités. Pour cela, nous avons mis en réaction divers acides acétiques substitués

commerciaux avec le tartrate de diméthyle en utilisant la méthode mise au point précédemment (Schéma 41).

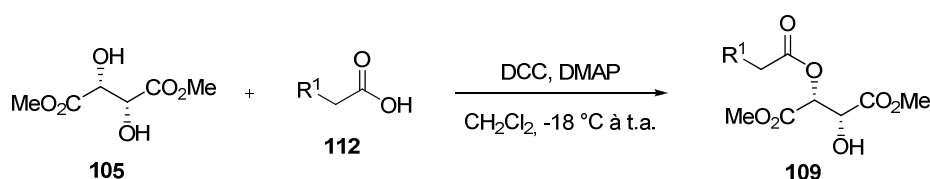


Schéma 41

Les mono-esters préparés ont été obtenus avec des rendements satisfaisants allant de 38 à 67 % (Tableau 4). Les meilleurs résultats d'estérification sont obtenus à partir des acides comportant des groupements aromatiques (entrées 1 à 9). Cependant, l'acide 4-nitrophénylacétique **112g** (entrée 7) ne donne qu'un rendement de 42 %, ce qui est comparable aux résultats obtenus avec les fonctions non aromatiques (entrées 10 à 13).

entrée	R ¹	acide 112	mono-ester 109	rdt (%)
1	4-(MeO)C ₆ H ₄	112a	109a	65
2	Ph	112b	109b	67
3	4-MeC ₆ H ₄	112c	109c	57
4	4-BrC ₆ H ₄	112d	109d	59
5	4-FC ₆ H ₄	112e	109e	52
6	4-(BnO)C ₆ H ₄	112f	109f	62
7	4-(NO ₂)C ₆ H ₄	112g	109g	42
8	4-(Me ₂ N)C ₆ H ₄	112h	109h	64
9	2-thiényle	112i	109i	55
10	BnOCO	112j	109j	40
11	NC	112k	109k	38
12	(EtO) ₂ PO	112l	109l	38

Tableau 4

Les composés di-esters **113** formés lors de cette étape n'ont pas tous été isolés. Cependant, les composés **113g** et **113j** (Figure 32) ont été purifiés, pour être utilisés par la suite afin de réaliser une double réaction de cyclisation.

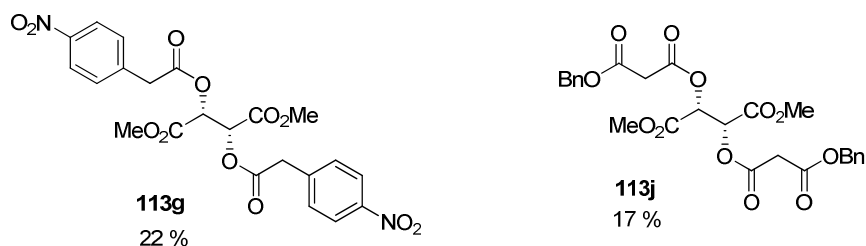


Figure 32

Enfin, l'ester **109m** a été préparé par traitement du L-tartrate de diméthyle **105** avec de la 2,2,6-triméthyl-1,3-dioxin-4-one au reflux du *p*-xylène, avec un rendement de 55 %¹⁰⁰. Dans cette même réaction, le di-ester **113m** a été obtenu avec 22 % de rendement.

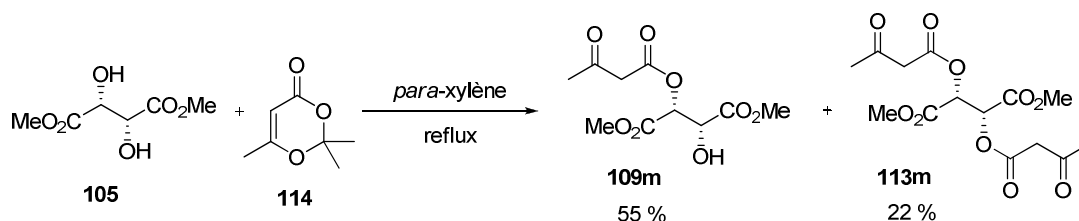


Schéma 42

4.2. Réalisation de la cyclisation de Dieckmann

La formation des α -hydroxyesters **110** a été réalisée grâce à la cyclisation de Dieckmann. Les conditions de réaction utilisées ont été adaptées en fonction du groupement R¹ présent sur le réactif de départ. En effet, lorsque le substrat était peu réactif, nous avons utilisé les conditions décrites par Brandänge⁹⁸ qui emploie une base forte. Dans ce cas, la réaction est accomplie avec 3,5 équivalents de LiHMDS dans du THF à -78 °C. La cyclisation a été réalisée à l'aide d'une base moins forte, le fluorure de tétrabutylammonium, dans le THF, à partir des substrats dans lesquels le groupement R¹ présent rend les protons en alpha plus acides. C'est le cas lorsque R¹ est une fonction carbonylée ou bien dans le 4-nitrophényle.

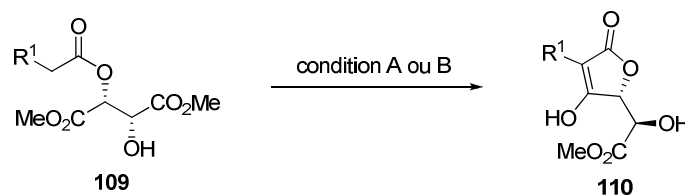


Schéma 43

¹⁰⁰ Brogginia G., Garantib L., Moltenib G., Zecchia G. *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 487-492.

Les différents α -hydroxyesters **110** préparés sont récapitulés dans le Tableau 5, ainsi que les rendements obtenus lors de l'étape de cyclisation. Il faut souligner que dans aucun cas nous n'avons observé d'épimérisation de l'un des centres stéréogènes. Les réactions de cyclisation réalisées à partir des esters substitués par des groupements aromatiques (entrées 1 à 9) ont fourni les produits désirés avec des rendements satisfaisants allant de 42 à 79 %, sauf dans le cas de l'ester **109h** comportant un substituant 4-(diméthylamino)phényle (entrée 8). En ce qui concerne des dérivés substitués par des groupements non aromatiques (entrées 10 à 13), les hydroxyesters **110j** et **110m** comportant des fonctions carbonylées (entrées 10 et 13) ont été obtenus avec des rendements modérés de 58 et 50 %. Par contre, les composés comportant une fonction nitrile ou phosphonate (entrées 11 et 12) n'ont pas pu être isolés.

entrée	R ¹	ester 109	α -hydroxyester 110	condition ^a	rdt (%)
1	4-(MeO)C ₆ H ₄	109a	110a	A	64
2	Ph	109b	110b	A	59
3	4-MeC ₆ H ₄	109c	110c	A	70
4	4-BrC ₆ H ₄	109d	110d	A	79
5	4-FC ₆ H ₄	109e	110e	A	55
6	4-(BnO)C ₆ H ₄	109f	110f	A	42
7	4-(NO ₂)C ₆ H ₄	109g	110g	B	60
8	4-(Me ₂ N)C ₆ H ₄	109h	110h	A	/
9	2-thiényle	109i	110i	A	54
10	BnOCO	109j	110j	B	58
11	NC	109k	110k	A	/
12	(EtO) ₂ PO	109l	110l	A	/
13	CH ₃ CO	109m	110m	B	50

^a condition A : LiHMDS, THF, -78 °C à t.a.; condition B : TBAF, THF, t.a.

Tableau 5

Tous les composés obtenus ont été caractérisés par différentes techniques d'analyse. On notera par exemple, en RMN ¹H du composé **110a**, les déplacements chimiques des protons situés en α de l'ester et de la lactone à $\delta = 4,79$ et $5,27$ ppm, respectivement. De plus, le composé **110m** est observé en RMN sous la forme de deux isomères *E* et *Z*, la fonction carbonyle de l'acétyle se présentant sous forme d'énol.

Ainsi, en deux étapes, nous avons préparé une variété d'acides tétroniques substitués en position 5 par un motif hydroxyester. Ils possèdent une structure proche de l'acide ascorbique, et seront également évalués en tant qu'agents antioxydants. Nous détaillerons les résultats obtenus dans le chapitre 6.

D'autres dérivés intéressants ont pu être également obtenus par une cyclisation de Dieckmann. Il s'agit des composés issus de la cyclisation de certains di-esters **113** formés lors de l'étape d'estérification du L-tartrate de diméthyle. Cependant ces diacides tétroniques **115** n'ont pu être synthétisés que dans le cas où la cyclisation était réalisable avec du fluorure de tétrabutylammonium (Schéma 44). En effet, lors de l'utilisation du LiHMDS comme base, la réaction d'élimination semble beaucoup plus rapide que celle de cyclisation⁹⁸.

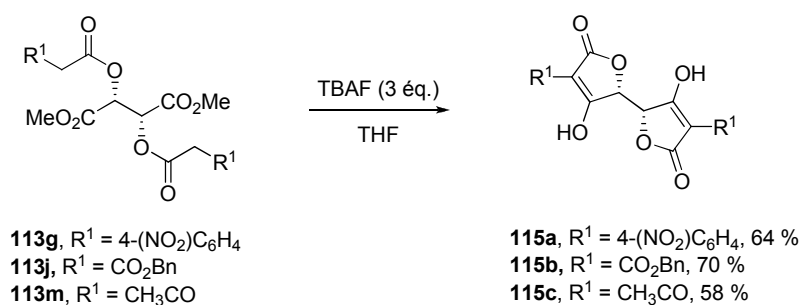


Schéma 44

Cette réaction de cyclisation des di-esters **113** aboutit à la formation de diacides tétroniques symétriques caractérisés en RMN ¹H par un singulet (δ = 4,59 à 5,01 ppm) correspondant au proton situé au pied de l'oxygène de la lactone.

Enfin, nous avons procédé à la déprotection du groupement phénol de l' α -hydroxyester **110f** par une hydrogénolyse menée dans un mélange de méthanol et de DMF en présence de palladium sur charbon à 10 %, sous une atmosphère d'hydrogène (Schéma 45). Le produit débenzylé **110n** a été isolé de manière quantitative.

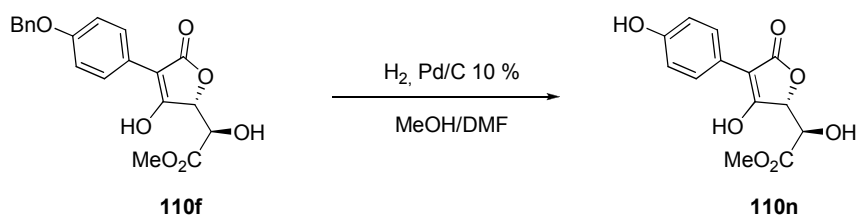


Schéma 45

4.3. Réaction de déshydratation

L'étape de déshydratation des α -hydroxyesters **110** a été effectuée en utilisant les conditions mises au point au laboratoire⁷⁴. Les produits mono-substitués sont ainsi obtenus en traitant les alcools **110** par 3 équivalents d'anhydride trifluoroacétique, en présence de 6 équivalents de triéthylamine et d'une quantité catalytique de DMAP.

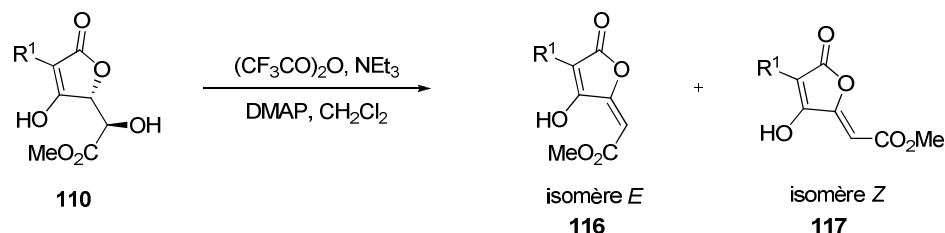


Schéma 46

La déshydratation conduit à un mélange d'isomères *E* et *Z* qui sont facilement séparés par une simple colonne de chromatographie sur gel de silice. En effet, l'isomère *Z* est bien plus polaire que l'isomère *E* du fait de la présence d'une liaison hydrogène entre la fonction énol et l'ester méthylique sur ce dernier. Dans toutes les réactions effectuées, l'isomère de configuration *Z* est obtenu majoritairement (Tableau 6). La configuration *Z* a été confirmée, dans le cas de **117a**, par diffraction des rayons X (réalisée par P. Thuéry, CEA de Saclay, IRAMIS/SIS2M) (Figure 33). Les deux isomères sont également clairement différenciés en RMN 1H . Ainsi, dans l'acétone- d_6 , le proton éthylénique de l'isomère *E* **116a** possède un déplacement chimique de 6,15 ppm tandis que celui de l'isomère *Z* **117a** a un déplacement de 5,91 ppm.

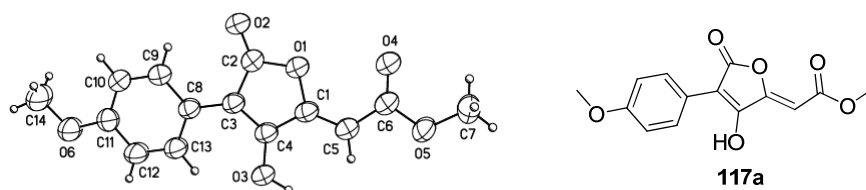


Figure 33

En général, la réaction de déshydratation a fourni les dérivés pulviniques monosubstitués de configuration *Z* avec de bons rendements (supérieurs à 62 %). Ces bons résultats ont été obtenus avec des groupements électro-donneurs (entrées 1 et 3) ou électro-attracteurs (entrées 4, 5 et 7). Cependant les produits comportant un phénol et un noyau thiénylé (entrées 6 et 8)

ont été isolés avec des rendements plus faibles, respectivement de 44 et 37 %. Ces résultats sont peut-être dus à une instabilité des composés sur gel de silice, utilisé pour la purification. Enfin, nous n'avons pas pu obtenir le produit de déshydratation désiré à partir l' α -hydroxyester **110m** (entrée 10).

entrée	R ¹	α -hydroxyester 110	117	rapport Z/E ^a	rdt (%) en 117
1	4-(MeO)C ₆ H ₄	110a	117a	86/14	83
2	Ph	110b	117b	84/16	62
3	4-MeC ₆ H ₄	110c	117c	82/18	83
4	4-BrC ₆ H ₄	110d	117d	89/11	63
5	4-FC ₆ H ₄	110e	117e	85/15	74
6	4-(HO)C ₆ H ₄	110n	117f	75/25	44 ^b
7	4-(NO ₂)C ₆ H ₄	110g	117g	85/15	73
8	2-thiényle	110i	117h	84/16	37
9	BnOCO	110j	117i	100/0	83
10	CH ₃ CO	110m	117j	/	/

^a rapport déterminé à partir des intégrations en RMN ¹H.

^b utilisation de 9 équivalents de triéthylamine et 4,5 équivalents d'anhydride trifluoroacétique.

Tableau 6

En conclusion, par des séquences répétées de trois réactions (estérification, cyclisation et déshydratation), nous avons synthétisé deux familles de dérivés apparentés aux acides pulviniques. La voie de synthèse utilisée a permis d'introduire différents groupements R¹ en position 3 de la lactone. Ceci va nous permettre d'étudier l'influence de ce groupement sur l'activité antioxydante des composés préparés.

5. Synthèse des pulvinate de méthyle¹⁰¹

Pour aboutir à la synthèse de pulvinate de méthyle **118** à partir des composés monosubstitués **117** préparés précédemment, nous devons tout d'abord halogéner la double liaison. Nous pourrions ensuite introduire des groupements R² par des couplages de Suzuki-Miyaura.

¹⁰¹ Nadal B., Thuéry P., Le Gall T. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 2430-2433.

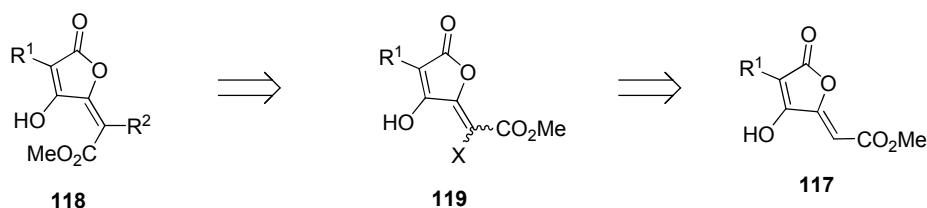


Schéma 47

La préparation de pulvinate de méthyle **118** a été réalisée à partir d'un seul produit mono-substitué. Nous avons choisi d'utiliser le dérivé **117a**, d'une part en raison de la facilité de synthèse de ce composé et d'autre part pour des raisons d'activité antioxydante potentielle. En effet, les acides pulviniques comportant un substituant 4-méthoxyphényle en position 3 sur la lactone faisaient partie des composés les plus efficaces lors des évaluations précédentes.

5.1. Réaction d'halogénéation

Afin de parvenir à introduire un halogène sur la double liaison exocyclique du composé **117a**, nous avons testé un grand nombre de conditions (Tableau 7). Pour ce faire, nous nous sommes essentiellement inspirés de la littérature.

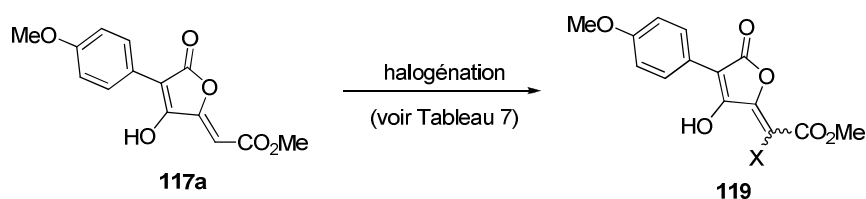


Schéma 48

Tout d'abord, nous avons testé une méthode mise au point au laboratoire pour ioder la position 3 d'acides tétroniques⁷⁴. Cette réaction met en jeu de l'iode en présence de CAN (nitrate de cérium ammoniacal) dans l'acétonitrile. Mais dans notre cas, aucune conversion n'a été observée (entrée 1). D'autres conditions faisant appel à de l'iode ou du brome ont été essayées mais n'ont pas donné de bons résultats (entrées 2 à 4)¹⁰². Seule l'utilisation de brome dans du dichlorométhane a permis d'obtenir une légère conversion du produit de départ. Ensuite, nous avons employé du *N*-bromo- ou du *N*-iodosuccinimide dans différentes conditions (entrées 5 à 11) et les meilleurs résultats ont été obtenus en présence d'acide

¹⁰² Kowalski C. J., Weber A. E., Fields K. W. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 5088-5093; Sha C.-K., Shen C.-Y., Jean T.-S., Chiu R.-T., Tseng W.-T. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 7641-7644.

acétique (3 équ.) dans du THF à 50 °C¹⁰³. La meilleure conversion a été observée dans le cas du *N*-iodosuccinimide (entrée 11).

entrée	agent d'halogénéation	réactif supplémentaire	solvant	température	rapport ^a 117a/119a
1	I ₂	CAN	CH ₃ CN	45 °C	100/0
2	I ₂	/	CH ₂ Cl ₂	t.a.	100/0 ^b
3	Br ₂	/	CH ₂ Cl ₂	t.a.	75/25 ^b
4	Br ₂	/	DMF	t.a.	100/0 ^b
5	NBS	NH ₄ OAc	CH ₃ CN	t.a.	40/60
6	NBS	AcOH	CH ₂ Cl ₂	t.a.	80/20 ^b
7	NIS	AcOH	CH ₂ Cl ₂	t.a.	100/0
8	NIS	AcOH	CHCl ₃	t.a.	90/10 ^b
9	NIS	/	AcOH	t.a.	100/0
10	NBS	AcOH	THF	50 °C	35/65
11	NIS	AcOH	THF	50 °C	20/80

^a rapport déterminé à partir des intégrations en RMN ¹H dans le produit brut de réaction.

^b réaction traitée avec NEt₃ à reflux après 12 h de réaction à t.a.

Tableau 7

Cependant, l'utilisation de ces conditions (Tableau 7, entrée 11) donnait des résultats variant suivant le lot de produit de départ **117a** utilisé. Finalement, le traitement de **117a** avec un équivalent de NaOH, préalablement au chauffage en présence d'acide acétique et de *N*-iodosuccinimide (NIS), nous a permis d'obtenir l'iodoalcène **120** avec un rendement reproductible de 50 %.

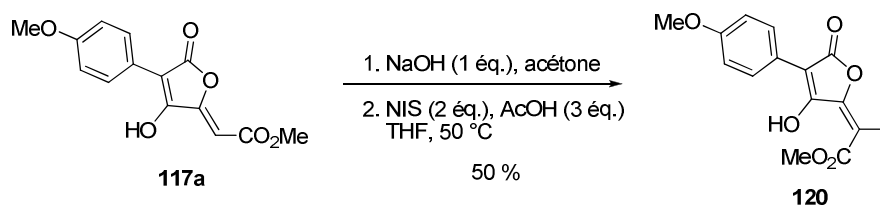


Schéma 49

¹⁰³ Adinolfi M., Parrilli M., Barone G., Laonigro G., Mangoni L. *Tetrahedron Lett.* **1976**, 17, 3661-3662; Iwaoka T., Murohashi T., Katagiri N., Sato M., Kaneko C. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1992**, 1393-1397; Hodgson D. M., Witherington, J., Moloney B. A., Richards I. C., Brayer J.-L. *Synlett* **1995**, 32-34; Das B., Venkateswarlu K., Majhi A., Siddaiah V., Reddy K. R. *J. Mol. Cat. A: Chem.* **2007**, 267, 30-33.

Une hypothèse peut être émise quant au manque de réactivité de la fonction alcène présente sur **117a**. En effet, la double liaison est attachée à deux groupements électro-attracteurs, une fonction ester et une fonction énol qui peut présenter un caractère de carbonyle (Schéma 50). De ce fait la fonction alcène ne serait pas assez nucléophile pour réagir avec le *N*-iodosuccinimide. Donc, la déprotonation de la fonction énol par un équivalent de NaOH, défavorise la forme limite cétone et de ce fait, rend la double liaison plus nucléophile.

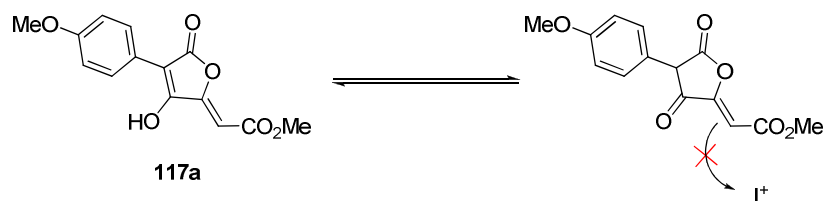


Schéma 50

L'étude structurale, par diffraction des rayons X de cristaux de l'iodoalcène **120** (réalisée par P. Thuéry, CEA/IRAMIS/SIS2M), a permis d'établir la configuration *Z* de la double liaison exocyclique (Figure 34). L'iodation du composé monosubstitué **117a** s'effectue avec inversion de configuration de la double liaison¹⁰⁴. La formation de l'iodoalcène **120** possédant une configuration *Z* est favorisée par le fait que l'atome d'iode, stériquement encombrant, est placé du côté le plus dégagé.

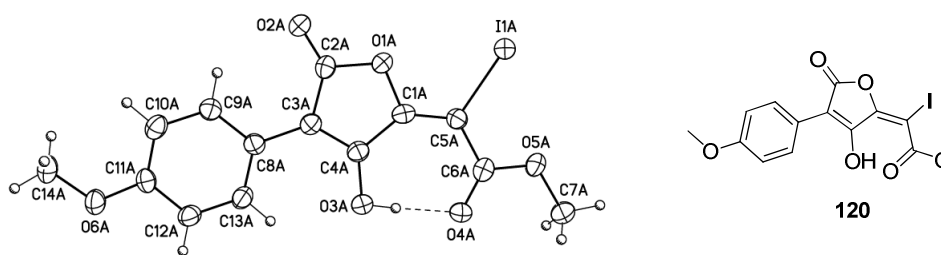


Figure 34

5.2. Couplages de Suzuki-Miyaura

Des couplages de Suzuki-Miyaura ont été ensuite effectués sur l'iodoalcène **120** en utilisant différents boronates aromatiques ou hétéro-aromatiques **121**.

¹⁰⁴ La substitution d'un atome d'hydrogène par un atome d'iode conduit à un changement d'ordre de priorité des substituants de la double liaison lorsque l'on passe de l'alcène **117a** à l'iodoalcène **120**.

Au laboratoire, les conditions décrites par Occhiato¹⁰⁵ avaient été utilisées précédemment pour réaliser des couplages impliquant des composés⁷⁴. Cette méthode implique l'emploi de PdCl₂(PPh₃)₂ comme catalyseur et de Na₂CO₃ comme base, dans du THF à reflux.

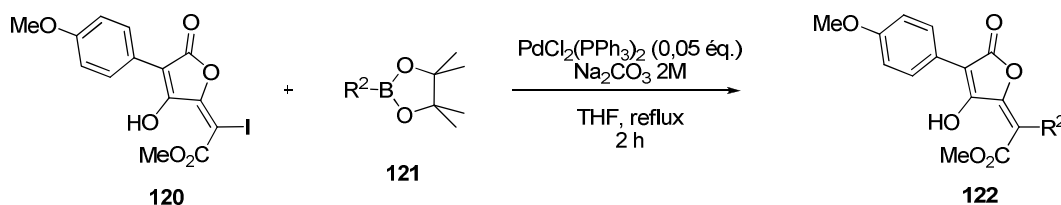


Schéma 51

Ces conditions ont été appliquées dans le cas de l'iodoalcène **120** et ont permis l'obtention de plusieurs pulvinates de méthyle **122** avec des rendements allant de 50 à 81 % (Tableau 8). Le meilleur rendement est obtenu avec le boronate de phényle **121a** (entrée 1), qui a conduit à un pigment de lichen connu, l'acide pinastrique⁸². Les caractéristiques physiques et spectrales du composé obtenu correspondent aux données trouvées dans la littérature. Ainsi, la configuration *E* du composé synthétisé a pu être clairement établie.

Les produits comportant un groupement phényle substitué par Cl, CF₃ ou OH ont également été obtenus avec de bons rendements (entrées 2 à 5). Cependant, comme nous pouvions le prévoir, la réaction avec le boronate substitué par un groupement acétyle **121f**, électro-attracteur, en position para, fut moins efficace (entrée 6). Des composés possédant des groupements hétérocycliques, 3-thiényle et 3-furanyle, ont également été obtenus (entrées 7 et 8).

entrée	R ²	boronate 121	produit 122	rdt (%)
1	Ph	121a	122a	81
2	3-(HO)C ₆ H ₄	121b	122b	73
3	4-ClC ₆ H ₄	121c	122c	60
4	3-(CF ₃)C ₆ H ₄	121d	122d	64
5	2-(CF ₃)C ₆ H ₄	121e	122e	80
6	4-(CH ₃ CO)C ₆ H ₄	121f	122f	50
7	3-thiényle	121g	122g	61
8	3-furanyle	121h	122h	61

Tableau 8

¹⁰⁵ Occhiato E. G., Trabocchi A, Guarna A. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2459-2465.

Un autre pulvinate de méthyle a été préparé mais, cette fois-ci, à partir d'un acide boronique. Il s'agit du dérivé **122i** possédant un groupement 2-furanyle (Schéma 52). Dans ce cas, nous avons utilisé $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ comme catalyseur¹⁰⁶, avec le K_3PO_4 comme base, dans un mélange dioxane/eau chauffé à 90 °C.

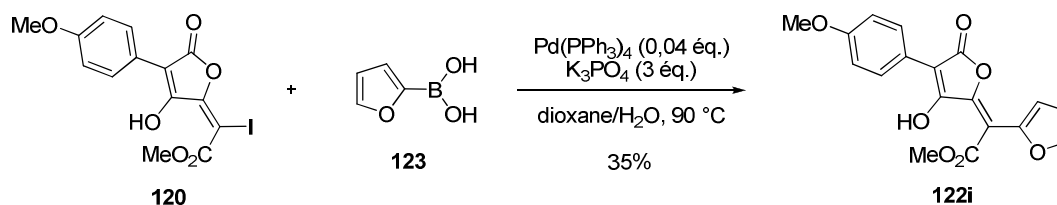


Schéma 52

Il faut noter que toutes ces réactions de couplage ont été réalisées à partir d'un dérivé iodé possédant une fonction énol non protégée. Le fait de ne pas avoir à protéger cette fonction au cours de la synthèse des pulvinate de méthyle a permis d'obtenir une approche rapide et efficace de ces composés.

III. Synthèse d'un dérivé pulvinamide

Lors des évaluations antioxydantes précédentes, le pulvinamide **124** avait présenté des protections intéressantes de la thymidine et de plasmide lors d'une irradiation γ . Par conséquent, ce dérivé a été sélectionné pour des tests complémentaires sur cellules puis, si les résultats étaient concluants, sur souris.

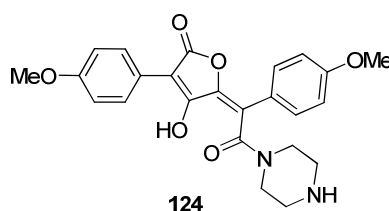


Figure 35

Dans le but de réaliser ces évaluations, une grande quantité de produit était nécessaire (quelques grammes). Donc, une resynthèse du pulvinamide **124** devait être réalisée. Dans le protocole initial (Schéma 53), le dérivé **124** est obtenu par ouverture de la bislactone **125** en présence de 3 équivalents de pipérazine dans du chloroforme à reflux.

¹⁰⁶ Kim H. H., Lee C. H., Song Y. S., Park N. K., Kim B. T., Heo J.-N. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2006**, 27, 191-192.

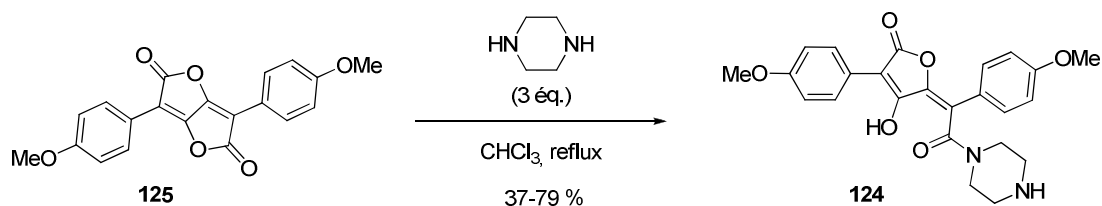


Schéma 53

Cependant, dans cette procédure, un excès de pipérazine est utilisé, qu'il faut ensuite éliminer. Malheureusement, la pulvinamide **124** est une espèce zwitterionique. Donc, des lavages acides pour entraîner la pipérazine en excès ne sont plus envisageables, car le pulvinamide serait également éliminé. De plus la purification par chromatographie sur gel de silice est très délicate pour cette famille de composés. En effet, certains dérivés pulviniques sont instables sur silice. Dans le cas du pulvinamide **124**, la purification est réalisée par trituration dans l'éther diéthylique. Cette méthode permet, en général, d'éliminer la pipérazine, mais les rendements en pulvinamide ne sont pas reproductibles et diminuent jusqu'à 37 % à l'échelle du gramme.

Donc, afin de réaliser des préparations du dérivé **124** sur plusieurs grammes, une nouvelle méthode a été mise au point (Schéma 54). Cette stratégie repose sur l'utilisation de la pipérazine mono-protégée par un groupement Boc **126** pour réaliser l'ouverture de la bislactone **125**. Cette modification permet d'utiliser un seul équivalent de dérivé pipérazine lors de la première étape. De ce fait, aucune purification n'est nécessaire pour éliminer l'excédant. Le groupement Boc est ensuite déprotégé par de l'acide trifluoroacétique dans le CH_2Cl_2 et conduit au sel **128** avec un rendement global sur deux étapes de 82 %.

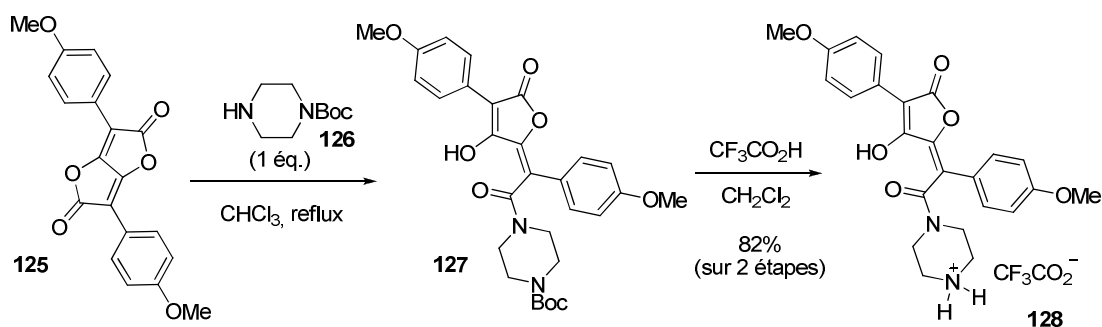


Schéma 54

IV. Conclusion et perspectives

Dans ce chapitre, nous avons détaillé les différentes stratégies élaborées afin de synthétiser un grand nombre de dérivés d'acides pulviniques à partir d'un même synthon. La première approche faisait appel à une réaction d'addition d'un tétronate de méthyle sur un oxoacétate. Mais malgré les deux méthodes testées, l'utilisation d'une base lithiée ou le passage par un dérivé silylé, le produit d'addition correspondant n'a jamais été isolé. Dans un second temps, une stratégie partant du *O*-acétyltartrate de diméthyle a été utilisée, mais elle n'a pas permis d'aboutir à la préparation du synthon souhaité. Cependant, grâce à une modification de la stratégie de départ, cette deuxième approche nous a conduit à la préparation de différents dérivés pulviniques.

En effet, cette méthode nous a permis, par des étapes successives, d'obtenir des α -hydroxyesters et des dérivés pulviniques monosubstitués possédant différents groupements en position 3 de la lactone. Puis par une séquence d'iodation et de couplage au palladium sur la double liaison exocyclique, plusieurs pulvinates de méthyle ont été préparés.

Nous proposons d'adapter cette méthode de synthèse des dérivés monosubstitués **117** à la préparation de pulvinones (Figure 36). Ces dernières font partie d'une autre famille de pigments de champignons et il est intéressant d'évaluer de tels composés pour leur propriété antioxydante.

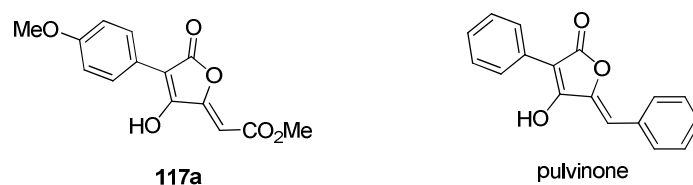


Figure 36

Les travaux de synthèse réalisés pour la préparation de pulvinones sont exposés dans le chapitre suivant.

Chapitre 4 : Synthèse de pulvinones

Les pulvinones, comme les acides pulviniques, font partie de la famille des 5-arylidène-buténolides. Les pulvinones sont également présentes dans des champignons de la famille des bolets (*Suillus grevillei*)¹⁰⁷ ou bien dans des moisissures telles qu'*Aspergillus terreus*¹⁰⁸.

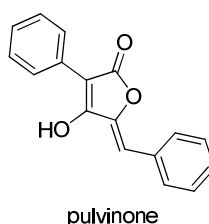


Figure 37

I. Les pulvinones

1. Généralités

La structure des pulvinones est connue depuis 1894, suite aux travaux de Volhard⁴⁷ sur la synthèse d'acides pulviniques. Le composé parent, la pulvinone, est l'acide 5-benzylidène-3-phényltétronique. Tous les dérivés naturels comportent des fonctions oxygénées sur les groupements aromatiques et possèdent une configuration *Z* au niveau de la double liaison exocyclique. Les pulvinones sont des pigments jaunes, tout comme les acides pulviniques. Elles possèdent également des propriétés biologiques intéressantes^{109,110}. Apparentées aux acides pulviniques, les pulvinones seraient formées par une voie de biosynthèse similaire (Schéma 55). La terphénylquinone **129** serait oxydée par une réaction enzymatique en pulvinone **131**, en passant par une décarboxylation de l'intermédiaire **130**.

¹⁰⁷ Edwards R. L., Gill M. J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1973**, 1921-1929.

¹⁰⁸ Ojima N., Takenaka S., Seto S. *Phytochemistry* **1973**, *12*, 2527-2529.

¹⁰⁹ Rehse K., Lehmke J. *Arch. Pharm.* **1985**, *318*, 11-14.

¹¹⁰ Antane S., Caufield C. E., Hu W., Keeney D., Labthavikul P., Morris K., Naughton S. M., Petersen P. J., Rasmussen B. A., Singh G., Yang Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 176-180.

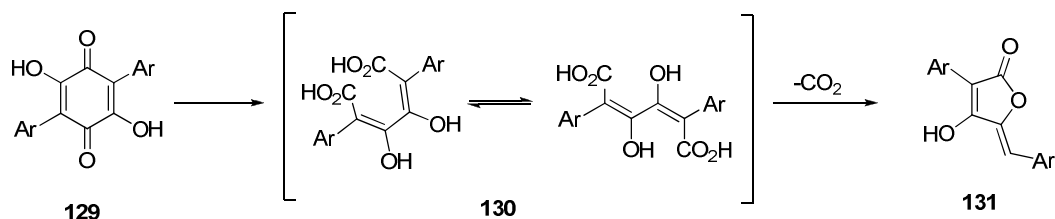


Schéma 55

Les structures de certaines pulvinones naturelles sont représentées dans la Figure 38.

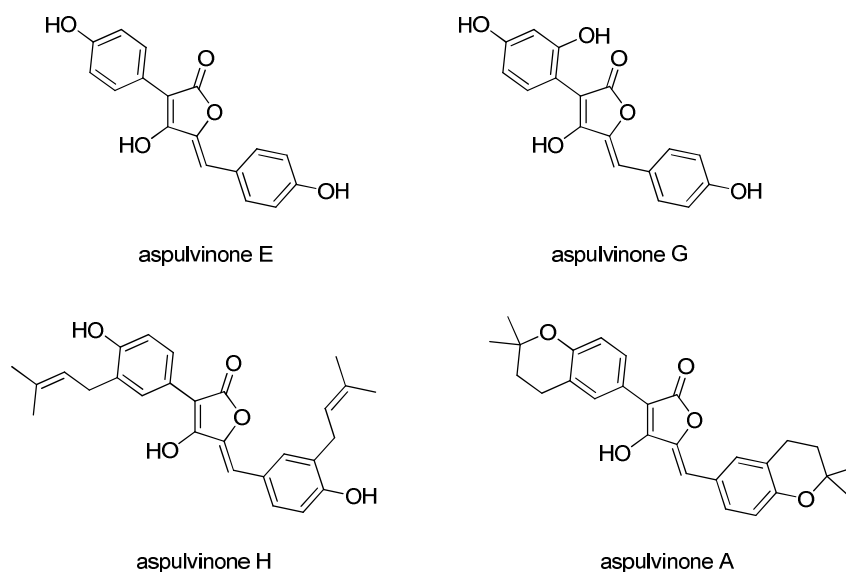


Figure 38

2. Synthèse de pulvinones dans la littérature

La première synthèse de pulvinone date de 1894 et a été décrite par Volhard⁴⁷. En effet, lors de ses synthèses d'acides pulviniques, il a obtenu un produit secondaire qui s'est révélé être une pulvinone. En 1895, Claisen¹¹¹ a reporté la première voie de synthèse de pulvinone, en tant que telle. Depuis, plusieurs stratégies de synthèse, très proches de celles des acides pulviniques, ont été utilisées pour accéder à des pulvinones⁴⁹. Nous allons présenter dans cette partie les principales méthodes de synthèse parues dans la littérature.

2.1. Réarrangement thermique de Claisen

La première méthode de synthèse de pulvinones, décrite par Claisen¹¹¹, utilisait comme étape clé le réarrangement thermique d'une diphenylcyclopentanetrione **133** (Schéma 56). La

¹¹¹ Claisen L., Ewan T. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1895**, 284, 245-299.

1,3-diphénylpropan-2-one **132** a été tout d'abord convertie en diphénylcyclopentanetrione **133** par condensation avec l'oxalate de diéthyle. Ensuite un traitement thermique de la trione **133** a conduit à un mélange équilibré de la pulvinone **131** attendue et de la trione. La pulvinone a pu être ensuite séparée par simple recristallisation.

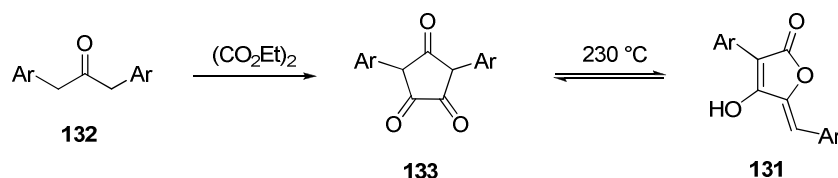


Schéma 56

Cette voie de synthèse permet d'obtenir des pulvinones de configuration naturelle Z, mais elle est limitée à la synthèse de composés symétriques.

2.2. Utilisation d'une α -hydroxycétone

En 1990, Gill⁸⁷ a proposé une méthode originale pour préparer des pulvinones dissymétriques à partir d'une α -hydroxycétone **134** (Schéma 57). Tout d'abord, **134** est traité avec un excès de LDA puis l'addition de carbonyldiimidazole a permis la formation de l'acide tétronique **135**. Ensuite, une séquence de méthylation et bromation a abouti à l'intermédiaire **136**. Un traitement avec de la DBU a permis la formation de la double liaison exocyclique. Enfin la déméthylation en présence de LiBr a fourni la pulvinone **137**.

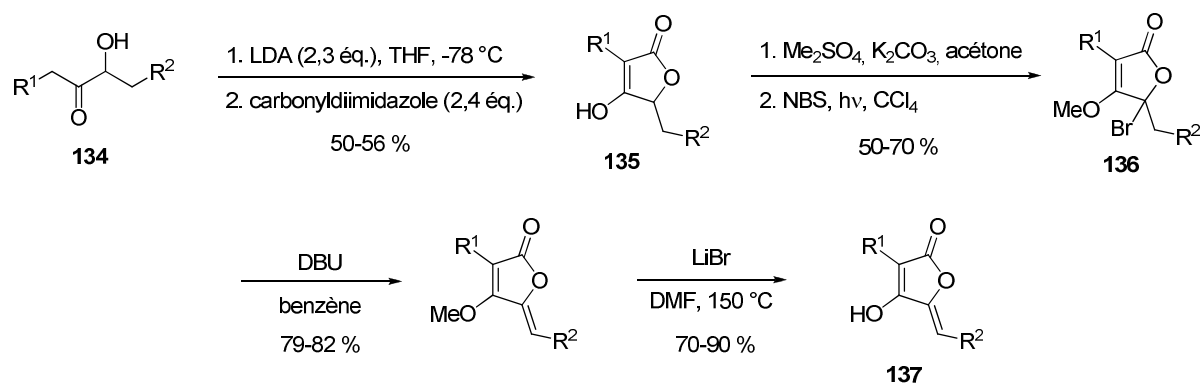


Schéma 57

Cette méthode a été utilisée pour la synthèse de pulvinones naturelles avec d'assez bons rendements. Malheureusement, le nombre d'étapes permettant d'aboutir aux pulvinones souhaitées est assez conséquent.

2.3. Utilisation d'un acide tétronique

Plusieurs stratégies, décrites dans la littérature, utilisent comme intermédiaire clé un dérivé tétronique. Différentes méthodes ont été mises en œuvre, variant en fonction des équipes.

2.3.a. Oléfination de Wittig

Tout d'abord, Campbell¹¹² a décrit une méthode passant par un sel de phosphonium stable **141** (Schéma 58). Ce sel est obtenu en trois étapes à partir de l'acide 3-phényltétronique **138** par une séquence de méthylation, bromation et enfin phosphorylation avec un rendement global de 60 %. Le sel de phosphonium **141** est ensuite engagé dans une réaction de Wittig avec le benzaldéhyde en présence d'éthylate de sodium. Un mélange des pulvinones **142 Z** et **E** ($Z/E = 60/40$) est ainsi obtenu avec un rendement de 93 %.

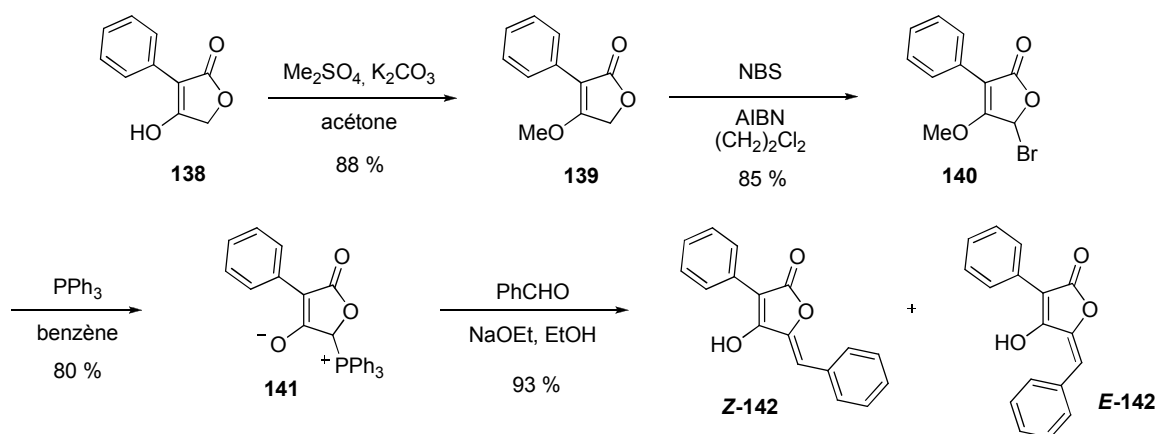


Schéma 58

Plusieurs pulvinones dissymétriques ont été synthétisées par cette méthode avec de bons rendements. Cependant, un mélange d'isomères est obtenu à chaque fois en dernière étape. Leur séparation nécessite une recristallisation puis une chromatographie sur gel de silice. Mais après séparation, les rendements chutent énormément.

2.3.b. Réduction d'un anhydride maléique

Comme pour la synthèse d'acides pulviniques, Pattenden¹¹³ a utilisé une méthodologie de réduction sélective d'un dérivé de l'anhydride maléique pour la synthèse de pulvinones (Schéma 59). Ainsi, l'anhydride maléique **22** est sélectivement réduit en tétronate de méthyle **23**. L'anion lithié du dérivé tétronique **23** est mis à réagir avec le *para*-anisaldéhyde pour

¹¹² Campbell A. C., Maidment M. S., Pick J. H., Stevenson D. F. M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1985**, 1567-1576.

¹¹³ Knight D. W., Pattenden G. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1975**, 876-877.

former l'alcool **143**. La pulvinone **144** est obtenue par une déshydratation de **143** en présence d'acide *para*-toluènesulfonique dans du benzène à reflux.

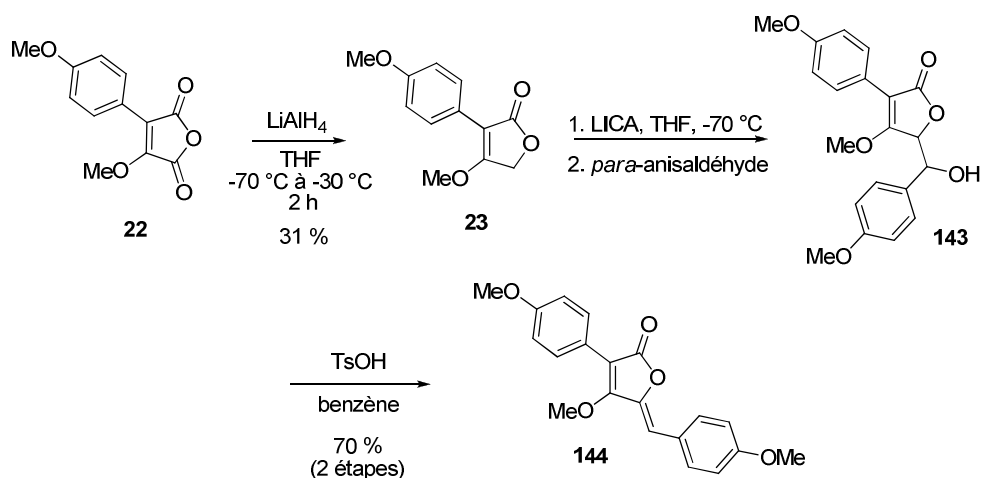


Schéma 59

Pattenden a utilisé cette méthode pour synthétiser plusieurs pulvinones naturelles ou non avec des rendements satisfaisants¹¹⁴.

2.3.c. Utilisation du tétronate de méthyle

En 2005, une équipe du laboratoire pharmaceutique Wyeth a développé une stratégie de synthèse pour préparer un grand nombre de pulvinones (Schéma 60)¹¹⁰. Ils souhaitaient trouver de nouveaux inhibiteurs de la biosynthèse des parois cellulaires de bactéries. Leur stratégie est basée sur l'utilisation du tétronate de méthyle **88**, qui est tout d'abord bromé en position 3. Ensuite l'anion du dérivé bromé **145** est additionné sur un aldéhyde pour conduire à l'alcool **146**, qui est déshydraté pour former le précurseur **147**. Enfin, un couplage de Suzuki, suivi d'une déprotection de l'énol, permet d'obtenir la pulvinone **149**.

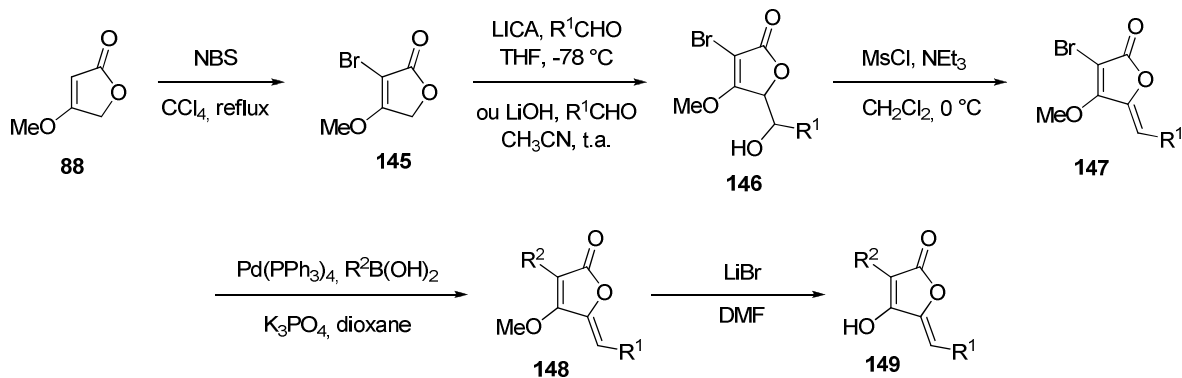


Schéma 60

¹¹⁴ Knight D. W., Pattenden G. J. *Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1979**, 70-76.

Près d'une trentaine de pulvinones dissymétriques ont été obtenues par cette stratégie en cinq étapes à partir d'un composé commercial.

2.4. Utilisation d'une dioxolanone

Une voie de synthèse de pulvinones à partir de dioxolanones a été élaborée par Ramage en 1984 (Schéma 61)¹¹⁵. Pour cela, il a utilisé la même stratégie que pour la synthèse d'acides pulviniques (cf. chapitre 2). Le phosphorane **40** est mis à réagir avec l'aldéhyde **150** dans une réaction de Wittig pour former la dioxolanone **151**. L'addition de l'énolate lithié de l'ester méthylique **152** sur la dioxolanone **151** aboutit à la formation de la pulvinone **154**, en passant par l'intermédiaire **153**. La pulvinone **155** est obtenue par hydrogénolyse des groupements benzyles de **154**.

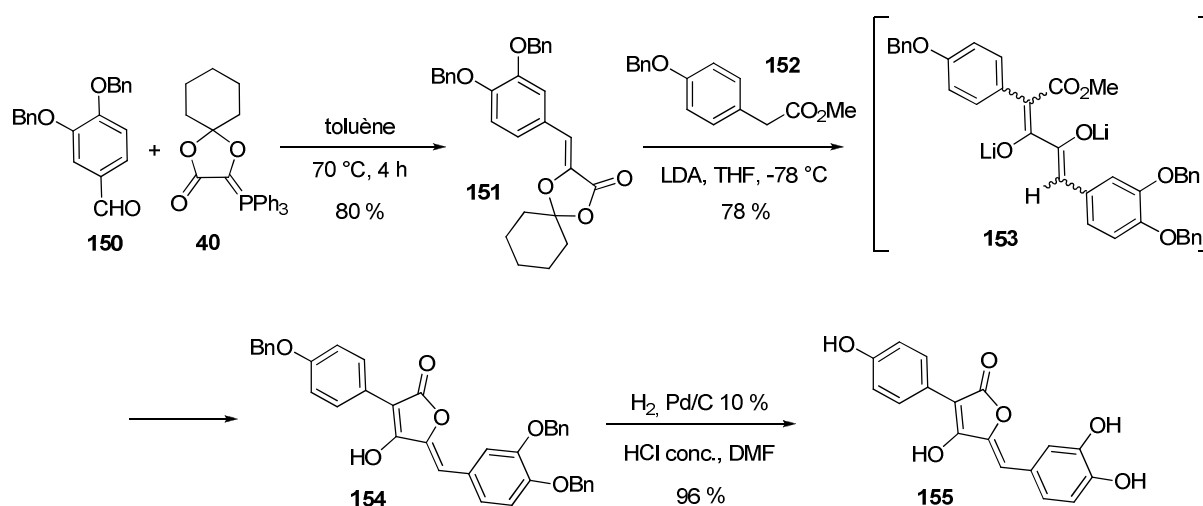


Schéma 61

Pattenden a ainsi synthétisé la pulvinone **155**, extraite du champignon *Suillus grevillei*, avec un rendement global de 60 % à partir du phosphorane **40**.

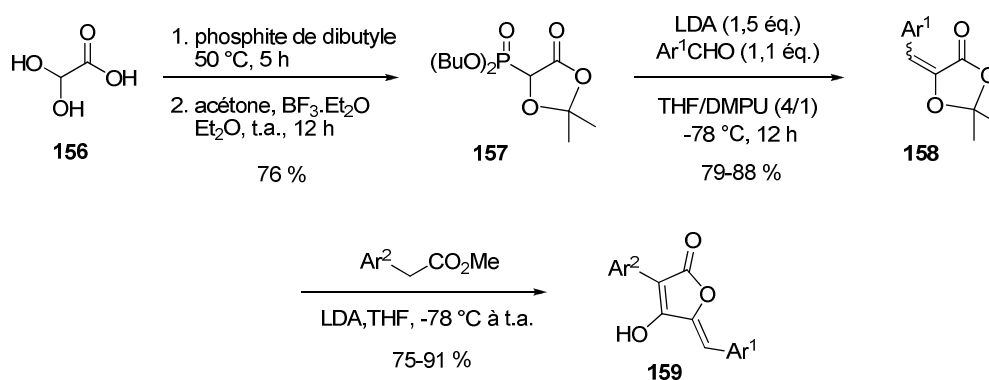
Plus récemment, Brückner¹¹⁶ a amélioré la méthode décrite par Ramage en préparant une dioxolanone analogue à **151** à partir d'un phosphonate. En effet, le produit secondaire formé lors de l'oléfination de Horner-Wadsworth-Emmons est un anion phosphate, soluble dans l'eau, et donc facilement éliminé. Ce n'est pas le cas du produit secondaire de la réaction de Wittig, l'oxyde de triphénylphosphine, qui doit être séparé par chromatographie sur gel de

¹¹⁵ Ramage R., Griffiths G. J., Shutt F. E. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1984**, 1539-1545.

¹¹⁶ Kaczybura N., Brückner R. *Synthesis* **2007**, 118-130.

silice ou encore par précipitation. De plus, la formation de la dioxolanone décrite par Brückner comporte une étape de moins que la méthode utilisée par Ramage.

Le phosphonate **157** est préparé en deux étapes à partir de l'acide glyoxylique hydraté **156** (Schéma 62). Par une réaction de Horner-Wadsworth-Emmons avec un aldéhyde, la dioxolanone **158** est obtenue sous forme d'un mélange d'isomères *Z* et *E* (ratio *E/Z* variant de 87/13 à 95/5). Le mélange est ensuite mis à réagir avec un énolate d'ester méthylique pour former la pulvinone **159**, isolée sous la forme d'un seul isomère *Z*.



Par cette méthode, Brückner a préparé plusieurs pulvinones avec de bons rendements globaux.

2.5. Cyclisation de Dieckmann

En 2007, Brückner^{95,96} a proposé une autre voie de synthèse de pulvinones basée, cette fois-ci, sur une cyclisation de Dieckmann pour la dernière étape (Schéma 63). La synthèse débute par un couplage de Heck entre le 2-acétoxyacrylate de 2,2,2-trifluoroéthyle **160** et le dérivé iodé **161**. Le cinnamate **162** est ainsi obtenu, sous la forme d'un seul isomère *Z*. Ensuite, une transestérification est réalisée en deux étapes pour aboutir à l'intermédiaire **163**, de configuration *Z*. Enfin, un traitement avec du *tert*-butylate de potassium provoque une cyclisation de Dieckmann, ce qui permet d'accéder à la pulvinone **164**. L'utilisation d'un ester trifluoroéthylique permet d'avoir de meilleurs rendements lors de l'étape de cyclisation. En effet, avec des groupements méthyle, éthyle ou *tert*-butyle, l'ester est moins électrophile, donc moins réactif. Dans le cas du trifluoroéthyle, la condensation de Dieckmann est favorisée, ce qui permet d'éviter une dégradation des réactifs.

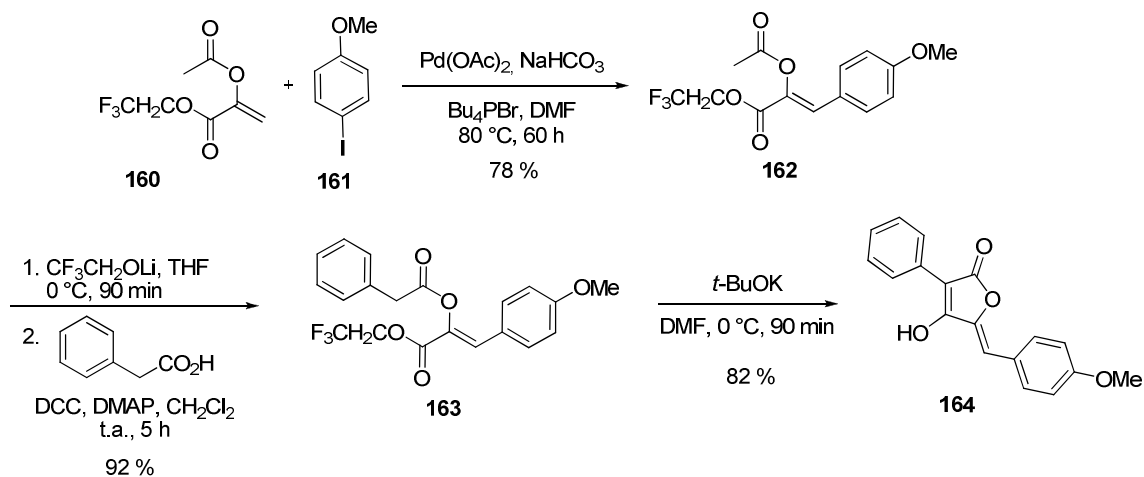


Schéma 63

Brückner a développé, par cette méthode, un accès rapide à des pulvinones. La méthodologie a été exemplifiée par la synthèse de diverses pulvinones naturelles dont les aspulvinones A, E, G et H.

II. Application de notre stratégie à la synthèse de pulvinones

Les travaux présentés dans cette partie ont été réalisés avec le concours d'Hélène Besnard, étudiante en 3^e année à l'ENSCM.

Dans le chapitre 3, des dérivés d'acide pulviniques monosubstitués **117** ont été obtenus par une séquence de trois réactions à partir du L-tartrate de diméthyle **105** (Schéma 64). Les dérivés **117** synthétisés possèdent une structure générale analogue à celle des pulvinones. En effet, ces deux familles de composés sont des dérivés tétroniques comportant une double liaison exocyclique monosubstituée de configuration Z.

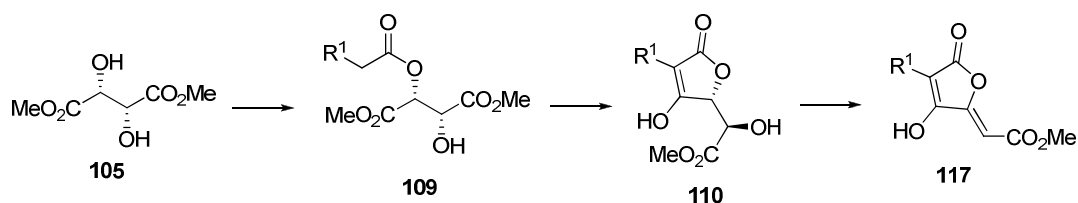


Schéma 64

Nous avons donc envisagé d'appliquer la méthode mise au point pour la synthèse des dérivés **117** à la préparation de différentes pulvinones.

1. Etude rétrosynthétique

En reprenant la même stratégie de synthèse décrite précédemment pour les dérivés **117**, la pulvinone **137** pourrait être obtenue à partir de l'alcool **165** (Schéma 65). Dans le cas de la synthèse de pulvinones, il était envisageable d'utiliser un intermédiaire, analogue au L-tartrate de diméthyle, possédant une fonction diol. Cependant, nous avons pensé que l'étape d'estérification d'un diol de ce type ne serait pas sélective pour la fonction alcool située en α de l'ester méthylique. L'utilisation de **165**, possédant un groupement protecteur sur la fonction alcool en α du groupement R², pourrait permettre d'obtenir la sélectivité souhaitée lors de la réaction d'estérification. Cependant, une étape supplémentaire de déprotection sera alors nécessaire. Le produit **165** pourrait être formé par une ouverture sélective de l'époxide **166** avec un alcool judicieusement choisi. Enfin, **166** serait obtenu à l'aide d'une réaction de Darzens à partir du chloroacétate de méthyle **167** et d'un aldéhyde **168**.

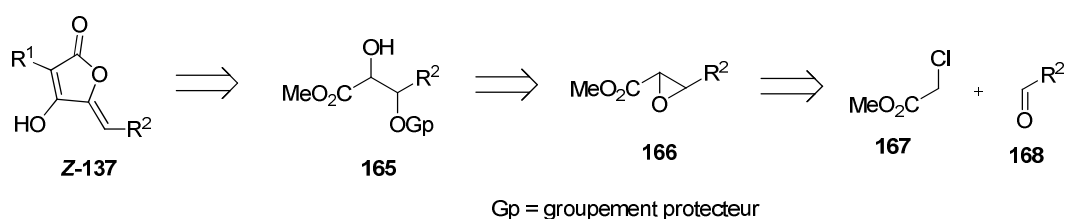


Schéma 65

Une variété de pulvinones pourrait être synthétisée par cette stratégie. En effet, différents groupements R¹ et R² peuvent être introduits en faisant varier d'une part l'aldéhyde lors de la réaction de Darzens et d'autre part l'acide carboxylique lors de l'étape d'estérification.

Une seconde stratégie alternative a également été envisagée pour permettre un accès beaucoup plus rapide à la pulvinone **137** (Schéma 66). Dans cette nouvelle méthode, le groupement protecteur de l'alcool **165** est remplacé par un groupement partant. Ainsi, après avoir réalisé la réaction d'estérification, la pulvinone **137** pourrait être formée par un processus tandem impliquant une cyclisation de Dieckmann et une β -élimination à partir du dérivé **170**.

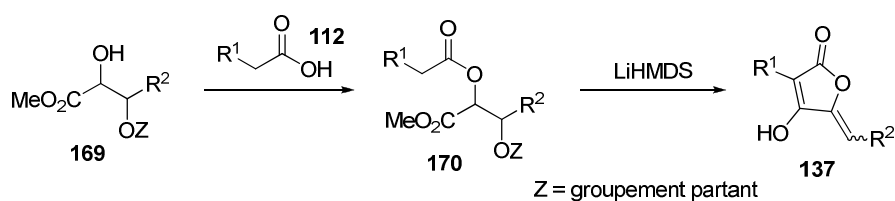


Schéma 66

2. Préparation d'époxyde par la réaction de Darzens

La réaction de Darzens¹¹⁷ est une réaction de condensation entre une cétone (ou aldéhyde) **171** et un α -haloester **172** (Schéma 67). Cette réaction est effectuée en présence d'une base et conduit à la formation d'un α,β -époxyester (ou ester glycidique) **175**. La réaction est initiée par la base et conduit à la formation de l'énolate d'ester **173** par déprotonation de la position α de l'ester **172**. Ensuite, une attaque nucléophile de l'énolate **173** sur la cétone **171** génère l'anion **174**. Enfin, une substitution intramoléculaire, via une S_N2 , de l'atome d'halogène par l'alcoolate conduit à l'époxyde **175**.

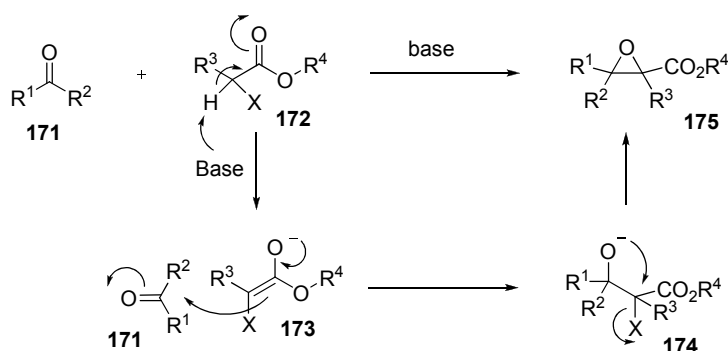


Schéma 67

Afin de mettre au point la séquence réactionnelle décrite précédemment, un seul époxyde a été préparé dans un premier temps. Il s'agit du phénylglycidate de méthyle **166a**, synthétisé à l'aide de la réaction de Darzens. L'époxyde **166a** est obtenu avec 60 % de rendement à partir du benzaldéhyde **168a** et du chloroacétate de méthyle **167**, en présence de méthylate de sodium dans du THF (Schéma 68).

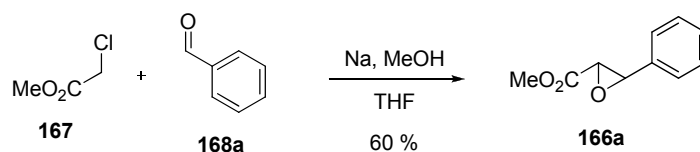


Schéma 68

Dans ces conditions, le phénylglycidate de méthyle **166a** est obtenu sous la forme *trans* uniquement. En effet, par RMN ¹H, la constante de couplage mesurée entre les protons liés à l'époxyde est de 1,8 Hz, ce qui est caractéristique d'une géométrie *trans*.

¹¹⁷ Darzens G. *Compt. Rend.* **1904**, 139, 1214-1217; Darzens G. *Compt. Rend.* **1905**, 141, 766-768; Darzens G. *Compt. Rend.* **1906**, 142, 214-215.

3. Ouverture de l'époxyde

Afin de poursuivre la méthode de synthèse, le phénylglycidate de méthyle **166a** est ensuite ouvert à l'aide de différents alcools (Schéma 69). Une des méthodes d'ouverture des époxydes par un alcool fait appel à l'utilisation d'un acide de Lewis, le $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, comme catalyseur¹¹⁸. Dans le cas du glycidate, ces conditions nécessitent l'utilisation de l'alcool comme solvant.

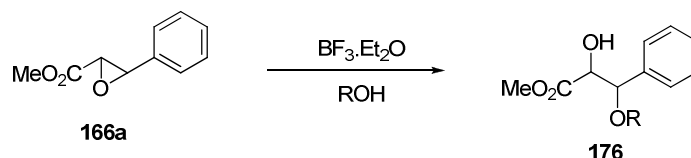


Schéma 69

Dans le but d'étudier les deux stratégies envisagées, les alcools utilisés doivent soit comporter un groupement pouvant être clivé, soit pouvoir servir de groupement partant. Ainsi, l'alcool allylique et le 2-(triméthylsilyl)éthanol seront utilisés en tant que groupements protecteurs. Le méthanol et le 2,2,2-trifluoroéthanol seront introduits pour servir de groupements partants.

Le phénylglycidate de méthyle **166a** a donc été traité avec les différents alcools sélectionnés en présence d'une quantité catalytique (0,2 éq.) de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. La réaction d'ouverture est totalement régiosélective, avec attaque exclusive de l'alcool en α du phényle. Le meilleur rendement a été obtenu avec l'alcool allylique (Tableau 9, entrée 1). Le méthanol et le trifluoroéthanol ont permis également d'obtenir le produit attendu avec de bons résultats (entrées 3 et 4). Mais la réaction avec le 2-(triméthylsilyl)éthanol n'a pas conduit à l'alcool **176c** désiré (entrée 2). Le produit s'est révélé instable sur silice et s'est dégradé au cours de la purification.

entrée	R	alcool 176	rapport des diastéréoisomères	rdt (%)
1	allyle	176a	3/1	84
2	$\text{Me}_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2$	176b	/	0
3	Me	176c	5/1	70
4	CF_3CH_2	176d	2/1	76 ^a

^a diastéréoisomères séparés : isomère *syn* **176d**₁ (51 %), isomère *anti* **176d**₂ (25 %)

Tableau 9

¹¹⁸ Kraus G. A., Landgrebe K. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 4039-4046.

Il est à noter que tous les alcools **176** ont été obtenus sous forme d'un mélange de diastéréoisomères. Il est probable que l'époxyde réagisse initialement avec l'acide de Lewis pour conduire à un carbocation intermédiaire **178** (Schéma 70). Selon que l'alcool **176** s'additionne ensuite sur l'une ou l'autre face du carbocation **178**, il se forme l'un ou l'autre des diastéréoisomères.

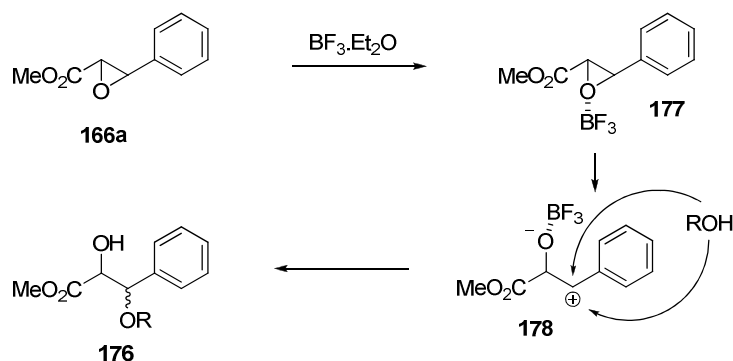


Schéma 70

Les mélanges d'isomères **176a** et **176b** n'ont pas pu être séparés. Par contre, les isomères obtenus par la réaction du 2,2,2-trifluoroéthanol ont été aisément séparés par chromatographie sur gel de silice. L'isomère *syn* **176d₁**, moins polaire, et l'isomère *anti* **176d₂**, plus polaire, ont été isolés respectivement avec des rendements de 51 et 25 %. L'établissement des configurations de ces isomères sera discuté plus loin.

4. Réaction d'estérification

A ce stade de la synthèse, la réaction d'estérification permet l'introduction d'une variété de groupements R^1 . Dans le cas des pulvinones, seuls des noyaux aromatiques différemment substitués ont été choisis. Comme pour la synthèse de dérivés pulviniques, cette réaction a été effectuée avec des acides arylacétiques **112** en présence de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) et de 4-(diméthylamino)pyridine (DMAP) dans du dichlorométhane. Mais contrairement au L-tartrate de diméthyle, l'estérification ne peut s'effectuer que sur une seule fonction alcool, donc la réaction est effectuée à t.a. avec un excès d'acide carboxylique.

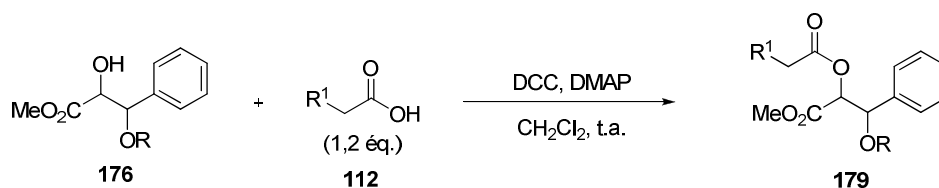


Schéma 71

Les conditions décrites ci-dessus ont permis d'obtenir les esters **179a-h** avec de très bons rendements allant de 47 à 95 % (Tableau 10). Il est à noter que les composés **179a-c** (entrées 1 à 3) ont été préparés à partir de mélange des alcools diastéréoisomères correspondants, alors que les esters **179d-h** (entrées 4 à 7) ont été préparés chacun à partir d'un diastéréoisomère de l'alcool **176d**. Il n'était pas certain que l'utilisation ou non d'un mélange de diastéréoisomères soit importante puisque ces différentes configurations vont disparaître lors des étapes suivantes.

entrée	R	alcool 176	R ¹	acide 112	éther 179	configuration de 179	rdt (%)
1	allyle	176a	4-(MeO)C ₆ H ₄	112a	179a	<i>syn</i> + <i>anti</i>	77
2	Me	176c	4-(MeO)C ₆ H ₄	112a	179b	<i>syn</i> + <i>anti</i>	70
3	CF ₃ CH ₂	176d	4-(MeO)C ₆ H ₄	112a	179c	<i>syn</i> + <i>anti</i>	61
4	CF ₃ CH ₂	176d₂	Ph	112b	179d	<i>anti</i>	95
5	CF ₃ CH ₂	176d₁	3-(MeO)C ₆ H ₄	112m	179e	<i>syn</i>	73
6	CF ₃ CH ₂	176d₁	4-BrC ₆ H ₄	112d	179f	<i>syn</i>	47
7	CF ₃ CH ₂	176d₁	4-FC ₆ H ₄	112e	179g	<i>syn</i>	90
8	CF ₃ CH ₂	176d₂	4-FC ₆ H ₄	112e	179h	<i>anti</i>	77

Tableau 10

Une analyse de diffraction des rayons X a été effectuée à partir du composé **179h** (réalisée par P. Thuéry, CEA/IRAMIS/SIS2M) et a permis d'établir sa configuration *anti*. Il en découle que l'alcool **176d₁** est de configuration *syn* et que l'alcool **176d₂** est de configuration *anti*.

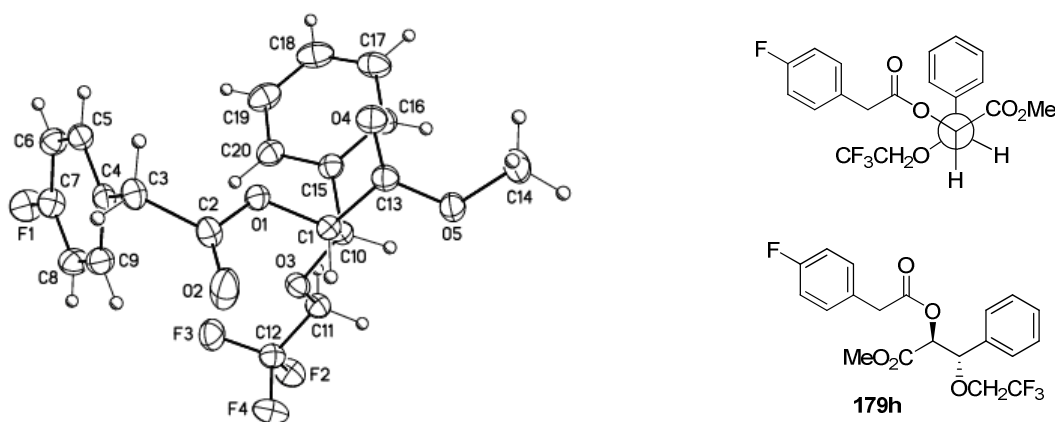
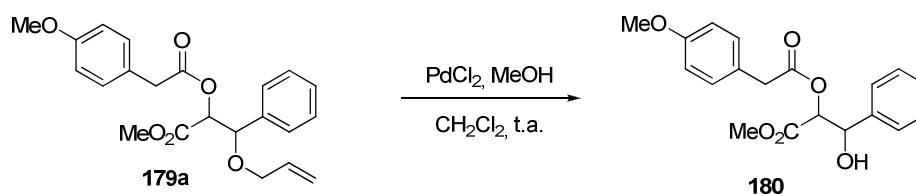


Figure 39

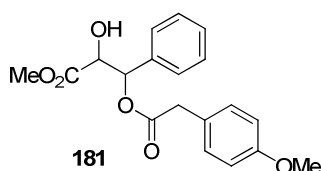
5. Déprotection de l'éther allylique

Cette étape de déprotection va permettre de libérer la fonction alcool. Dans le cas des mono-esters du tartrate de diméthyle, nous avons observé qu'il était nécessaire que le OH soit libre de manière à éviter une β -élimination au cours de l'étape de cyclisation de Dieckmann⁹⁸. En effet, dans les conditions basiques de la réaction, l'alcool est sous forme d'un anion qui empêche la déprotonation en α et ainsi la β -élimination. Donc, dans un premier temps, la déprotection du groupement allyle permet de se replacer dans les mêmes conditions.

De nombreuses méthodes de déprotection des éthers allyliques sont décrites dans la littérature¹¹⁹. Une de ces méthodes fait appel à l'utilisation de PdCl₂ en présence de méthanol dans du dichlorométhane¹²⁰. Ces conditions sont notamment utilisées sur des polysaccharides comportant des groupements acétyles et benzoyles. L'éther allylique **179a** a donc été placé dans ces conditions pour réaliser le clivage du groupement allyle.



Mais, malheureusement, les résultats obtenus n'ont pas été satisfaisants. À la suite de cette réaction, le groupement allyle a bien été clivé. Cependant, après chromatographie sur gel de silice, un mélange de plusieurs composés a été obtenu. D'après la RMN ¹H, les deux alcools isomères attendus **180** semblent présents. En effet, deux doublets caractéristiques sont obtenus à 5,06 et 5,25 ppm pour l'isomère majoritaire et à 5,35 et 4,75 pour l'isomère minoritaire. On observe également deux autres composés qui sont probablement les deux isomères de l'alcool **181**.



¹¹⁹ Greene T. W., Wuts P. G. M. *Protective Groups In Organic Synthesis*, 3rd ed., John Wiley & Sons: New York, 1991, pp 67-72.

¹²⁰ Li A., Kong F. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 839-853.

En effet, chacun de ces isomères est caractérisé par la présence de deux doublets, et notamment, un doublet correspondant au proton benzylique situé en α du groupement 4-méthoxyphénylacétoxy à 6,06 ppm ($J = 2,9$ Hz) et à 6,04 ppm ($J = 4,0$ Hz). Cela suggère qu'il y ait eu une migration intramoléculaire du groupement 4-méthoxyphénylacétoxy vers l'alcool benzylique.

La déprotection du groupement allyle ne nous a pas permis d'isoler, de manière pure, l'alcool **180**. La seconde stratégie a donc été testée pour essayer d'obtenir les pulvinones en une seule étape à partir des éthers **179**.

6. Synthèse des pulvinones par un processus tandem

Rappelons que le processus tandem consiste en une cyclisation de Dieckmann et une β -élimination. Cette stratégie doit permettre une préparation de pulvinones en une seule étape à partir des dérivés **179** (Schéma 73). Cette réaction est effectuée par traitement des éthers **179** avec du LiHMDS à -78 °C, suivi d'un retour à t.a., plus ou moins rapide. La mise au point du processus a été réalisée avec les éthers **179b** et **179c** comportant un groupement 4-méthoxyphényle (Schéma 73). Nous avons alors fait varier le nombre d'équivalents de LiHMDS et les conditions de retour à t.a. afin d'obtenir le meilleur rendement possible.

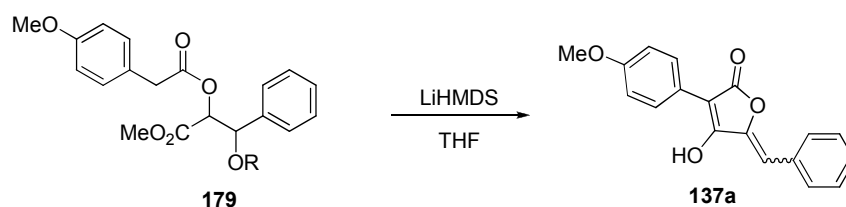


Schéma 73

Les premiers essais ont été réalisés à partir de l'éther méthylique **179b** (Tableau 11, entrées 1 à 5). Mais, les différentes variations de températures et de temps de réaction n'ont eu aucune d'influence sur le rendement obtenu. En effet, quels que soient le temps de réaction à -78 °C et à t.a. et la vitesse de retour à t.a., avec passage ou non à -40 °C, les rendements restent faibles (14 à 19 %). De plus, l'augmentation du nombre d'équivalents de base (entrée 3) n'a pas modifié ce résultat. Par contre, lorsque la réaction a été effectuée à partir de l'éther trifluoroéthyle **179c** (entrées 6 à 8) avec un retour à t.a. rapide (entrées 7 et 8), le rendement en pulvinones **137a** a été nettement amélioré. Le meilleur résultat a été obtenu

avec l'éther **179c** en présence de 3,5 équivalents de LiHMDS dans du THF, agité 1 h à -78 °C puis à t.a. pendant la nuit (entrée 8).

entrée	R	ether 179	éq. LiHMDS	conditions	rapport ^b Z/E	rdt (%) ^a
1	Me	179b	3,5	1 h à -78 °C puis 1 h à t.a.	10/3	16
2	Me	179b	3,5	4 h à -78 °C puis à t.a. une nuit	10/2	14
3	Me	179b	5	4 h à -78 °C puis à t.a. une nuit	11/5	14
4	Me	179b	3,5	1 h à -78 °C, 3 h à -40 °C puis t.a. une nuit	10/6	17
5	Me	179b	3,5	-78 °C puis remontée à t.a. lentement la nuit	10/3	19
6	CF ₃ CH ₂	179c	3,5	-78 °C puis remontée à t.a. lentement la nuit	10/5	10
7	CF ₃ CH ₂	179c	3,5	1 h à -78 °C puis 1 h à t.a.	10/1	61
8	CF ₃ CH ₂	179c	3,5	1 h à -78 °C puis à t.a. une nuit	10/3	78

^a rendement du mélange des isomères Z et E.

^b rapport déterminé à partir des intégrations en RMN ¹H.

Tableau 11

Dans tous les cas, la pulvinone **137a** a été isolée sous la forme d'un mélange d'isomères Z et E. Les caractéristiques spectrales de la pulvinone **137a** obtenue sont en accord avec les données de la littérature⁹⁶. Notamment, en RMN ¹H dans l'acétone-d₆, le déplacement chimique du proton éthylénique est de 6,57 ppm pour l'isomère Z et 6,80 ppm pour l'isomère E.

Une explication de la différence de rendement en pulvinones **137a** à partir des deux éthers **179b** et **179c** peut être apportée par l'étude du mécanisme de la réaction (Schéma 74). Le processus fait appel à deux réactions successives, une cyclisation de Dieckmann et une réaction d'élimination. Suivant l'ordre d'enchaînement de ces réactions, les produits formés sont complètement différents.

Si l'ester **179** subit dans un premier temps une réaction de β -élimination, il se forme un ester d'énol **184**. La déprotonation de l'ester **184** conduit à l'énolate **185** qui peut cycliser en pulvinone **137**. Cependant, Brückner⁹⁵ a observé que le traitement d'esters d'énols similaires à **184**, dont il a effectué les synthèses, par du LiHMDS, ne conduit pas à la formation des pulvinones correspondantes. Il a proposé que l'énolate **185** subissait lui-même une réaction de β -élimination, conduisant à l'énolate **186** et au cétène **187**.

Au contraire, si la réaction de cyclisation se produit initialement, l'acide tétronique **183** est formé. Ensuite, seule une réaction d'élimination peut se produire, ce qui conduit exclusivement à la pulvinone **137**. D'après les rendements obtenus, la présence de l'éther trifluoroéthyle semblerait donc favoriser cette voie, alors que la réaction de β -élimination se produit dans un premier temps à partir de l'éther méthylique **179b**.

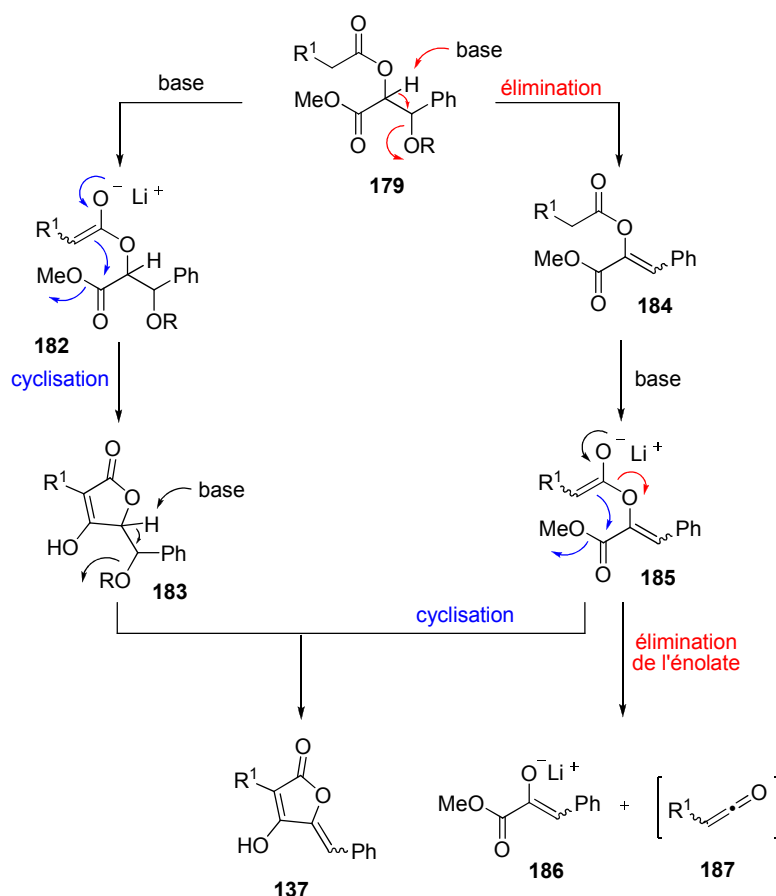


Schéma 74

Les conditions mises au point précédemment pour la synthèse de la pulvinone **137a** ont été ensuite utilisées pour la préparation des pulvinones **137b-e** à partir des éthers trifluoroéthylés **179d-g** (Schéma 75).

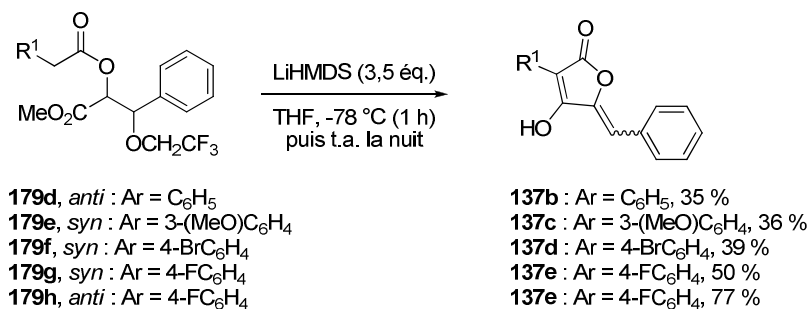


Schéma 75

Les pulvinones **137b-e** ont été obtenues avec de bons rendements allant de 35 à 77 %. Les meilleurs rendements de formation des pulvinones, dans cette série, ont été obtenus avec le groupement 4-fluorophényle. De plus, quelle que soit la configuration relative, *syn* ou *anti*, de l'ester **179** de départ, un mélange de pulvinones *Z* et *E* est obtenu.

III. Conclusion et perspectives

La stratégie exposée dans ce chapitre permet de préparer une pulvinone à partir du chloroacétate de méthyle, d'un acide arylacétique et d'un aldéhyde en quatre étapes (Schéma 76). Cette stratégie repose, en fait, sur une modification de la méthode employée pour la préparation de dérivés pulviniques monosubstitués, décrite dans le chapitre 3 de ce mémoire. Mais, dans le cas de la synthèse de pulvinones, les deux dernières réactions, cyclisation de Dieckmann et élimination, ont pu être effectuées en une seule étape. Cette méthode nous a permis de préparer plusieurs pulvinones de manière concise et efficace.

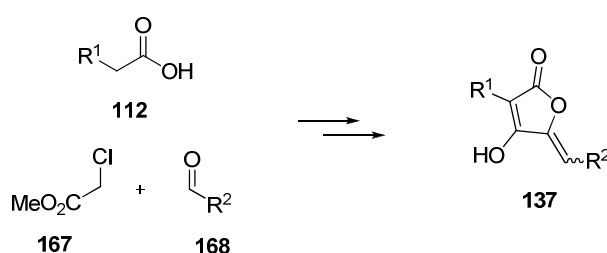


Schéma 76

La flexibilité de cette stratégie, par modification de l'aldéhyde puis de l'acide arylacétique engagés, permet d'envisager la synthèse de nombreuses pulvinones de manière concise. Cependant, par cette méthode, un mélange de pulvinones de configuration *Z* et *E* est obtenu dans tous les cas. Nous envisageons par la suite de convertir les pulvinones *E* en pulvinones *Z* par une séquence d'acétylation et d'hydrolyse, décrite par Campbell¹¹². Il sera ensuite intéressant d'évaluer de tels composés comme antioxydants et comme agents de protection contre les rayonnements ionisants.

Chapitre 5 : Synthèse d'acides 3-aryltétramiques

Dans le cadre de l'étude de la relation structure-activité de dérivés pulviniques, le changement de la fonction lactone par un lactame permettrait de connaître l'influence de cette fonction sur l'activité antioxydante. Dans le chapitre 2, nous avons décrit une méthode de synthèse d'acides pulviniques, réalisée au laboratoire, qui fait appel à la condensation d'anions dérivés d'acides 3-aryltétroniques sur des cétoesters. Par analogie, l'utilisation d'une méthode similaire employant comme substrats de départ des acides 3-aryltétramiques **188** pourrait permettre un accès facile et rapide à des dérivés d'acides pulviniques azotés **190**.

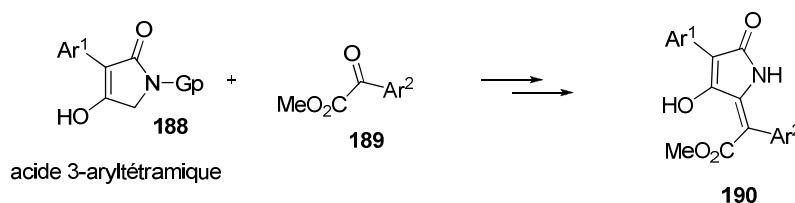


Schéma 77

Dans ce chapitre, nous décrivons la mise au point d'une méthode de préparation en une étape d'acides 3-aryltétramiques, qui pourront ensuite être employés pour l'accès à des dérivés de type aza-pulviniques.

I. Les acides tétramiques

1. Présentation

Les acides tétramiques sont des analogues des acides tétroniques où l'oxygène intracyclique a été remplacé par un atome d'azote. L'acide tétramique existe sous les deux formes tautomères (Figure 41), 4-hydroxy-2(5*H*)-pyrrolone **191** et 2,4-pyrrolidinedione **192**¹²¹. Il possède un caractère acide plus faible que son analogue oxygéné, avec un pKa de 6,4 contre 3,76 pour l'acide tétronique.

¹²¹ Royles B. J. L. *Chem. Rev.* **1995**, 95, 1981-2001.

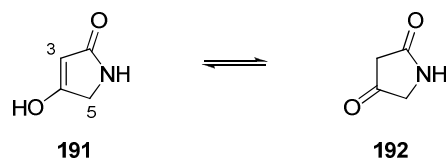


Figure 41

Le motif acide tétramique est présent dans la structure de nombreux composés naturels issus de plusieurs espèces marines et terrestres comme les éponges, les cyanobactéries, les bactéries et les champignons¹²². Ces composés possèdent un large éventail d'activités biologiques. Notamment, ils présentent des propriétés antibiotiques, antivirales, cytotoxiques, mycotoxiques, antitumorales et antifongiques^{121,122}.

La majorité des dérivés d'acides tétramiques naturels possèdent un groupement acyle en position 3. C'est le cas par exemple de l'acide ténuazonique isolé à partir du champignon *Alternaria tenuis*¹²³ et l'acide α -cyclopiazonique isolé à partir du champignon *Penicillium cyclopium*¹²⁴.

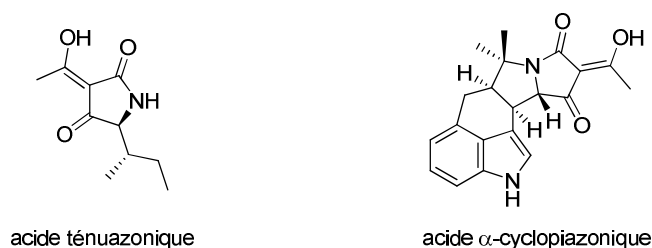


Figure 42

D'autres classes d'acides tétramiques existent à l'état naturel^{121,122}. Par contre, aucun dérivé naturel d'acide 3-aryltétramique n'a été isolé à ce jour. Cependant, des composés de ce type ont été décrits dans la littérature pour leurs propriétés herbicides¹²⁵, acaricides¹²⁶, insecticides^{127,128} et pesticides¹²⁹. Ainsi, le spirotétramate¹³⁰ (Movento[®]) est commercialisé par la société Bayer CropScience comme insecticide.

¹²² Schobert R., Schlenk A. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 4203-4221.

¹²³ Rosset T., Sankhala R. H., Stickings C. E., Taylor M. E. U., Thomas R. *Biochem J.* **1957**, *67*, 390-400.

¹²⁴ Holzapfel C. W. *Tetrahedron* **1968**, *24*, 2101-2119.

¹²⁵ Kato M., Yamada Y., Sato A., Takahashi A. In JP 2001072661, 2001.

¹²⁶ Fischer R., Brueck E., Waetermeulen X. A. V. In DE 102006022821, 2007.

¹²⁷ Ito M., Okui H., Nakagawa H., Mio S., Kinoshita A., Obayashi T., Miura T., Nagai J., Yokoi S., Ichinose R., Tanaka K., Kodama S., Iwasaki T., Miyake T., Takashio M., Iwabuchi J. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2002**, *66*, 2406-2414.

¹²⁸ Ito M., Okui H., Nakagawa H., Mio S., Kinoshita A., Obayashi T., Miura T., Nagai J., Yokoi S., Ichinose R., Tanaka K., Kodama S., Iwasaki T., Miyake T., Takashio M., Iwabuchi J. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 761-768.

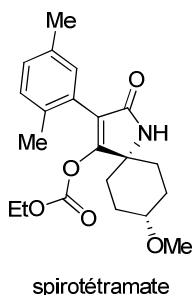
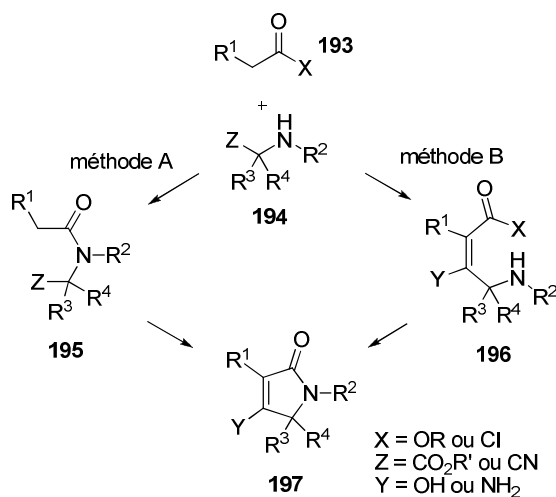


Figure 43

2. Synthèses d'acides tétramiques dans la littérature

En 1914, Gabriel¹³¹ publia la première synthèse d'un dérivé d'acide tétramique. Depuis, de nombreuses synthèses d'acides tétramiques ont été reportées dans la littérature¹²¹. Les stratégies déployées pour la majorité des synthèses décrites peuvent être regroupées suivant deux méthodes (Schéma 78)¹³². Les stratégies diffèrent seulement par l'ordre d'enchaînement des réactions. La méthode A débute par la formation de la fonction amide et se poursuit par une réaction de cyclisation. Dans la méthode B, la séquence débute par une condensation de type Claisen puis le lactame est formé par une attaque nucléophile intramoléculaire de l'amine sur la fonction carbonylée.



¹²⁹ Fischer R., Krebs A., Marhold A., Santel H. J., Schmidt R. R., Luerssen K., Hagemann H., Becker B., Schaller K., Stendel W. In EP 355599, 1990.

¹³⁰ Andersch W., Fischer R., Hungenberg H., Marczok P., Pontzen R., Reckmann U., Van Waetermeulen X. A. M., Kuehnhold J., Bell J., Krueger S., Hinz J. In WO 2008017388, 2008.

¹³¹ Gabriel S. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1914**, *47*, 3033-3039.

¹³² Hening H.-G., Gelbin A. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1993**, *57*, 139-185.

En ce qui concerne plus spécifiquement les acides 3-aryltétramiques, une première approche a été publiée en 1950 par King et McMillan¹³³. Leur stratégie de synthèse reposait sur le principe de la méthode A décrite précédemment (Schéma 79). Tout d'abord le 2-(benzylamino)acétate d'éthyle **200** a été obtenu à partir de la benzylamine **198** et du chloroacétate d'éthyle **199** au reflux du benzène. Ensuite, la réaction de l'amine **200** avec le chlorure d'acide **201** en présence d'une solution aqueuse de K₂CO₃ a permis de fournir l'amide **202**. Et enfin, une cyclisation de Dieckmann en présence d'éthylate de sodium et de formiate d'éthyle dans du benzène, a conduit à l'acide tétramique **203** obtenu avec un rendement global variant de 50 à 59 %.

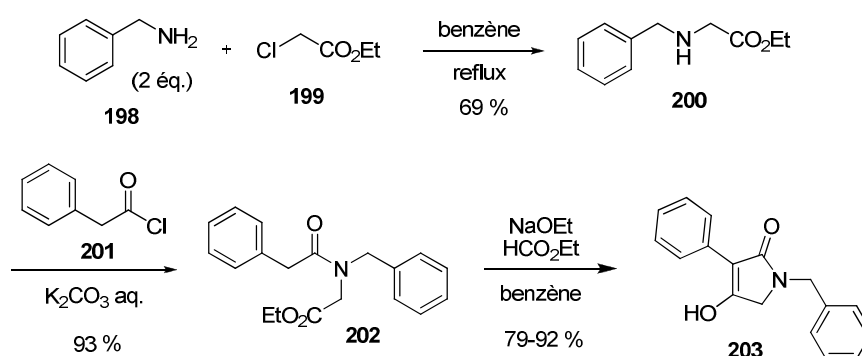


Schéma 79

King et McMillan ont également essayé de réaliser la synthèse de l'acide tétramique **203** en une seule étape à partir du 2-(benzylamino)acétate d'éthyle **200** et du phénylacétate d'éthyle **204** (Schéma 80). Pour cela, ils ont réalisé la réaction dans une solution d'éthylate de sodium mais cependant le rendement obtenu est très faible (5 %).

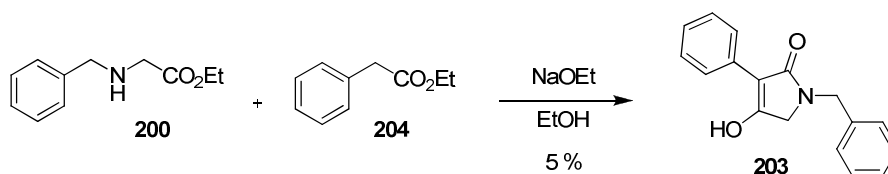


Schéma 80

En 2007, Pelkey¹³⁴ a décrit la synthèse de l'acide 3-aryltétramique **209** en trois étapes à partir de la vératrylamine **205** (Schéma 81). Une réaction de *N*-alkylation avec le bromoacétate d'éthyle **206**, en présence de triéthylamine, a conduit à l'amine secondaire **207**. En présence du chlorure d'acide **201**, l'amine **207** a été *N*-acylée. Puis, le traitement de l'amide **208** avec

¹³³ King J. A., McMillan F. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, 72, 1236-1240.

¹³⁴ Dorward M., Guthrie N. J., Pelkey E. T. *Synthesis* **2007**, 2317-2322.

du *tert*-butylate de sodium a fourni, par une réaction de Dieckmann, l'acide tétramique **209** avec un rendement de 28 % sur les trois étapes.

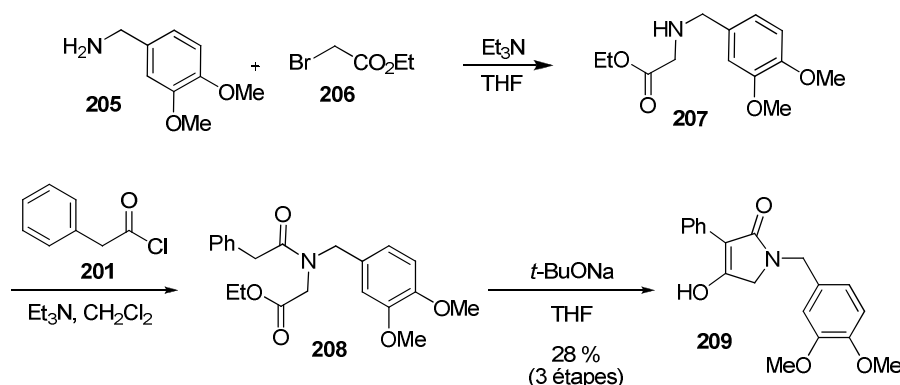


Schéma 81

Récemment, Tanner¹³⁵ a réalisé la synthèse de motifs 3-aryltétramiques par introduction du groupement aromatique à l'aide d'un couplage catalysé par du palladium (Schéma 82). Tout d'abord, la préparation de l'acide *N*-Boc tétramique **212** a été réalisée en deux étapes à partir de l'acide *N*-Boc aminé **210** et de l'acide de Meldrum **211**. Ensuite, le couplage de différents chlorures d'aryles a été effectué en présence d'acétate de palladium et du ligand **214** et a permis la formation d'acides tétramiques **215**. De nombreuses fonctions sont tolérées au cours de cette réaction de couplage. Par exemple, des phényles substitués par des fonctions nitro, acide carboxylique, amine, acyle, ester, nitrile ont pu être introduits. Cependant, d'autres noyaux aromatiques, comme des thiophènes ou des pyridines non protégées, n'ont pas permis de former les acides tétramiques correspondants.

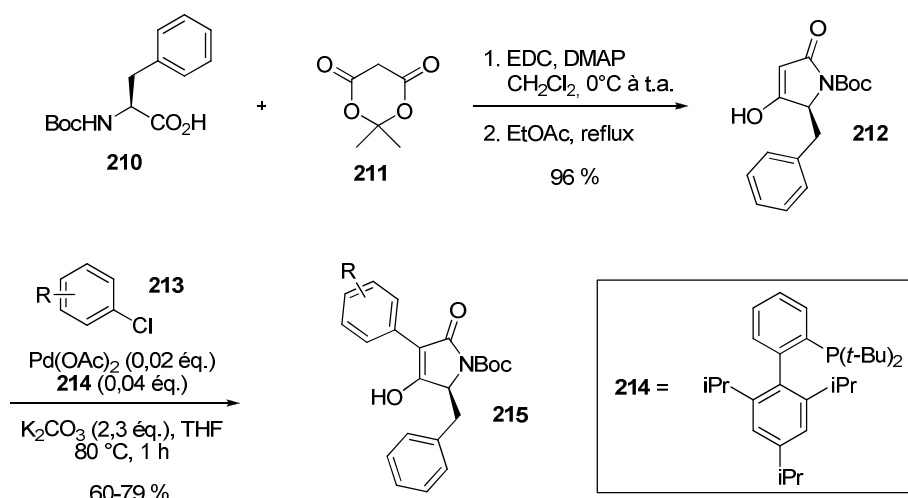


Schéma 82

¹³⁵ Storgaard M., Dörwald F. Z., Peschke B., Tanner D. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5032-5040.

II. Synthèse d'acides 3-aryltétramiques par un processus tandem

Récemment, au laboratoire⁷⁶, une synthèse en une étape d'acides 3-aryltétroniques **217**, à partir d'arylacétates de méthyle **34** et d'hydroxyesters **216**, a été développée (Schéma 83). Cette stratégie fait appel à un processus tandem impliquant une réaction de transestérification et une cyclisation de Dieckmann. Les acides tétroniques synthétisés par cette voie peuvent être substitués par différents groupements aromatiques en position 3 et substitués ou non en position 5.

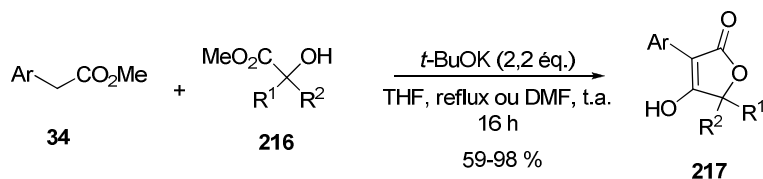


Schéma 83

Il paraissait donc envisageable d'obtenir des acides 3-aryltétramiques **218** par une méthode analogue, en une étape qui mettrait en jeu des arylacétates de méthyle **34** et des α -aminoesters **219** (Figure 44). Le processus tandem impliquerait ici la formation d'un amide puis une réaction de Dieckmann.

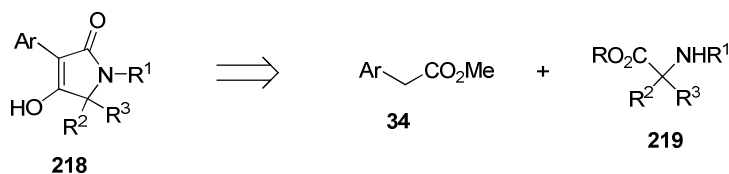


Figure 44

Le mécanisme engagé dans la formation d'un acide tétramique **218** est décrit dans le Schéma 84. Dans un premier temps, l'amide **220** est formé à partir de l'ester **34** et de l' α -aminoester **219**. Celui-ci est ensuite converti en acide tétramique **218** par une cyclisation de Dieckmann.

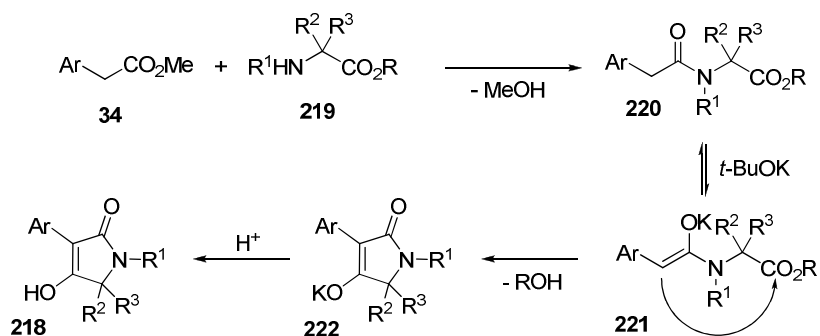


Schéma 84

1. Travaux préliminaires¹³⁶

Les travaux présentés dans cette partie ont été réalisés par Aurélie Mallinger et Nicolas Chopin, étudiant en Master 1ère année.

Initialement, la faisabilité de la réaction a été testée avec le 4-méthoxyphénylacétate de méthyle **34a** et le chlorhydrate de l'ester méthylique de la glycine **223a** (Schéma 85). La forme chlorhydrate a été directement employée dans la réaction, ce qui a impliqué l'utilisation d'un équivalent supplémentaire de base afin de neutraliser la fonction acide. Malgré les différents essais réalisés, avec des quantités variables de base, l'acide tétramique **224b** n'a pas été obtenu. Seule l'utilisation de l'ester *tert*-butylique de la glycine **223b**, en présence de 2,5 équivalents de base, a permis la formation de l'acide attendu **224b**, mais avec un rendement de 20 % seulement.

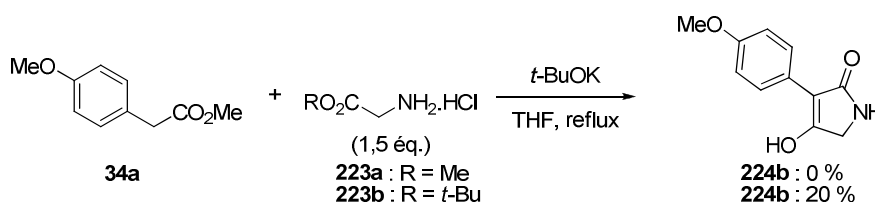


Schéma 85

Ce rendement est principalement dû à une faible conversion de l'ester de départ, 38 % d'après les spectres RMN ¹H. Mais ce résultat n'a pas pu être amélioré en augmentant le nombre d'équivalents de base et le temps de réaction. Les faibles rendements obtenus pourraient être dus à une polymérisation de l' α -aminoester dans les conditions de la réaction. De ce fait, il a été envisagé d'utiliser des α -aminoesters comportant une fonction amine secondaire.

Des essais ont été ensuite réalisés à partir du chlorhydrate du sarcosinate de méthyle **225** et de divers arylacétates de méthyle **34**, en présence de *tert*-butylate de potassium, dans du THF à reflux (Schéma 86). L'acide tétramique **226a** a été tout d'abord obtenu à partir de l'ester correspondant **34a** avec un rendement de 62 % après une nuit de réaction.

¹³⁶ Mallinger A., Thèse de Doctorat, Université de Paris XI, Orsay, 2008.

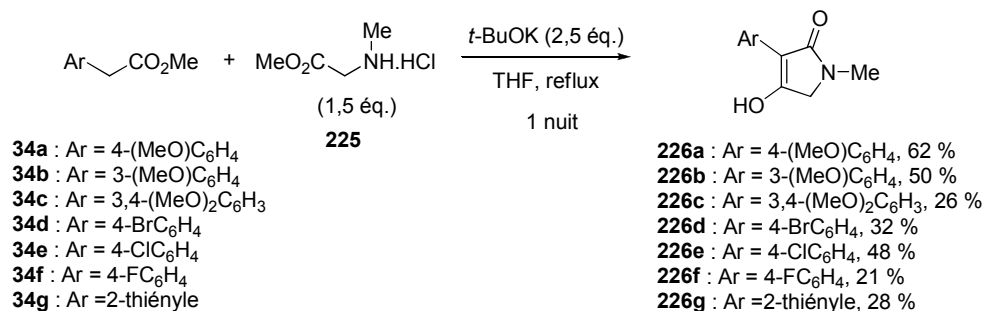


Schéma 86

Plusieurs acides tétramiques *N*-méthylés ont été préparés dans ces conditions à partir des arylacétates de méthyle **34a-g** correspondants. Il est à noter cependant que, quel que soit l'ester de départ, les rendements obtenus restent moyens, voire faibles. Ceci pourrait être dû à l'utilisation d'un chlorhydrate d'amine et à la nécessité de réaliser une opération de séchage préalable.

Des expériences ont donc été réalisées avec le benzylaminoacétate de méthyle **227** (Schéma 87). Différents acides tétramiques *N*-benzylés ont été préparés à partir d'arylacétates **34** variés, en présence de 1,2 équivalent de *tert*-butylate de potassium, au reflux du THF. Les rendements, variant de 52 à 67 % ont été effectivement améliorés par l'utilisation d'une amine secondaire libre.

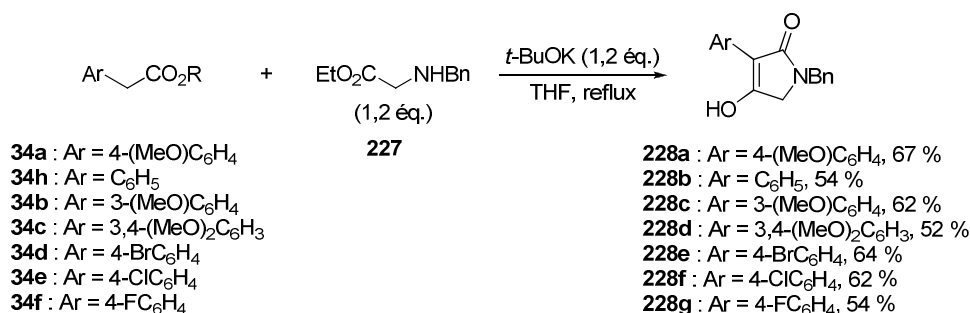


Schéma 87

Après avoir réalisé la synthèse des acides tétramiques *N*-benzylés, des essais de déprotection de la fonction amide ont été réalisés. Il est connu que l'hydrogénéolyse de benzylamides est particulièrement difficile, aussi d'autres méthodes ont été testées. Tout d'abord, des conditions faisant appel à du *N*-bromosuccinimide (NBS) et de l'AIBN ont été employées¹³⁷.

¹³⁷ Baker S. R., Parsons A. F., Wilson M. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 331-332.

Mais, dans notre cas, cette méthode n'a pas conduit à l'acide tétramique déprotégé mais à un mélange complexe de composés. Une autre méthode plus douce, avec du NBS et le *N*-méthylacétamide (NMA) dans du chloroforme¹³⁸, a également été employée mais toujours sans succès. Suite à ces résultats, il a été envisagé de changer le groupement protecteur de l'amide.

2. Préparation d'acides tétramiques *N*-2,4-diméthoxybenzylés

En 1985, Schlessinger¹³⁹ a utilisé un groupement 2,4-diméthoxybenzyle pour protéger des acides 3-cétotétramiques. Il réalisa leur déprotection par traitement à l'acide trifluoroacétique à t.a. en 30 min. Et récemment, Pelkey¹³⁴ a montré que, sur des acides 3,4-diaryltétramiques, la fonction amide, protégée, cette fois-ci, par un groupement 3,4-diméthoxybenzyle, pouvait être libérée également en utilisant de l'acide trifluoroacétique. Nous avons donc essayé de synthétiser des acides tétramiques *N*-2,4-diméthoxybenzylés en utilisant la méthode décrite précédemment.

Dans un premier temps, la synthèse de l'amine **231** a été réalisée. Pour cela, les conditions décrites par Pelkey¹³⁴, avec l'utilisation de triéthylamine dans du THF, ont été employées (Schéma 88). Cette méthode a permis la préparation de l'amine **231** avec un rendement de 76 % à partir de la de la 2,4-diméthoxybenzylamine **229** et du bromoacétate d'éthyle **230**.

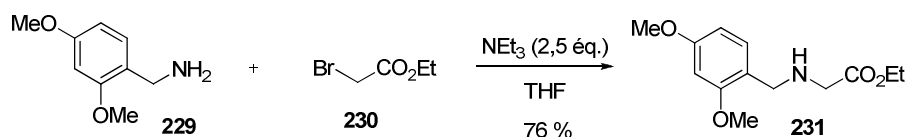
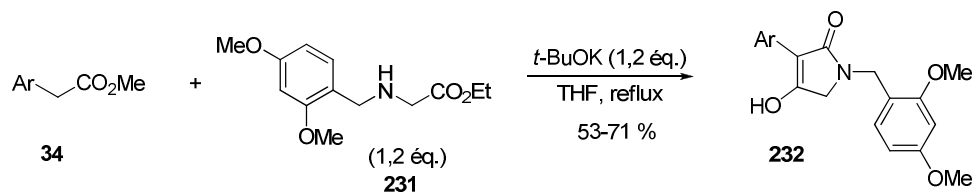


Schéma 88

Ensuite, l'amine **231** obtenue a été employée dans le processus tandem de formation d'acides tétramiques. Pour cela, **231** a été mis en réaction avec des arylacétates de méthyle **34** variés en présence de 1,2 équivalent de *tert*-butylate de potassium dans du THF à reflux pendant une nuit (Schéma 89).

¹³⁸ Kuang L., Zhou J., Chen S., Ding K. *Synthesis* **2007**, 3129-3134.

¹³⁹ Schlessinger R. H., Beberitz G. R. *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 1344-1346.



La réaction a tout d'abord été effectuée avec le phénylacétate de méthyle **34i** (Tableau 12, entrée 1). L'acide tétramique **232a** a été obtenu avec 63 % de rendement et a été caractérisé à l'aide de différentes techniques d'analyse. Il présente notamment, en RMN ^1H dans l'acétone- d_6 , des déplacements chimiques de 4,53 ppm pour les protons benzyliques et de 3,93 ppm pour les protons en position 5 du lactame. Des acides tétramiques **232** comportant divers groupements aromatiques en position 3, ont été ensuite préparés en utilisant la même méthode. Le meilleur rendement (71 %) a été obtenu avec le 4-fluorophénylacétate de méthyle **34f** (entrée 5). Des acides tétramiques possédant un groupement phényle substitué par un méthoxy ou un brome ont également été préparés, avec des rendements variant de 53 à 59 % (entrées 2 à 4). De plus, un dérivé comportant un groupement 2-thiényle a pu être obtenu avec un assez bon rendement (54 %, entrée 6).

entrée	Ar	ester 34	acide tétramique 232	rdt (%)
1	Ph	34i	232a	63
2	4-(MeO) C_6H_4	34a	232b	59
3	3-(MeO) C_6H_4	34b	232c	53
4	4-Br C_6H_4	34d	232d	55
5	4-FC C_6H_4	34f	232e	71
6	2-thiényle	34g	232f	54

Tableau 12

3. Déprotection des acides tétramiques

Après avoir réalisé la préparation de différents acides tétramiques *N*-2,4-diméthoxybenzylés, nous avons essayé de réaliser la déprotection de la fonction amide. Les conditions décrites par Pelkey¹³⁴ ont été alors employées pour réaliser cette réaction.

Les différents acides tétramiques *N*-2,4-diméthoxybenzylés **232** ont été quantitativement convertis en acides tétramiques **224** par agitation dans l'acide trifluoroacétique à t.a. pendant 1 h (Schéma 90). Cependant, dans le cas du composé **232f**, comportant un groupement thiényle, l'acide tétramique désiré n'a pas pu être isolé. À la place, un mélange complexe de produits a été obtenu.

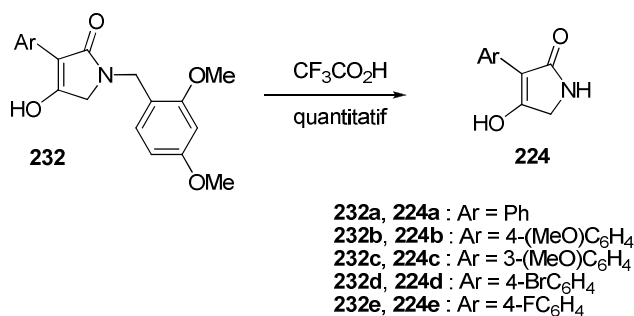


Schéma 90

Maintenant que la préparation d'acides 3-aryltétramiques a été mise au point, nous pouvons envisager de les utiliser pour préparer des dérivés azotés d'acides pulviniques.

4. Synthèse d'un acide tétramique bicyclique

D'autre part, nous avons synthétisé l'acide tétramique bicyclique **234** à partir du pipécolinate de méthyle **233** et du 4-méthoxyphénylacétate **34a** (Schéma 91). En présence de 1,2 équivalent de *tert*-butylate de potassium, dans le THF à reflux, l'acide tétramique **234** a été obtenu avec un rendement non optimisé de 37 %.

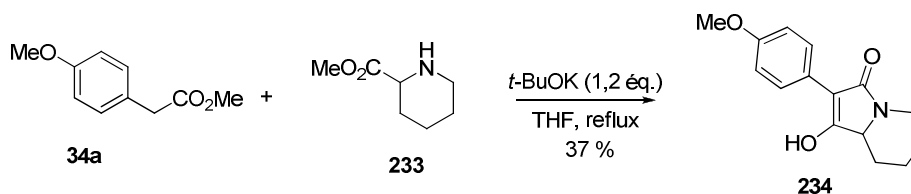


Schéma 91

III. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons montré que la synthèse d'acide 3-aryltétramique pouvait être réalisée à l'aide d'un processus tandem similaire à celui qui avait mis au point pour la synthèse d'acides tétramiques. En effet, la synthèse en une étape à partir d'arylacétates de méthyle variés et du 2-(2,4-diméthoxybenzylamino)acétate d'éthyle a permis d'obtenir les acides tétramiques *N*-2,4-diméthoxybenzylés correspondants. Ensuite, le clivage du groupement protecteur a été effectué avec de l'acide trifluoroacétique de manière quantitative.

Ces acides tétramiques ont été préparés dans le but de synthétiser des dérivés d'acides pulviniques azotés. Cependant, par manque de temps, la préparation de ces dérivés n'a pas pu être réalisée. Celle-ci sera effectuée prochainement par une condensation d'anions des dérivés d'acides 3-aryltétramiques sur des cétoesters (Figure 45).

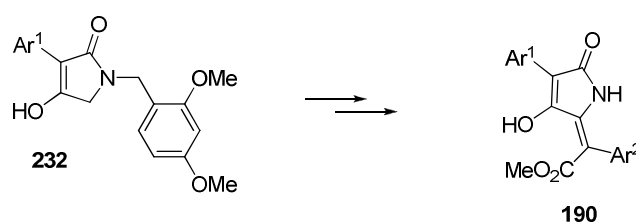


Figure 45

Chapitre 6 : Evaluation des propriétés antioxydantes et radioprotectrices

Les synthèses présentées dans les chapitres précédents nous ont permis d'obtenir de nombreux dérivés d'acides pulviniques. Les composés obtenus sont de différentes natures ; dérivés tétroniques comportant un motif α -hydroxyester, analogues pulviniques monosubstitués, pulvinate de méthyle et pulvinones. Cette diversité de structures nous a permis de réaliser une étude complémentaire de la relation structure-activité des dérivés pulviniques en tant qu'antioxydants, grâce aux évaluations que nous allons présenter dans ce chapitre. Par manque de temps, les pulvinones n'ont pas pu être testées jusqu'à présent. Cependant, des composés tels que des acides tétroniques et des acides tétramiques, issus d'autres travaux de recherche¹³⁶, ont été intégrés à cette étude.

Dans une première partie, différents tests *in vitro*, fréquemment utilisés pour l'évaluation des propriétés antioxydantes, seront brièvement présentés. Dans cette première partie, seuls des tests non utilisés au cours de nos travaux seront exposés.

Dans un second temps, l'évaluation de l'activité antioxydante de nos composés à l'aide de différentes méthodes (tests au DPPH et à l'ABTS, étude de la peroxydation lipidique et protection de la thymidine et de l'ADN) sera détaillée. Ces tests mettent en jeu des espèces radicalaires ainsi que des mécanismes variés. Toutes ces études antioxydantes sont complémentaires et nous ont permis d'effectuer une sélection des meilleurs composés.

Enfin, dans une dernière partie, nous exposerons les travaux sur l'étude des capacités de radioprotection des produits sélectionnés.

Dans ce chapitre, les résultats obtenus pour chaque test seront présentés séparément pour des raisons de clarté.

I. Tests d'activité antioxydante *in vitro*

De nombreuses méthodes permettant d'évaluer le pouvoir antioxydant d'aliments ou de molécules isolées ont été développées¹⁴⁰. Dans cette partie, les méthodes les plus employées seront présentées.

1. TRAP (Total Radical Trapping Antioxidant Parameter)

La méthode TRAP a été développée par Wayner¹⁴¹ en 1985 et est basée sur la mesure d'oxygène consommé lors d'une réaction de peroxydation lipidique. Cette réaction d'oxydation est induite par la décomposition thermique de l'AAPH (dichlorhydrate de 2,2'-azobis-2-méthyl-propanimidamide) qui permet de générer un radical peroxyyle **235** *in situ* (Schéma 92). Les résultats sont exprimés en μ moles de radicaux peroxyyles captés par litre de milieu étudié.

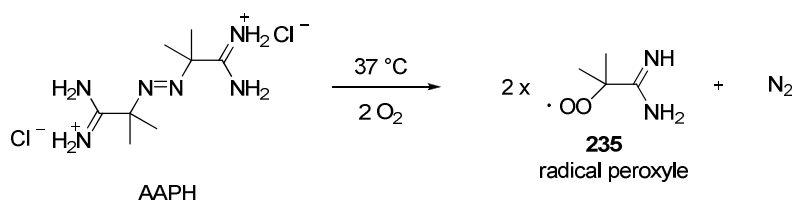


Schéma 92

Wayner suivait la consommation de l'oxygène à l'aide d'une électrode thermostatée à oxygène. Cependant, une électrode à oxygène n'est pas stable durant toute la période de mesure (environ 2 h par échantillon). Plus tard, la méthode TRAP a été modifiée pour utiliser l'accroissement de chimioluminescence induite par la réaction des radicaux peroxyyles avec du Luminol¹⁴². Cette modification a permis d'augmenter la précision de la méthode et a rendu possible l'automatisation des mesures.

2. ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

La méthode ORAC mesure la capacité d'un composé étudié à préserver une sonde de fluorescence de l'oxydation par un radical peroxyyle. Comme pour la méthode TRAP, le radical peroxyyle est formé à partir de l'AAPH. La réaction de ce radical avec la sonde de fluorescence s'accompagne d'une perte de la fluorescence. L'effet protecteur d'un

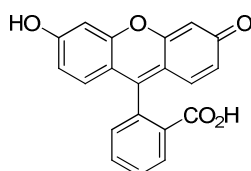
¹⁴⁰ Antolovich M., Prenzler P. D., Patsalides E., McDonald S., Robards K. *Analyst* **2002**, *127*, 183-198; Prior R. L., Wu X., Schaich K. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 4290-4302; Magalhães L. M., Segundo M. A., Reis S., Lima J. L. F. C. *Anal. Chim. Acta* **2008**, *613*, 1-19.

¹⁴¹ Wayner D. D. M., Burton G. W., Ingold K. U., Locke S. *FEBS Lett.* **1985**, *187*, 33-37.

¹⁴² Luukkainen R., Aejmelaeus R., Alho H., Metsä-Ketela T., Ikonen S. R., Salo M. K. *Free Rad. Res.* **1999**, *30*, 189-197.

antioxydant contre les radicaux peroxydes est ainsi déterminé par comparaison de la variation de fluorescence en présence ou non d'un composé potentiellement antioxydant.

Durant les premiers travaux, la B-phycoérythrine (B-PE) était utilisée comme sonde de fluorescence¹⁴³. Cependant, elle possédait trop de désavantages¹⁴⁴ et a été remplacée avec succès par la fluorescéine¹⁴⁵ et la dichlorofluorescéine¹⁴⁶.



fluorescéine

Figure 46

3. TOSC (Total Oxyradical Scavenging Capacity)

Cette méthode, développée par Winston¹⁴⁷, utilise la réaction d'oxydation de l'acide 2-céto-4-méthiobutyrique (KMBA) en éthylène par un radical peroxyde. Ce radical est formé à partir de l'AAPH, et la formation d'éthylène est mesurée par chromatographie gazeuse. Le pouvoir antioxydant d'un composé est évalué par sa capacité à inhiber la formation d'éthylène.



Schéma 93

4. FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

L'évaluation FRAP est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}) par un composé antioxydant¹⁴⁸. Pour cette méthode, l'ion ferrique est complexé à la 2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,2,5-triazine (TPTZ) et à la suite de la réduction du fer, le complexe

¹⁴³ Cao G. H., Alessio H. M., Cutler R. G. *Free Radical Biol. Med.* **1993**, 14, 303-311.

¹⁴⁴ Cao G., Prior R. L. *Methods Enzymol.* **1999**, 299, 50-62.

¹⁴⁵ Ou B., Hampsch-Woodill M., Prior R. L. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, 49, 4619-4626.

¹⁴⁶ Valkonen M., Kuusi T. *J. Lipid Res.* **1997**, 38, 823-833.

¹⁴⁷ Winston G. W., Regoli F., Dugas A. J. Jr., Fong J. H., Blanchard K. A. *Free Radical Biol. Med.* **1998**, 24, 480-493.

¹⁴⁸ Benzie I. F. F., Strain J. J. *Anal. Biochem.* **1996**, 239, 70-76.

devient coloré (Schéma 94). Le pouvoir antioxydant est déterminé par une simple mesure de l'absorbance à 595 nm.

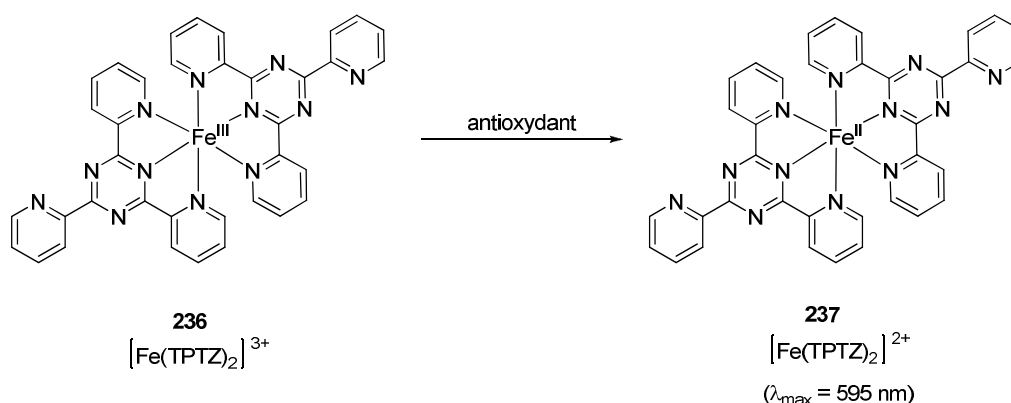


Schéma 94

Une variante de la méthode FRAP, utilisant le cuivre à la place du fer, a été récemment développée et est appelée CUPRAC¹⁴⁹.

5. Folin-Ciocalteu TPC (Total phenolic content)

Cette méthode, développée en 1927 par Folin et Ciocalteu¹⁵⁰, utilisait une réaction d'oxydation de phénols par un réactif au molybdène et au tungstène qui conduisait à la formation d'un produit coloré ($\lambda_{\text{max}} = 745\text{-}750 \text{ nm}$). Cette méthode est simple, sensible et précise. Cependant, la réaction est lente en milieu acide et dans ce cas la réaction de réduction est peu spécifique pour les fonctions phénols. Singleton¹⁵¹ a ensuite amélioré la méthode en utilisant un hétéropolyacide molybdophosphotungstique ($3\text{H}_2\text{O}\text{-P}_2\text{O}_5\text{-}13\text{WO}_3\text{-}5\text{MoO}_3\text{-}10\text{H}_2\text{O}$) qui réduit plus spécifiquement les phénols.

6. Test à l'acide thiobarbiturique (TBA)

Ce test est une des méthodes les plus utilisées pour mesurer la peroxydation lipidique¹⁵². L'acide thiobarbiturique (TBA) réagit avec le malonaldéhyde (MDA), sous-produit de la peroxydation lipidique, pour former un composé **238** coloré (Schéma 95). Le produit **238** formé absorbe autour de 532-535 nm. La mesure de l'absorbance permet donc de déterminer l'importance de la dégradation de lipides par des radicaux libres.

¹⁴⁹ Apak R., Güçlü K. G., Özyürek M., Karademir S. E. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 7970-7981.

¹⁵⁰ Folin O., Ciocalteu V. *J. Biol. Chem.* **1927**, 73, 627-650.

¹⁵¹ Singleton V. L., Rossi J. A. *Am. J. Enol. Vitic.* **1965**, 16, 144-158.

¹⁵² Du Z., Bramlage W. J. *J. Agric. Food. Chem.* **1992**, 40, 1566-1570.

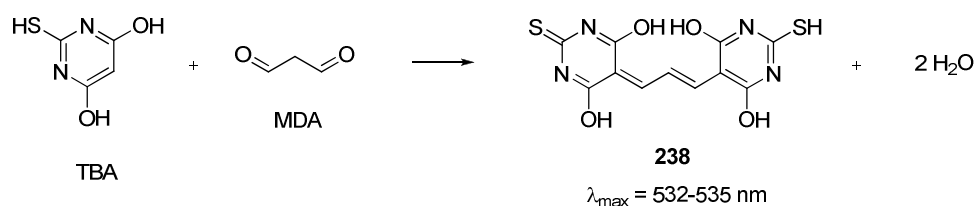


Schéma 95

C'est une méthode simple et rapide, mais elle ne permet la mesure que d'un seul des produits issus de la dégradation des lipides. De plus, la production d'autres produits colorés, dans les conditions du test, peut interférer sur la mesure de l'absorbance.

7. Spectrométrie RPE (résonance paramagnétique électronique)

La spectrométrie de résonance paramagnétique électronique (RPE) est la seule technique d'analyse qui permet de détecter spécifiquement les radicaux libres. Cependant, la RPE n'est pas assez sensible pour détecter les radicaux très réactifs, à durée de vie très courte, comme le radical hydroxyle (10^{-9} s). Pour contourner le problème, des piègeurs de spin qui réagissent avec les radicaux libres pour former des radicaux à durée de vie plus longue, sont ajoutés et permettent une détection sans problème par RPE. Les piègeurs de spin sont généralement des radicaux nitroxydes ou des nitrones qui sont habituellement utilisés dans des systèmes biologiques. La RPE mesure donc la capacité d'un composé antioxydant à capter les radicaux par rapport à la molécule utilisée en tant que piègeur de spin.

8. Test 3D¹⁵³

Le test 3D (Damaged DNA Detection) permet la détection des dégradations de l'ADN soumis à un stress oxydant. L'ADN de plasmide, absorbé sur un support, est dégradé à l'aide d'un stress oxydant (Figure 47). L'ADN endommagé est alors incubé avec des extraits cellulaires contenant des protéines induisant les réparations de l'ADN, notamment la DIG-11dUTP. Ces protéines se lient spécifiquement à des sites de dégradation. Un anticorps anti-DIG comportant une phosphatase alcaline, est ensuite ajouté et reconnaît spécifiquement les protéines DIG-11dUTP liées à l'ADN. La quantification du nombre d'anticorps liés est effectuée par ajout de Lumi-Phos 530. Ce réactif est déphosphorylé par action des phosphatases alcalines, ce qui provoque la formation d'un produit bleu qui émet à 530 nm.

¹⁵³ Salles B., Provost C., Calsou P., Hennebelle I., Gosset I., Fournié G. *J. Anal. Biochem.* **1995**, 232, 37-42; Saint-Cricq de Gaulejac N., Provost C., Vivas N. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, 47, 425-431.

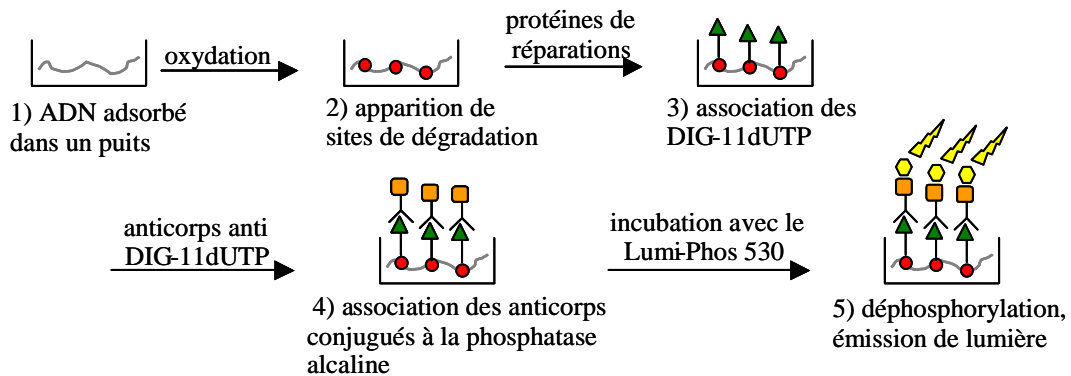
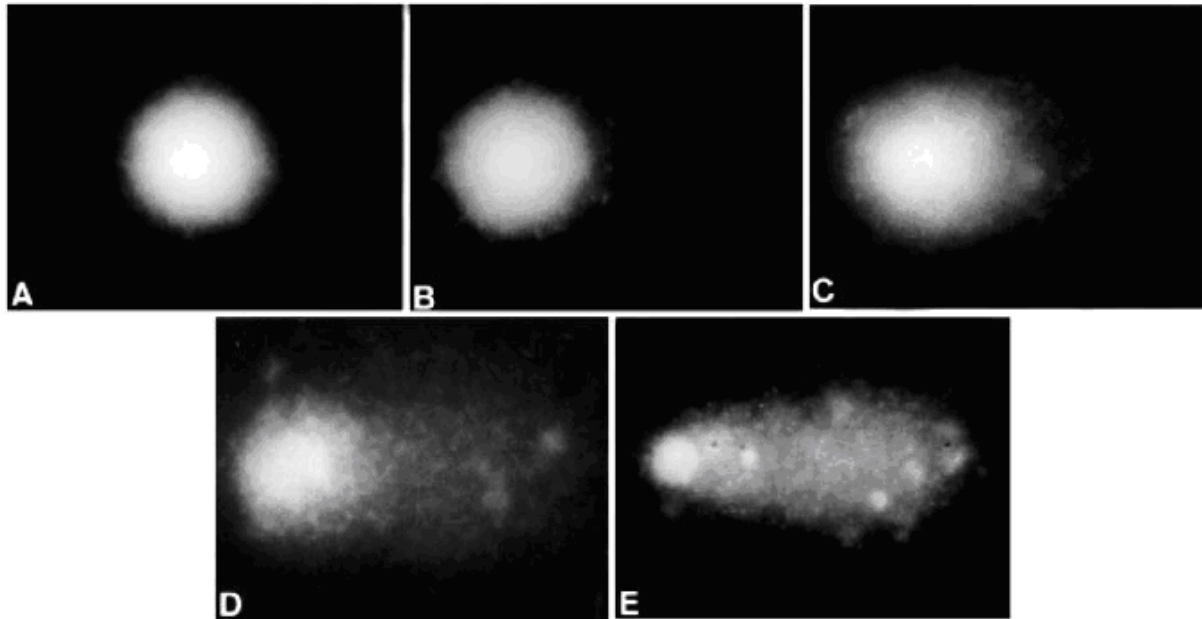


Figure 47

Cette technique permet donc de mesurer les dommages causés sur l'ADN par un stress oxydant en présence ou non d'un antioxydant. Cependant, tous les sites de dégradation ne sont pas reconnus par la protéine DIG-11-dUTP, ce test ne prend donc pas en compte l'ensemble des dommages subis par l'ADN.

9. Test Comète

Ce test permet également de détecter la dégradation de l'ADN, mais cette fois-ci directement dans une cellule. Des lymphocytes humains, préalablement incubés avec un antioxydant, sont soumis à un stress oxydant puis déposés sur un gel d'agarose. Les cellules sont ensuite soumises à une lyse alcaline pour éliminer les protéines cellulaires, puis une migration est effectuée par électrophorèse. Les fragments d'ADN endommagé migrent plus rapidement que l'ADN superenroulé. Après la migration, une analyse par microscopie à fluorescence révèle des taches d'ADN ressemblant à des comètes (Figure 48). Elles possèdent une tête brillante correspondant à l'ADN intact et une queue dont la longueur et l'intensité sont directement liées au taux de dégradation de l'ADN. Suivant les caractéristiques des queues des comètes, une valeur de 0 (non dégradée) à 4 (dommage maximum) est attribuée à chacune d'entre elles, puis la somme des valeurs attribuées à chaque comète permet de définir le niveau global de protection.



A : classe 0 (non dégradé); B : classe 1; C : classe 2; D : classe 3 ; E : classe 4 (dommage maximum)

Figure 48

Ce test est simple, sensible, rapide et économique. De plus, il est particulièrement intéressant puisqu'il permet d'étudier une cible essentielle, l'ADN, dans un milieu biologique complexe.

10. Test de protection de l'ADN

Pour ce test, les expériences sont menées sur un plasmide bactérien (ADN double brin) superenroulé. Ce plasmide est soumis à un stress oxydant, dans notre cas une irradiation γ (source ^{137}Cs), en présence d'un composé potentiellement antioxydant. La dégradation de cet ADN conduit généralement à deux formes : un ADN circulaire provenant d'une rupture simple brin et un ADN linéaire provenant d'une rupture double brin (Figure 49).

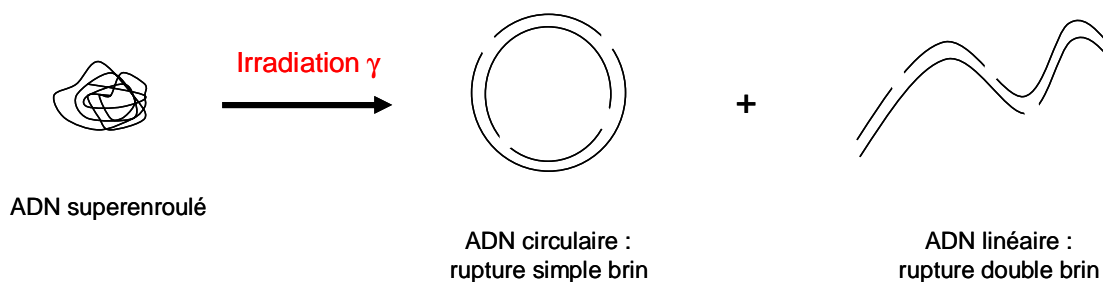


Figure 49

Ces différentes formes de l'ADN peuvent être ensuite séparées par électrophorèse sur gel d'agarose (Figure 50). En effet, le plasmide superenroulé intact migre le plus vite à travers le gel d'agarose, car il est plus compact que les autres formes. L'ADN circulaire se trouve sous

la configuration la plus volumineuse, il migre donc le moins vite. Enfin, l'ADN linéaire migre entre les deux espèces précédentes.

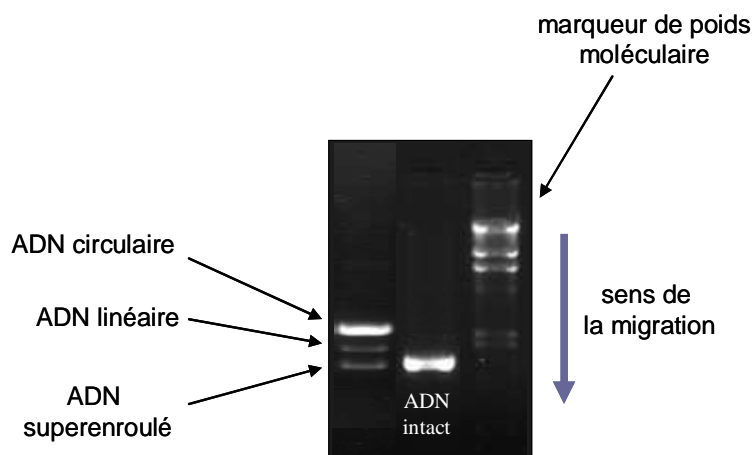


Figure 50

La protection de l'ADN par un composé est déterminée par mesure et comparaison de l'intensité lumineuse de la bande d'ADN superenroulé avec un témoin.

Une mise au point de ce test est en cours au laboratoire. Le plasmide que nous utilisons dans notre étude est le pUC18 qui comporte 2686 paires de bases. Ce plasmide a été préparé et purifié à partir de bactéries *Escherichia coli* par le Dr Didier Boquet (CEA/SPI). Cette évaluation sera appliquée prochainement aux composés synthétisés.

II. Evaluations antioxydantes réalisées

La plupart des tests antioxydants consistent à étudier la disparition ou la formation d'un produit spécifique dans un milieu soumis à un stress oxydant. Cependant, chaque test permet d'étudier l'inhibition d'une seule espèce oxydante ou bien la protection d'une seule cible à la fois. Ainsi, l'évaluation de l'activité antioxydante par une technique donnée ne fournit que des informations partielles sur l'activité des composés. Il est donc nécessaire de réaliser différents tests antioxydants afin de percevoir la capacité réelle de protection d'un composé dans un milieu biologique complexe.

Pour les composés synthétisés, nous avons donc réalisé quatre tests différents avec des cibles et des espèces oxydantes variées. Pour chaque méthode utilisée, le principe du test sera indiqué avant de détailler et de discuter des résultats obtenus.

Remarque : dans cette partie, les dérivés tétroniques substitués par un motif hydroxyester **110** seront appelés « α -hydroxyesters » et les dérivés **117** seront appelés « dérivés pulviniques monosubstitués » pour des raisons de commodité.

1. Test par capture du radical DPPH¹⁵⁴

1.1. Principe

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) est un radical azoté stable disponible commercialement sous la forme d'un solide. Lorsqu'il est mis en solution dans l'éthanol, le radical DPPH est caractérisé par son spectre UV avec un maximum d'absorbance à 515 nm. Le DPPH réagit avec un antioxydant par arrachement d'un hydrogène, il se forme alors la 2,2-diphénylhydrazine DPPH₂ (Schéma 96). Ce produit de la réaction ne possède plus de bande d'absorption autour de 515 nm. Ce test consiste donc à suivre la variation de l'absorbance à 515 nm, caractéristique du radical DPPH, en présence du composé étudié.

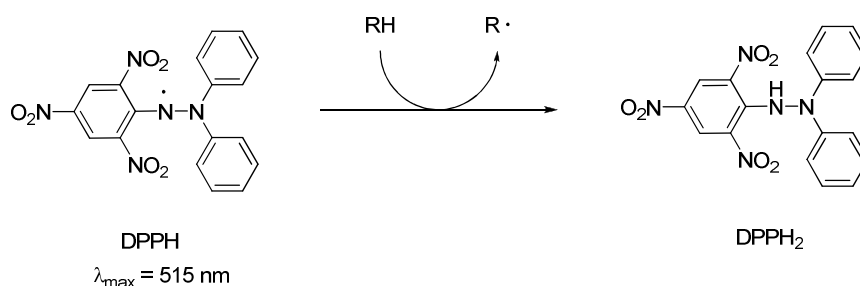


Schéma 96

¹⁵⁴ Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* **1995**, 28, 25-30.

Ce test est simple et rapide à mettre en œuvre et peut être adapté à des évaluations à haut débit. Pour chaque composé, une gamme de concentrations a été préparée dans l'éthanol (concentration C1 à C10), puis une solution de DPPH est ajoutée. La variation de l'absorbance à 515 nm est alors mesurée immédiatement, puis toutes les 5 min durant une heure. L'ensemble des mesures permet de tracer pour chaque concentration une courbe du suivi cinétique de la réaction (Figure 51, A). À partir de ce graphique, le pourcentage de DPPH restant est relevé pour chaque concentration lorsqu'un plateau est atteint. Cela signifie que la mesure du pouvoir antioxydant n'est possible que pour des cinétiques de réaction permettant d'atteindre un plateau avant une heure. Les valeurs obtenues sont ensuite reportées sur un autre graphique représentant le pourcentage de DPPH restant en fonction du rapport des concentrations finales $[\text{antioxydant}]_f / [\text{DPPH}]_f$ (Figure 51, B). Cela permet de déterminer l' EC_{50} de l'antioxydant, qui est la concentration d'antioxydant nécessaire pour diminuer de 50 % la concentration de DPPH.

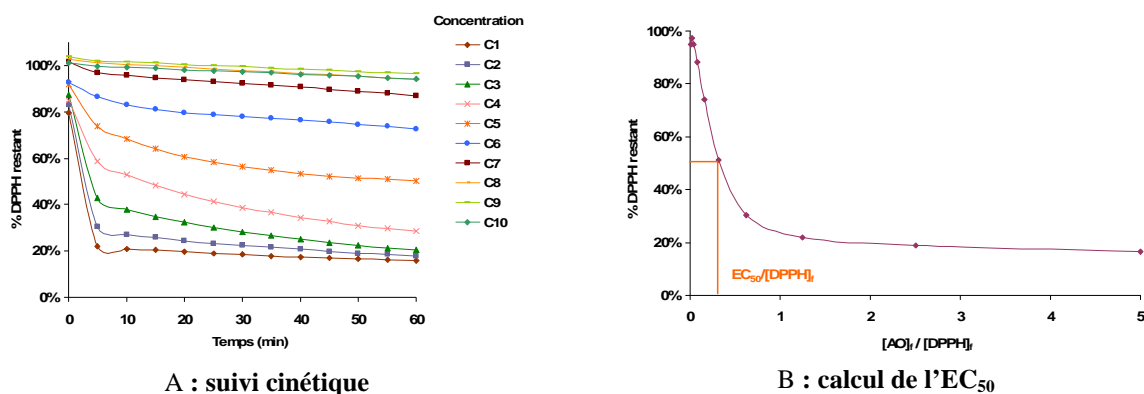


Figure 51

Cependant, nous avons préféré remplacer l' EC_{50} par le rapport $EC_{50} / [\text{DPPH}]_f$ ce qui permet de s'affranchir de la concentration de DPPH utilisée. Mais pour des raisons de clarté, nous utiliserons le pouvoir antiradicalaire (ARP) qui est l'inverse du rapport précédent. Dans ce cas, plus la valeur de l'ARP est grande et plus le composé testé est un bon antioxydant.

1.2. Résultats

Le test par capture du radical DPPH a été réalisé systématiquement au moins deux fois pour chaque composé. L'ensemble des résultats obtenus nous a permis de déterminer quelques indications sur la relation structure-activité de nos composés pour ce test.

Dans un premier temps, l'évaluation de composés antioxydants connus a été réalisée (Figure 52). L'acide gallique a donné le meilleur résultat de cette série avec un ARP de 12,39. Cette valeur est en accord avec les données trouvées dans la littérature¹⁵⁴. Ensuite, la quercétine a montré également une bonne activité antioxydante avec un ARP de 7,72. Enfin, l'acide ascorbique, le trolox, la (+)-rutine et la curcumine ont donné des valeurs d'ARP comparables, autour de 4.

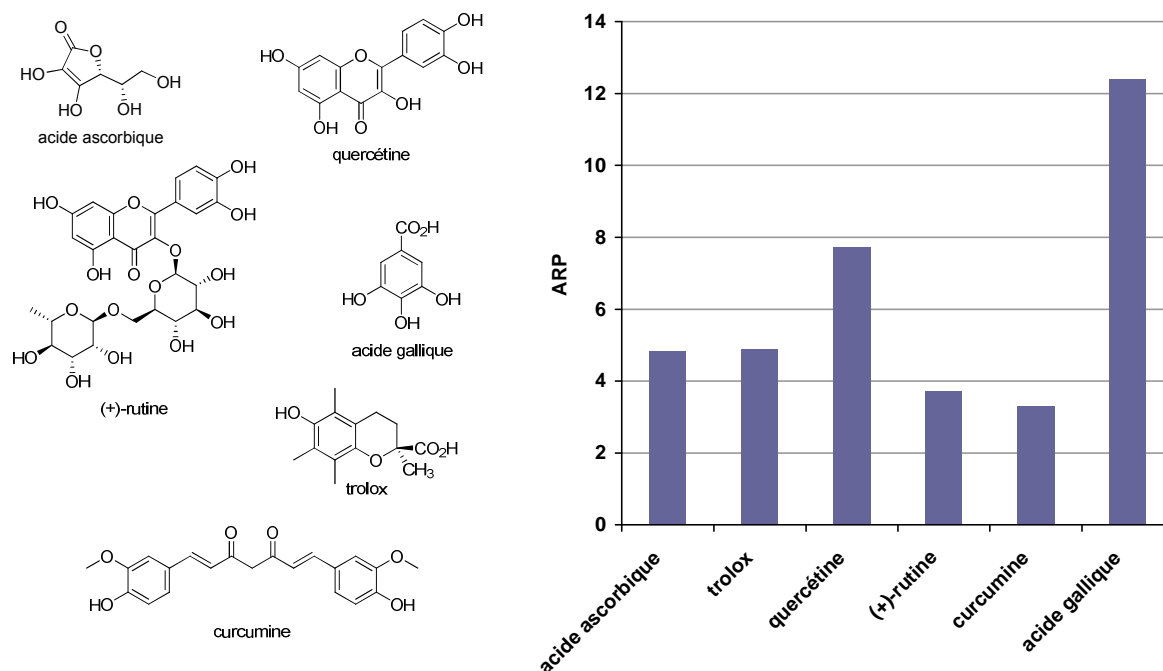


Figure 52

Les premiers composés synthétisés évalués à l'aide du test au radical DPPH ont été les α -hydroxyesters **110a-n** et les dérivés pulviniques monosubstitués **117a-i**. Dans la Figure 53 sont indiqués les résultats obtenus pour les composés de ces deux familles. Les α -hydroxyesters comportant un groupement aromatique en position 3 ont des activités généralement supérieures ou égales à celles de leurs analogues déshydratés. Pour les dérivés possédant un 4-méthoxyphényle, un phényle ou un 4-hydroxyphényle, la différence d'activité entre les deux analogues est peu marquée. Par contre, cette différence est beaucoup plus évidente dans le cas des dérivés comportant un groupement 4-tolyle, 4-bromophényle, 4-fluorophényle et 2-thiényle. Il est à noter que l' α -hydroxyester **110e** comportant un 4-fluorophényle est le plus actif de cette série, avec un ARP comparable à celui de l'acide ascorbique. De plus, les dérivés **110j** et **117i** comportant un ester en position 3 n'ont donné que de faibles activités, tout comme le dérivé monosubstitué 4-bromophényle **117d**. Enfin, les composés comportant le groupement 4-nitrophényle, qui ne sont pas présentés sur le diagramme, n'ont pas du tout été actifs dans les conditions du test.

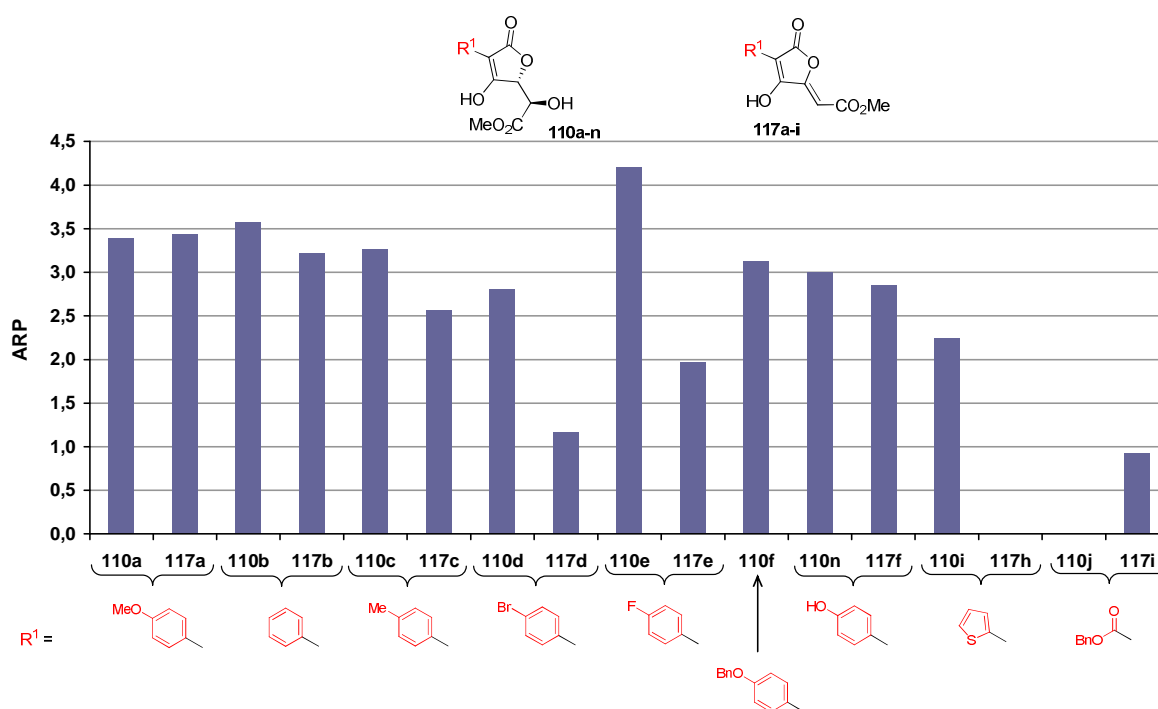


Figure 53

Les pulvinate de méthyle **122a-i** ont été ensuite évalués par ce test de capture du radical DPPH. Dans cette série, nous avons inclus le dérivé monosubstitué **117a** possédant le groupement 4-méthoxyphényle en position 3 et également le dérivé iodé **120**. On peut

remarquer que tous les composés de cette série possèdent des activités comparables, avec un ARP variant entre 3 et 4. Il semble donc que la nature du groupement R^2 influence peu l'activité des dérivés pulviniques. Seul le dérivé **122d** comportant un groupement 3-(trifluorométhyl)phényle sur la double liaison exocyclique a montré une activité légèrement supérieure aux autres dérivés de cette série, mais la différence reste minime.

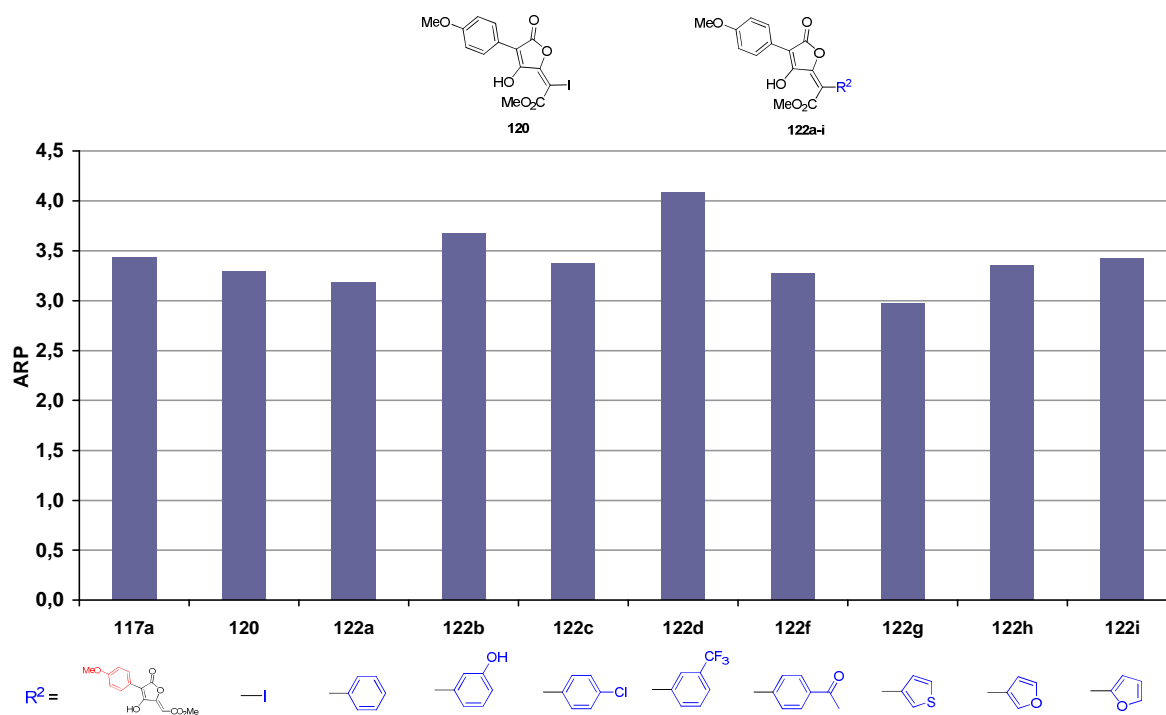


Figure 54

Enfin, la dernière série de dérivés évaluée était composée d'acides tétroniques et d'acides tétramiques (Figure 55). Dans ce test, l'acide 3-(4-méthoxyphényl)tétronique **217a** a donné une activité légèrement inférieure à celles obtenues avec les analogues α -hydroxyester **110a** et dérivé monosubstitué **117a**, qui comportent également un substituant 4-méthoxyphényle. Quant aux acides tétramiques **224b** (non substitué sur l'azote), **226a** (*N*-méthylé) et **228a** (*N*-benzylé), ils ont montré un ARP plus faible que l'acide tétronique correspondant **217a**. Par contre, d'autres acides tétroniques possédant un groupement aromatique en position 3 tels que le phényle, le 4-hydroxyphényle et le 2-thiényle ont conduit à des activités antioxydantes très intéressantes, comparables à celle de l'acide ascorbique.

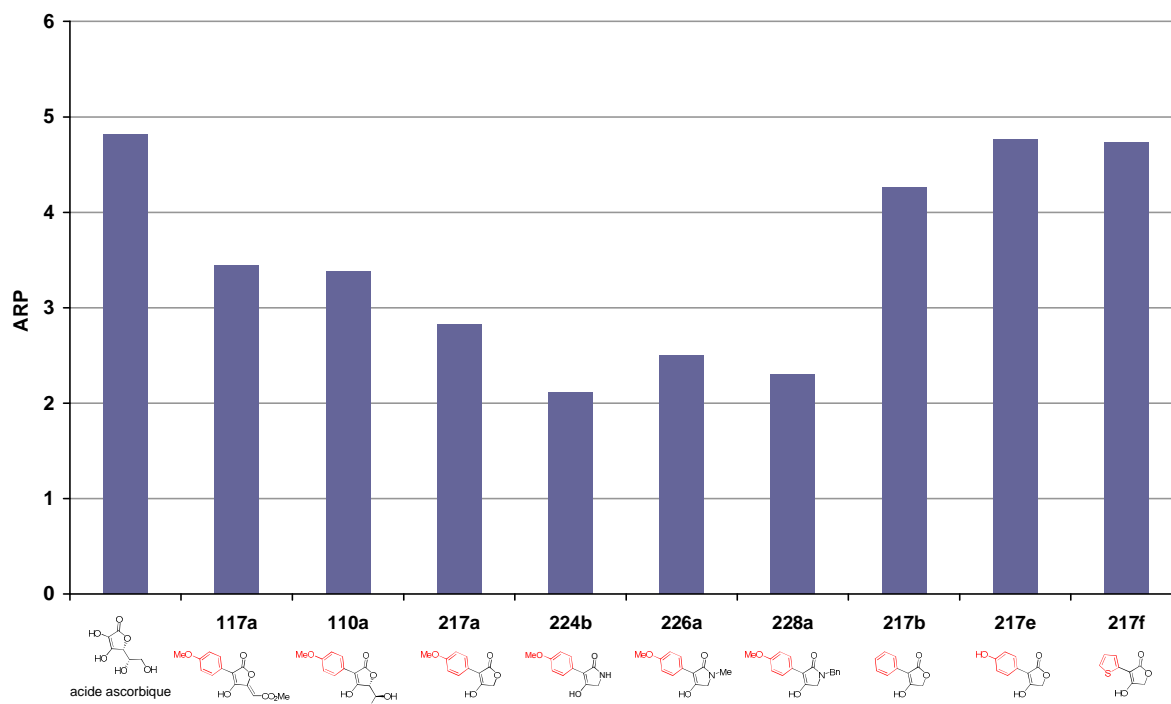


Figure 55

1.3. Conclusion

Les résultats obtenus dans l'étude de la capture du radical DPPH ont montré des différences d'activité entre les composés. Les dérivés les plus simples, tels que les α -hydroxyesters et les acides tétroniques, ont donné dans certains cas de très bonnes activités, comparables à celle de l'acide ascorbique. Cette observation est tout à fait intéressante puisque si ces résultats se confirmaient par d'autres tests, ces dérivés pourraient être de très bons candidats en tant que radioprotecteurs car ils sont beaucoup plus faciles d'accès que les acides pulviniques.

On peut également noter que dans la série des pulvinate de méthyle, le groupement R^2 n'a pas d'influence, dans ce test, sur l'activité antioxydante. Enfin, la substitution en position 3 par une fonction carbonylée fait diminuer le pouvoir antioxydant des dérivés. Il semblerait donc qu'une fonction carbonylée (acétyle ou ester) stabiliserait moins bien le radical formé au niveau de l'énol. Ce résultat reste tout de même à confirmer par d'autres évaluations.

2. Test de protection de la thymidine

Ces expériences ont été menées avec la collaboration de Stéphane Meunier et Antoine Le Roux (Université de Strasbourg), de Marie-Claire Nevers (CEA/SPI) et de Serge Pin et Jean-Philippe Renault (CEA/SIS2M).

2.1. Principe⁸⁵

Ce test s'appuie sur l'étude de la protection d'une cible biologique, la thymidine, un des quatre nucléotides de l'ADN, soumise à un stress oxydant : irradiation γ (source ^{137}Cs), irradiation UV à 254 nm en présence de peroxyde d'hydrogène et stress de type Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$).

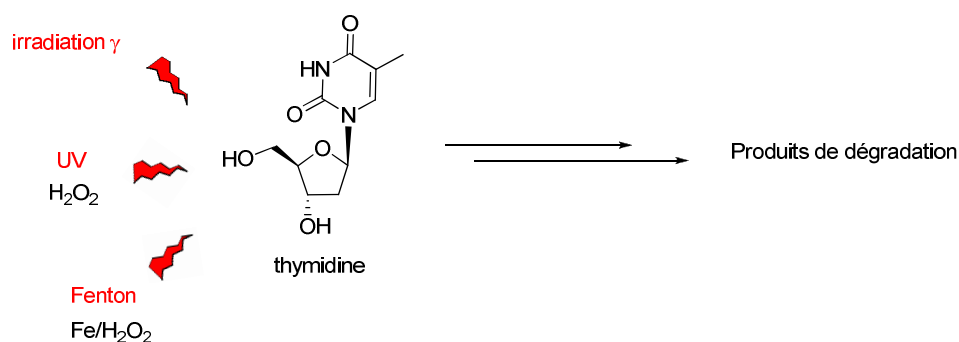


Figure 56

Une cible biologique soumise à un stress oxydant conduit à un mélange très complexe de composés. Il est donc indispensable de suivre uniquement la variation de la quantité de la cible biologique intacte ce qui permet de s'affranchir de la multitude de produits de dégradation présents. Les techniques d'immunoanalyse sont tout à fait adaptées pour réaliser la quantification d'un seul produit dans un milieu complexe. Ce test repose donc sur un dosage immunoenzymatique par compétition. Il est réalisé dans des plaques 96 puits et permet l'évaluation simultanée de nombreux composés.

Le dosage par compétition a pour but de déterminer la concentration en antigène (Ag), ici la thymidine, dans un milieu complexe, grâce à l'utilisation d'un anticorps (Ac) et d'un antigène traceur (Ag^*) dont on peut mesurer la concentration. Les anticorps sont des acteurs essentiels du système immunitaire, ils permettent la détection de substances étrangères ayant pénétré

dans l'organisme, première étape dans le processus conduisant à leur élimination. Pour ce test, un anticorps monoclonal capable de reconnaître la thymidine a été produit en utilisant le système immunitaire de la souris.

Pour comprendre le principe du dosage par compétition, prenons un mélange Ag/Ag*/Ac. Si la concentration en anticorps Ac est inférieure à la concentration totale en antigène (Ag et Ag*), il y aura alors compétition pour les sites de liaison de l'anticorps, avec formation simultanée des complexes anticorps-antigène (Ac-Ag) et anticorps-antigène traceur (Ac-Ag*) selon les deux réactions équilibrées suivantes :

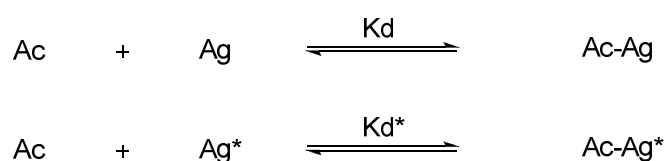


Schéma 97

Les concentrations initiales en anticorps (Ac) et en antigène traceur (Ag*) sont fixées. L'augmentation de la concentration en antigène (Ag) entraîne donc l'augmentation de la concentration en complexe (Ac-Ag), au détriment du complexe (Ac-Ag*). De ce fait, la concentration [Ac-Ag*] est inversement proportionnelle à la concentration [Ag] dans le milieu.

La concentration [Ac-Ag*] est déterminée par une réaction enzymatique. L'antigène traceur Ag* est un analogue de la thymidine comportant une enzyme, l'acétylcholinestérase ou AChE. Cette enzyme fixée est détectée par la méthode colorimétrique d'Ellman (Schéma 98)¹⁵⁵, utilisant un mélange d'acétylthiocholine et d'acide 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoïque), ou DTNB. L'hydrolyse de l'acétylthiocholine **239**, catalysée par l'AChE, conduit à la thiocholine **240**, qui réagit avec le DTNB pour former un thiol aromatique **241**. Ce dernier est un chromophore qui absorbe dans le visible ($\lambda_{\text{max}} = 414 \text{ nm}$, $\epsilon_M = 13600 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$), produisant une couleur jaune. La concentration [Ac-Ag*] peut être ensuite déterminée par une mesure de l'absorbance.

¹⁵⁵ Ellman G. L., Courtney K. D., Andres V., Featherstone R. M. *Biochem. Pharmacol.* **1961**, 7, 88-95.

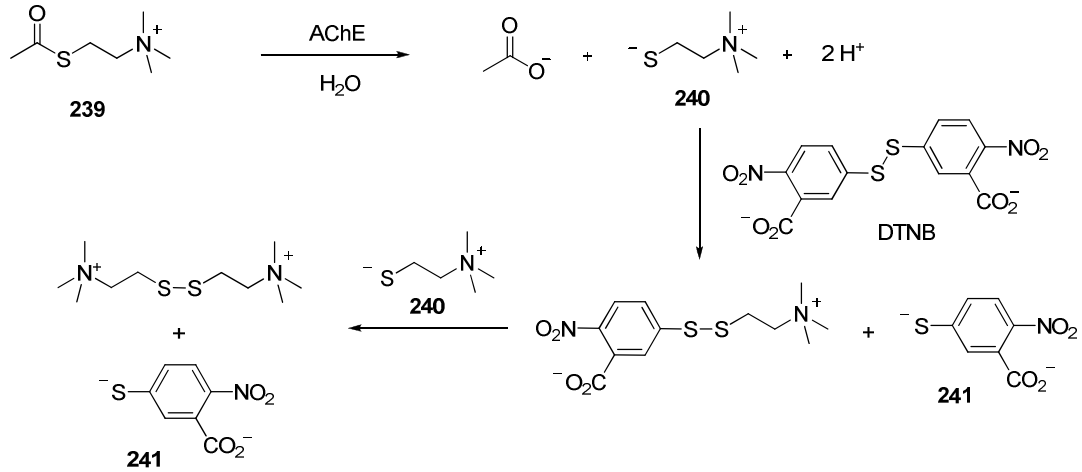


Schéma 98

Le test est réalisé en deux étapes successives, effectuées dans deux plaques différentes (Figure 57). Dans un premier temps, une solution de thymidine (Ag) et une solution de l'agent protecteur à étudier sont introduites dans les puits de la plaque I. Ensuite, le mélange est soumis à un stress oxydant. Au cours de cette étape d'oxydation, la thymidine va être plus ou moins dégradée suivant la capacité de protection du composé introduit.

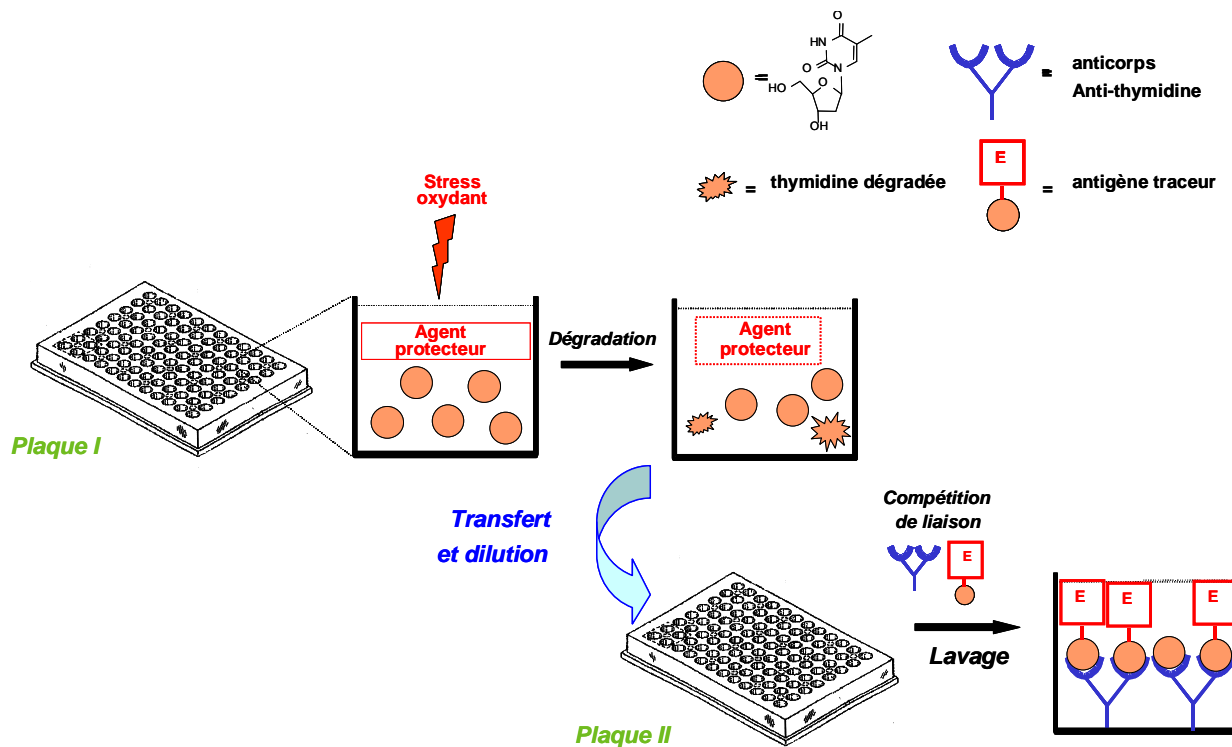


Figure 57

Ensuite, une quantité bien définie de solution de chaque puits de la plaque I est transférée dans la plaque II. Cette plaque a été recouverte au préalable d'anticorps de chèvre capables de reconnaître les immunoglobulines de souris. Dans les puits de la plaque II sont ajoutés l'anticorps (Ac) et l'antigène traceur (Ag*). L'anticorps de souris (Ac) va alors se fixer sur la phase solide et la compétition vis-à-vis des sites de liaison de Ac s'établit entre Ag (la thymidine intacte) et Ag*. Au bout de deux heures à température ambiante, l'équilibre est atteint et une phase de lavage permet d'éliminer toutes les espèces non fixées sur la phase solide. Enfin, le réactif d'Ellman est ajouté pour réaliser la réaction enzymatique et permettre de mesurer la concentration [Ac-Ag*] et ainsi déterminer la quantité de thymidine intacte. Les résultats sont exprimés en pourcentage de protection de la thymidine et ils sont calculés selon la formule suivante :

$$\% \text{ de protection} = \frac{[Thy]_{antiox} - [Thy]_{ox}}{[Thy]_{ini} - [Thy]_{ox}} \times 100$$

Avec : $[Thy]_{ini}$ = concentration initiale en thymidine

$[Thy]_{ox}$ = concentration en thymidine mesurée en l'absence d'agent de protection

$[Thy]_{antiox}$ = concentration de thymidine mesurée en présence de l'agent de protection

En comparant, les valeurs de protection obtenues pour chaque composé testé dans les mêmes conditions expérimentales, il est donc possible de comparer les composés suivant leur pouvoir de protection de la thymidine.

2.2. Résultats

Le test de protection de la thymidine a été tout d'abord réalisé avec un stress oxydant par irradiation γ (source de césium 137). En pratique, une solution de thymidine (concentration : 15 μM) et d'antioxydant (concentration : 50 μM) dans du tampon phosphate à 25 mM (pH 7,4) est irradiée. Cependant, toutes les manipulations n'ont pas pu être réalisées avec le même irradiateur ; la plupart des irradiations ont été effectuées en utilisant l'IBL-637 (Institut Curie d'Orsay) avec une dose de 340 Gy, certaines ont été réalisées avec un nouvel appareil le GammaCell 3000 Elan (CEA/SIS2M) avec une dose de 180 Gy. Les pourcentages de protection de la thymidine dans les deux types d'irradiateurs ne sont pas comparables directement. Seuls les tests réalisés dans les mêmes conditions seront comparés entre eux.

Les résultats obtenus avec des antioxydants connus sont représentés sur la Figure 58. La norbadione A a donné la meilleure protection de la thymidine, ce qui est en accord avec les résultats antérieurs. La quercétine, la rutine et la curcumine ont conduit à des protections comparables mais un peu moins importantes que la norbadione A. Par contre, le trolox et l'acide gallique ont fourni des résultats plus faibles et l'acide ascorbique n'a quasiment pas protégé la thymidine. Mais cette observation avait déjà été faite lors de tests précédents.

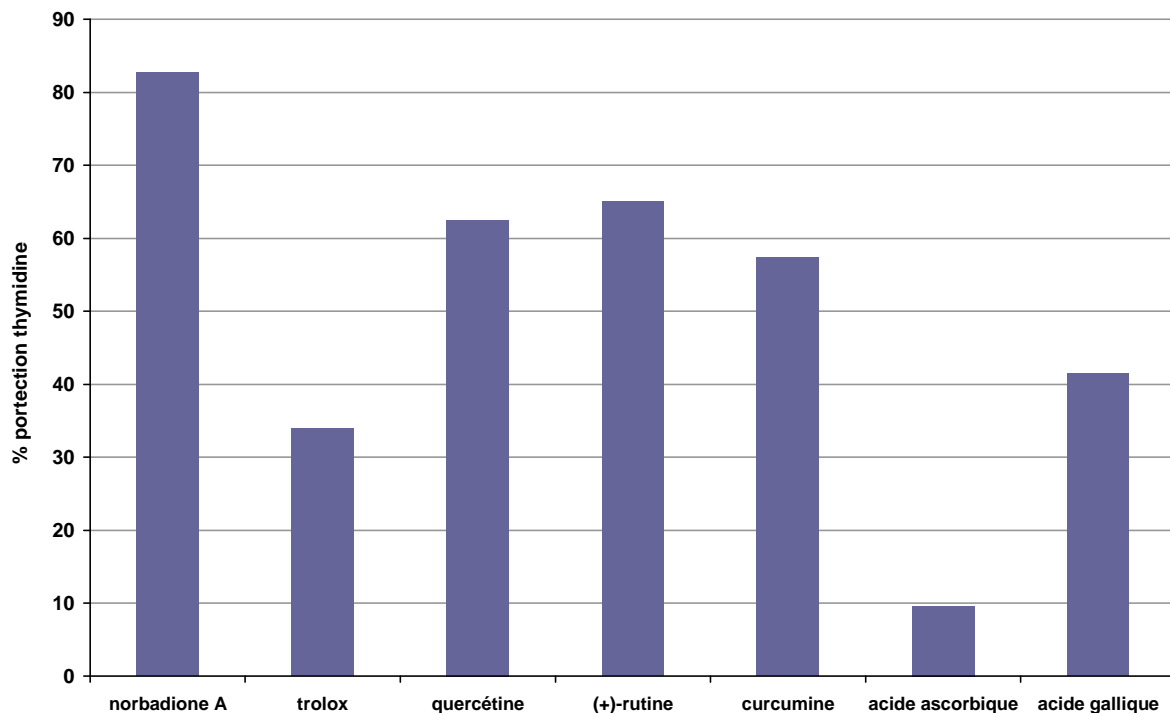


Figure 58

Dans la Figure 59, nous retrouvons les résultats obtenus avec les composés de la famille des α -hydroxyesters **110a-n** et des dérivés pulviniques monosubstitués **117a-i**. Tout comme pour le test de capture du radical DPPH, les dérivés α -hydroxyesters donnent en général de meilleurs résultats que leurs analogues déshydratés sauf dans le cas des composés comportant un phényle et un 2-thiényle en position 3. Les meilleures protections ont été obtenues avec les dérivés **110a** et **117a** possédant un groupement 4-méthoxyphényle et ces résultats sont d'ailleurs comparables à celui obtenu avec la norbadione A. En règle générale, les autres composés aromatiques ont fourni des protections un peu plus faibles. Le dérivé α -hydroxyester **110j** comportant un ester benzylique possède dans ce test une efficacité comparable aux composés aromatiques alors que son analogue monosubstitué **117i** a montré une faible activité, tout comme le dérivé acétylé **110m**.

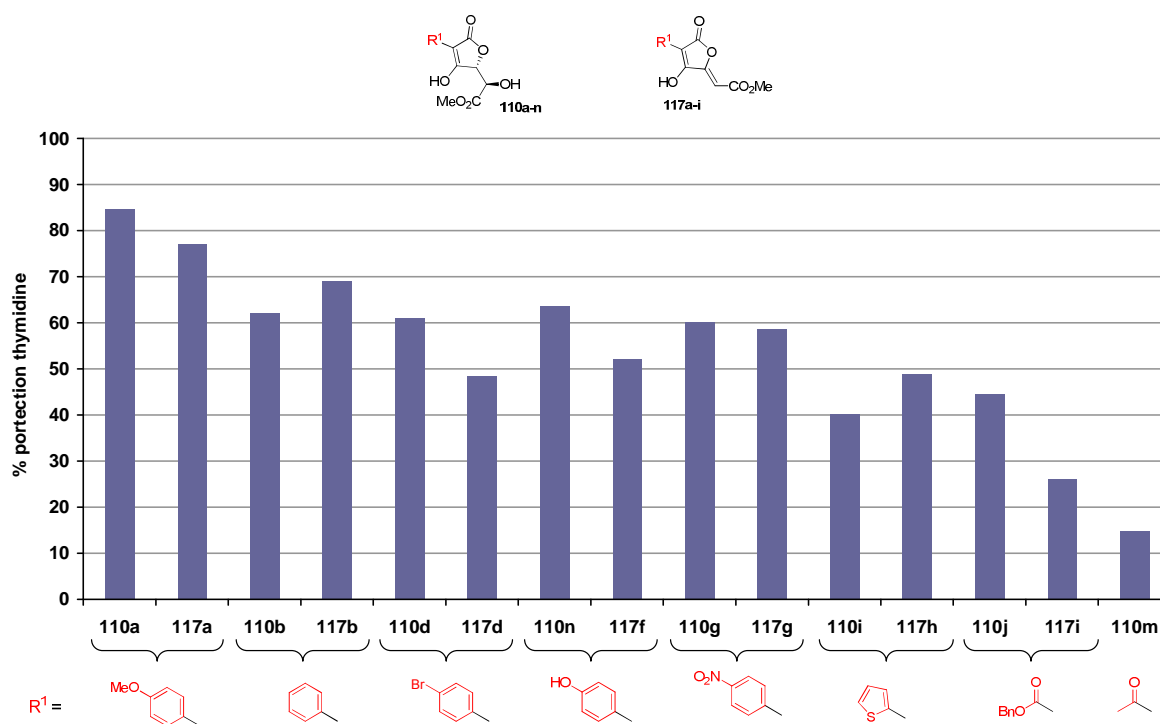


Figure 59

Les pulvinate de méthyle **122a-i** ont également été évalués à l'aide du test de protection de la thymidine. Les résultats présentés ont été obtenus sur le nouvel irradiateur, et dans ces conditions les pourcentages de protection étaient généralement plus faibles. Par exemple, la norbadione A a conduit à une protection de la thymidine de 50 %. Nous pouvons remarquer,

dans la Figure 60, que pour tous les groupements présents sur la double liaison exocyclique des dérivés, la protection de la thymidine reste quasi identique. Cela signifie que, comme pour le test au DPPH, le groupement R^2 présent à peu d'influence sur l'activité antioxydante des dérivés pulviniques.

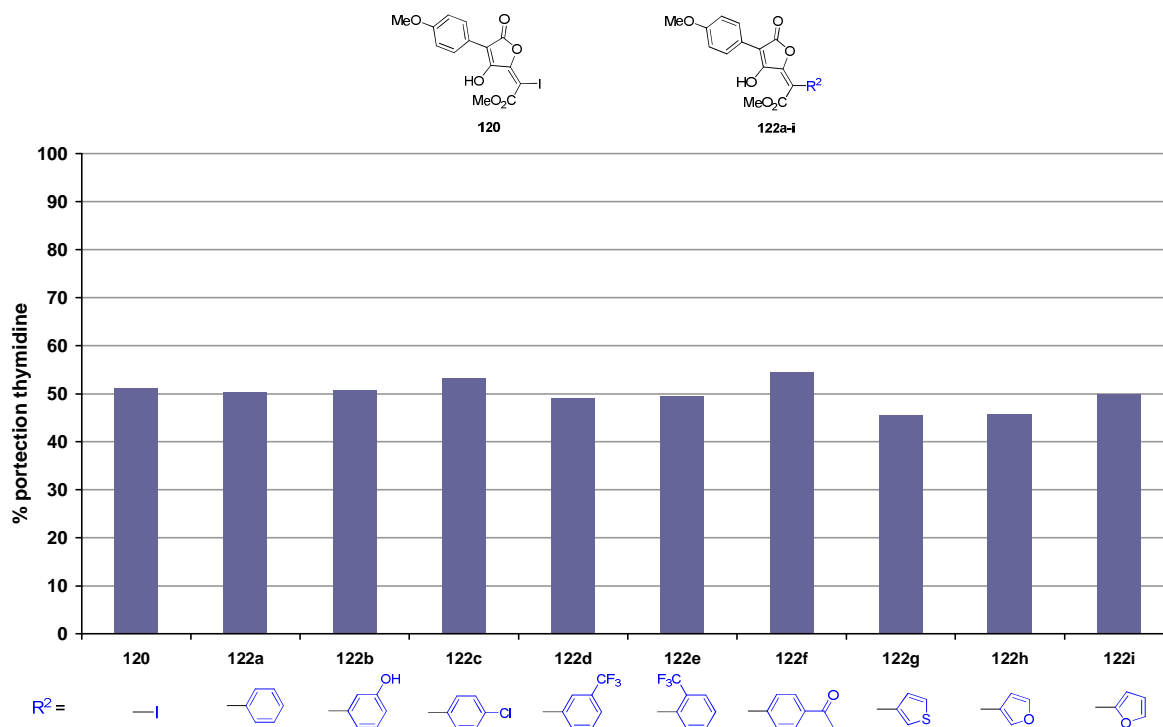


Figure 60

Dans une dernière série, présentée dans la Figure 61, les composés évalués sont les diacides tétroniques **115a-c** et des dérivés tétroniques. Le diacide tétronique **115a** comportant deux groupements 4-nitrophényles a donné la meilleure protection de la thymidine, qui est identique à celle de la norbadione A. Le diacide **115b** substitué par des esters benzyliques a montré une activité un peu plus faible, comparable à celle obtenue pour les dérivés tétroniques de cette série. Et le dernier diacide diacétylé **115c** s'est révélé peu efficace en tant qu'agent de protection de la thymidine. En ce qui concerne les dérivés tétroniques, les protections obtenues sont légèrement plus faibles qu'en présence de la norbadione A. De plus, peu de différences d'activité sont observables entre les différents acides testés, et même l'acide tétramique **224b** a donné une activité comparable.

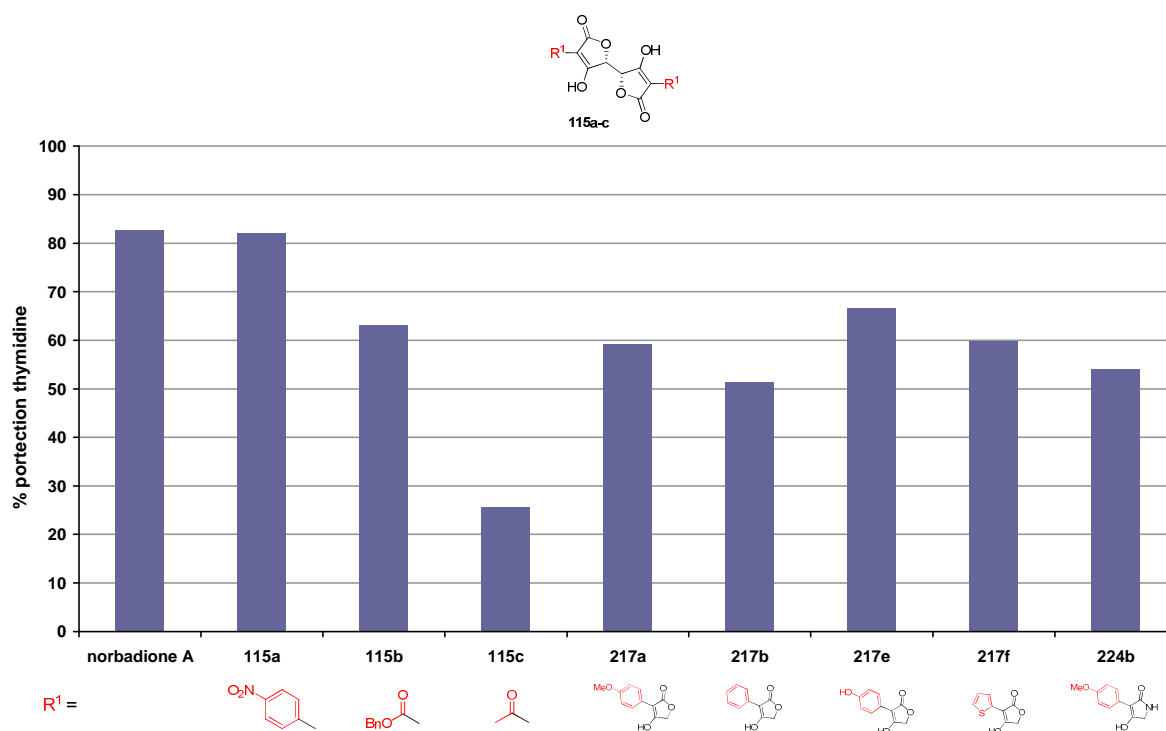


Figure 61

Par la suite, les tests de protection de la thymidine ont été réalisés sous d'autres stress oxydant. Tout d'abord, les conditions de Fenton ont été employées. Elles mettent en jeu un mélange de sulfate de fer, d'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) et d'eau oxygénée. Les composés ont également été évalués sous une irradiation UV à 254 nm en présence de H_2O_2 . Ces deux conditions de stress vont induire une coupure homolytique de la liaison oxygène-oxygène de l'eau oxygénée pour former deux radicaux hydroxyles. Ces EAO créées dans le milieu vont pouvoir ensuite dégrader la thymidine.

Les trois stress oxydants employés pour ce test ont des actions différentes sur les cibles biologiques. De ce fait, les effets de protection de la thymidine par nos composés peuvent fluctuer en fonction du stress oxydant employé. Pour se rendre compte des effets de la nature du stress utilisé sur la protection de la thymidine, la série des pulvinates de méthyle **122a-i** a été prise comme témoin (Figure 62). Tout d'abord, dans le cas d'une irradiation γ , nous avons vu précédemment que pour cette série la protection varie très peu en fonction du groupement R^2 présent. Cette tendance est rappelée ici par la courbe bleue. En regardant la Figure 62, on peut remarquer que les conditions d'irradiation UV donnent semblablement la même variation que dans le cas d'une irradiation γ . Par contre, les conditions de Fenton conduisent à des pourcentages de protection de la thymidine tout à fait différents en fonction du groupement

R². Par exemple, le dérivé iodé **120** et le dérivé phénolique **122b** ont montré des protections de la thymidine bien supérieures que dans le cas des deux autres stress oxydants. Au contraire, les pulvinate de méthyle **122e**, **122h** et **122i** ont été beaucoup moins efficaces dans les conditions Fenton.

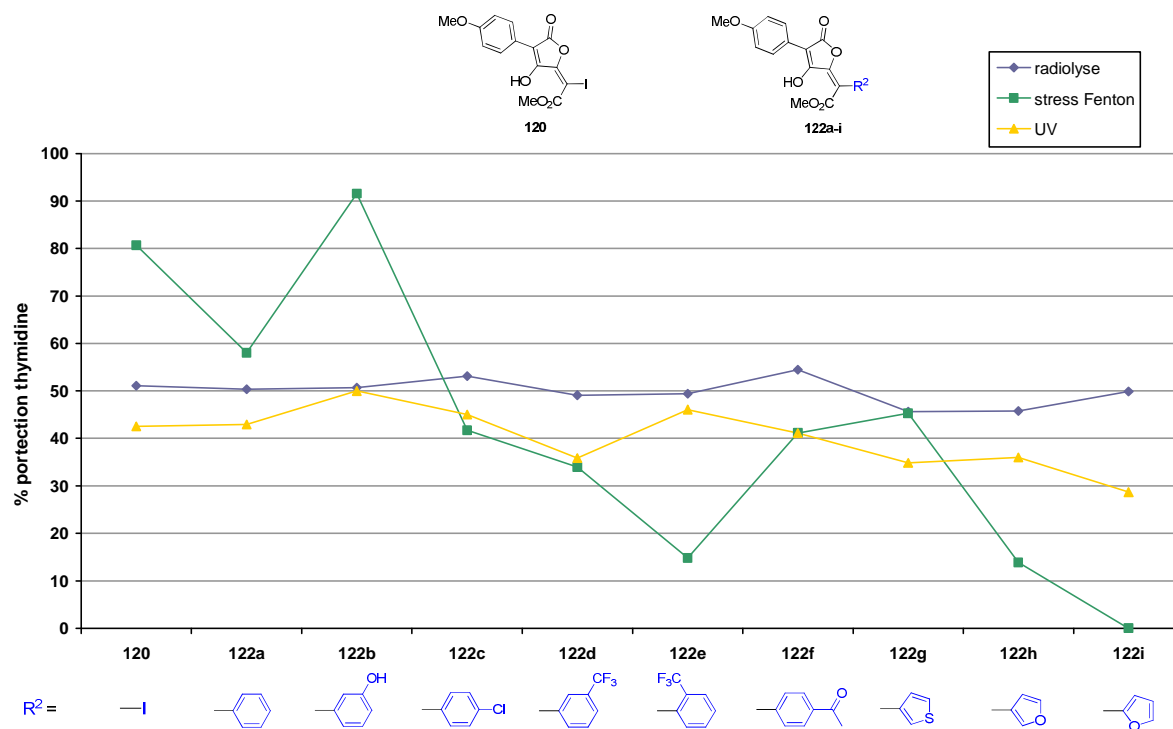


Figure 62

Cette différence d'aptitude de protection des dérivés pulvinate en fonction du stress oxydant est également observable pour les autres séries de composés. Mais nous ne détaillerons pas dans ce mémoire la comparaison des trois stress oxydants employés pour tous les composés testés. Cependant, en règle générale, l'irradiation γ et l'irradiation UV donnent des protections de la thymidine comparables, alors que les conditions de Fenton donnent des résultats tout à fait différents.

2.3. Conclusion

Grâce à ces tests de protection de la thymidine, nous avons pu tirer plusieurs conclusions. Tout d'abord, dans le cas d'une irradiation γ , le groupement R² présent sur la double liaison exocyclique a peu d'influence sur l'activité antioxydante. Les α -hydroxyesters **110** et les dérivés monosubstitués **117** ont montré des propriétés de protection de la thymidine intéressantes. De plus, les dérivés carbonylés sont en règle générale moins efficaces que leurs

analogues aromatiques. Ces différentes observations confirment les résultats obtenus avec le test au DPPH.

Il est à noter que parmi les différentes séries de produits étudiées, deux composés semblent particulièrement efficaces. Il s'agit de l' α -hydroxyester **110a** comportant un groupement 4-méthoxyphényle et du diacide tétronique **115a**, comportant des groupements 4-nitrophényles. Tout deux ont conduit à des protections de la thymidine identiques à celle induite par la norbadione A.

Enfin, nous avons remarqué également que la nature du stress oxydant pouvait influencer les effets de protection des composés. En effet, avec une irradiation γ ou UV, les résultats sont comparables alors qu'un stress de type Fenton fournit parfois des effets totalement différents.

3. Test à l'ABTS

Les tests à l'ABTS ont été effectués au Laboratoire d'Hétérochimie Fondamentale et Appliquée, à l'Université Paul Sabatier Toulouse 3, par Ghassoub Rima et Damien Cressier.

3.1. Principe

Le radical cation de l'acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) est stable sous sa forme libre. Ce radical est facilement formé à partir de l'acide correspondant par oxydation en présence de persulfate de potassium. D'autres oxydants peuvent être utilisés, tels que le dioxyde de manganèse (MnO_2).

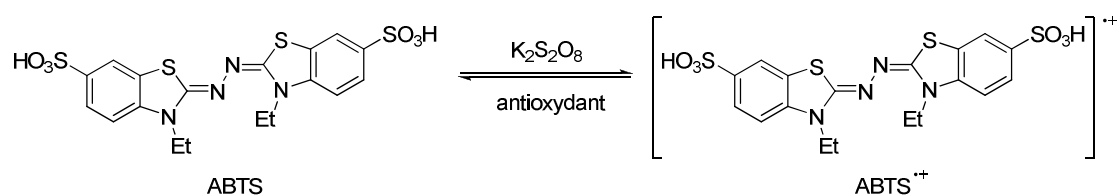


Figure 63

Ce radical est utilisé pour évaluer le pouvoir antioxydant de fluides biologiques, de mélanges complexes ou de composés purs. Il est capable de réagir avec des antioxydants classiques de type phénols et thiols, mais aussi avec tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron¹⁵⁶. Ce radical est caractérisé par un spectre UV avec des maximums d'absorbance à 416, 650 et

¹⁵⁶ Rice-Evans C., Miller N. J. *Methods Enzymol.* **1994**, 234, 279-293; Rice-Evans C., Miller N. J., Bowell P. G., Bramley P. M., Pridham J. B. *Free Radical Res.* **1995**, 22, 375-383.

734 nm. La concentration de ce radical peut être déterminée en mesurant l'absorbance à ces longueurs d'onde. L'addition d'un antioxydant à une solution de ce radical cation entraîne sa réduction et une diminution de l'absorbance à 734 nm. Cette diminution dépend de l'activité antioxydante du composé testé mais souvent aussi du temps et de la concentration¹⁵⁷.

En pratique, à une solution d'ABTS à 7 mM dans l'eau est ajoutée une solution de persulfate de potassium à 140 mM pour obtenir une concentration finale de 3,5 mM¹⁵⁸. Le mélange est agité une nuit dans le noir à t.a. pour former le radical cation ABTS⁺. Avant utilisation, la solution est diluée pour obtenir un absorbance de 0,70 (+/- 0,02) à 740 nm et à 30 °C, pour un volume final de 300 µL. La solution obtenue est stable lorsqu'elle est conservée à l'abri de la lumière et à température ambiante. La solution diluée de radical ABTS⁺ est ajoutée à des solutions du composé à tester à des concentrations variables. Pour chaque concentration, l'absorbance est mesurée, jusqu'à obtention d'un plateau. Le pourcentage de réduction du radical ABTS⁺ est calculé selon la formule ci-dessous :

$$Q = 100 (A_0 - A_C)/A_0$$

Avec : A_0 = absorbance initiale en absence de composé à tester

A_C = absorbance mesurée au temps t.

Une courbe représentant la variation de la valeur de Q en fonction de la concentration du composé testé est alors tracée. Cela permet de déterminer l'EC₅₀, concentration pour laquelle l'absorbance à 740 nm a diminué de 50 %. Pour plus de clarté, Les résultats seront indiqués sur les graphiques par l'inverse de l'EC₅₀ (plus cette valeur est élevée, plus le composé est actif).

¹⁵⁷ Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. *Free Rad. Biol. Med.* **1999**, 26, 1231-1237.

¹⁵⁸ Henriquez C., Aliaga C., Lissi E. *Int. J. Chem. Kinetics* **2002**, 34, 659-665.

3.2. Résultats

Pour l'ensemble des tests à l'ABTS réalisés, le trolox a été utilisé comme référence. Dans la série des α -hydroxyesters **110a-n** et des dérivés pulviniques monosubstitués **117a-i** (Figure 64), seuls les dérivés comportant un groupement 4-méthoxyphényle ou 4-hydroxyphényle ont montré une bonne activité dans ce test. Cependant, pour les dérivés possédant un groupement 4-méthoxyphényle, l' α -hydroxyester **110a** est bien plus actif que le dérivé pulvinique monosubstitué **117a**. En ce qui concerne les dérivés comportant un groupement 4-hydroxyphényle, les deux composés ont montré une bonne activité, mais le dérivé pulvinique monosubstitué **117f** est légèrement plus efficace. Ce dernier a montré d'ailleurs la meilleure activité de cette série, vis-à-vis du test à l'ABTS.

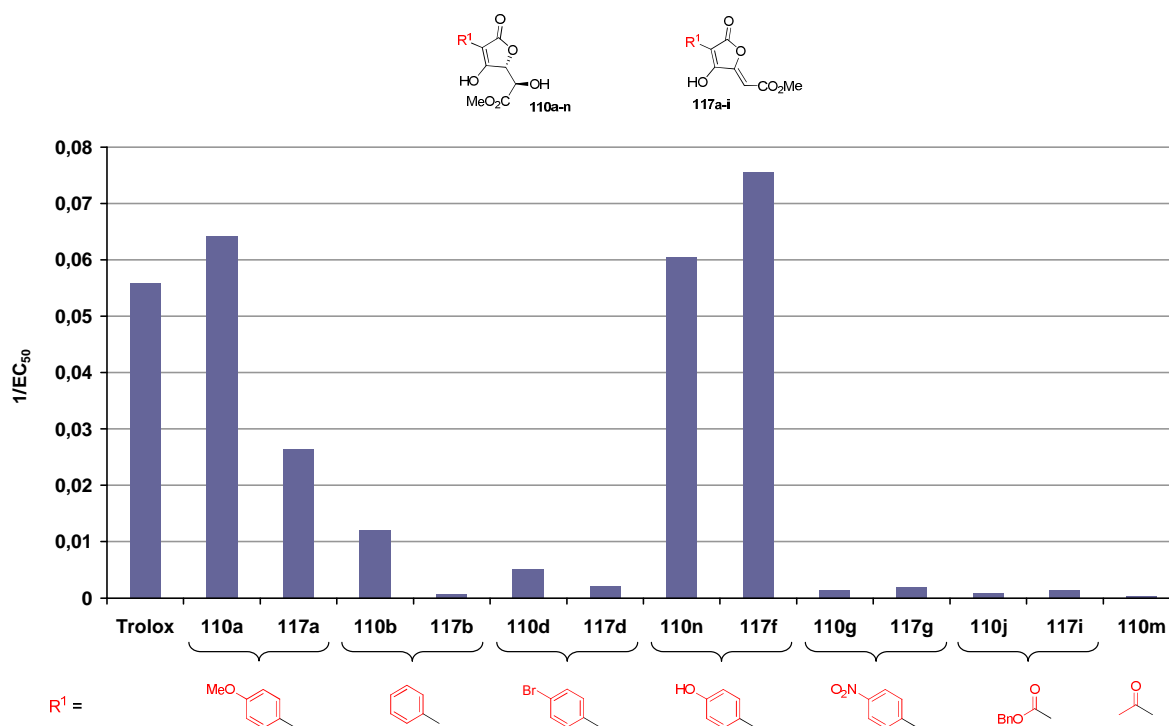


Figure 64

Dans la Figure 65, les résultats obtenus avec les pulvinate de méthyle sont représentés. Dans cette série, le dérivé pulvinique monosubstitué **117a** possédant un groupement 4-méthoxyphényle et le dérivé iodé **120** ont été inclus. On peut remarquer que les pulvinate de méthyle sont moins efficaces que leur analogue monosubstitué **117a**. Seuls les acides vulpiniques **122h** et **122i** comportant un noyau furane sur la double liaison exocyclique possèdent une activité un peu supérieure aux autres pulvinate de méthyle. Mais cette efficacité reste tout de même inférieure à celle obtenue avec le trolox.

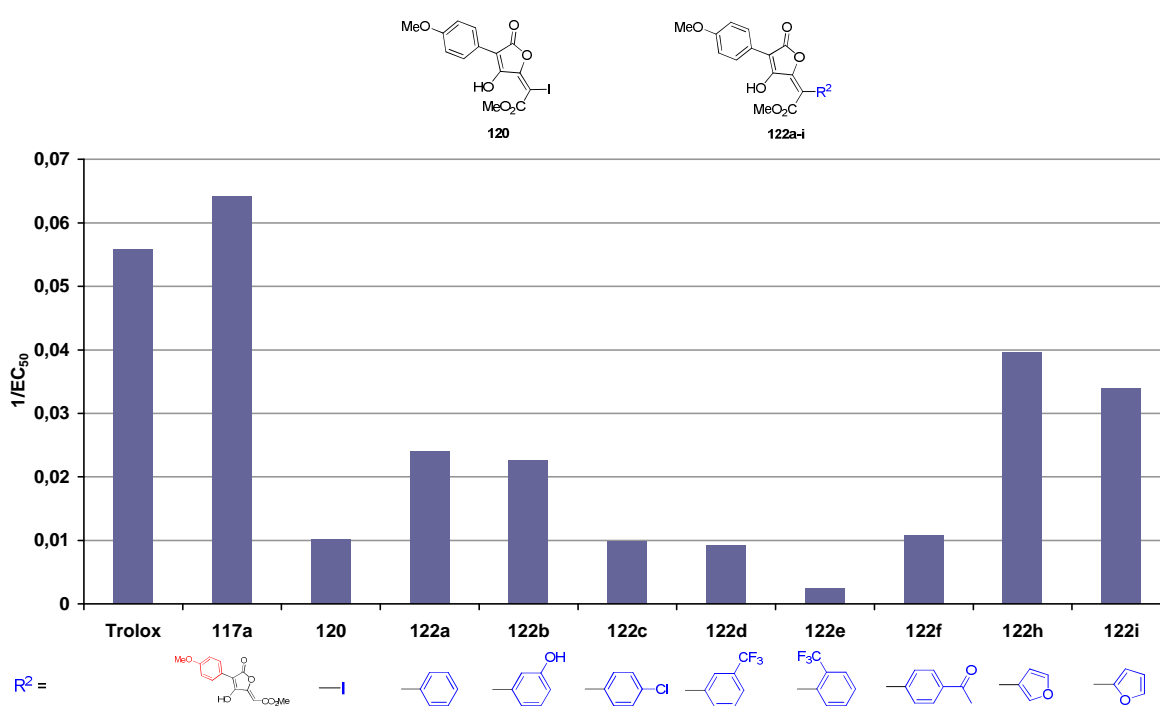


Figure 65

Dans ce test à l'ABTS, les diacides tétroniques **115a-c** se sont montrés totalement inactifs (Figure 66). Ce résultat est tout à fait différent de celui obtenu par l'étude de la protection de la thymidine. Par contre, les acides tétroniques évalués ont donné des activités intéressantes. Tout d'abord, l'acide tétronique **217a** comportant un groupement 4-méthoxyphényle est le moins actif des trois dérivés tétroniques étudiés. Il a montré une activité moyenne, similaire à celle observée pour son analogue α -hydroxyester **117a**. L'acide tétronique **217e** possédant un groupement 4-hydroxyphényle a présenté un comportement similaire au trolox. Enfin, le

dérivé tétronique 2-thiényle **217f** est de loin le composé ayant la meilleure activité de tous les produits évalués.

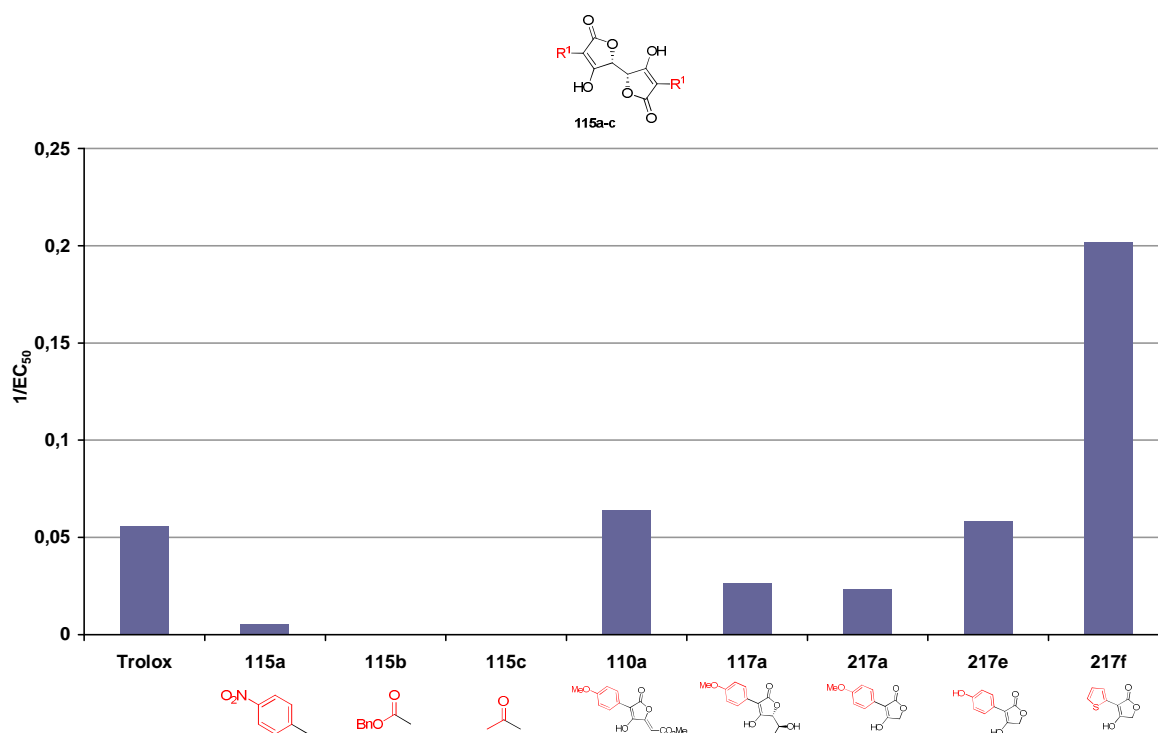


Figure 66

3.3. Conclusion

Le test d'évaluation antioxydante réalisé à l'aide de l'ABTS a été beaucoup plus discriminant que les autres tests décrits précédemment. Parmi tous les composés évalués, les pulvinate de méthyle et les diacides tétroniques ont été, en règle générale, peu actifs dans ces conditions. En ce qui concerne les α -hydroxyesters et les dérivés pulviques monosubstitués, les groupements 4-méthoxyphényle et 4-hydroxyphényle semblent avoir une très bonne influence sur l'activité antioxydante. Cependant, le meilleur composé évalué fut l'acide tétronique possédant un groupement 2-thiényle alors que ses analogues substitués par des groupements 4-méthoxyphényle et 4-hydroxyphényle ont été moins efficaces. Ce dernier résultat est très encourageant et il sera très intéressant d'évaluer l' α -hydroxyester **110i** et le dérivé pulvique monosubstitué **117h** qui possèdent également un groupement 2-thiényle. Ces expériences seront réalisées prochainement.

4. Etude de la peroxydation lipidique

Les études de la peroxydation lipidique ont été effectuées au Laboratoire d'Hétérochimie Fondamentale et Appliquée, à l'Université Paul Sabatier Toulouse 3, par Ghassoub Rima et Damien Cressier.

4.1. Principe

Cette évaluation de l'activité antioxydante est basée sur l'oxydation couplée du β -carotène et de l'acide linoléique¹⁵⁹. L'acide linoléique est un acide gras polyinsaturé oméga 6, et le β -carotène est un pigment possédant un maximum d'absorbance à 470 nm. Cette technique consiste à mesurer la disparition du β -carotène résultant de son oxydation par un radical peroxyde $\text{LOO}\cdot$, produit de dégradation issu de la peroxydation de l'acide linoléique.

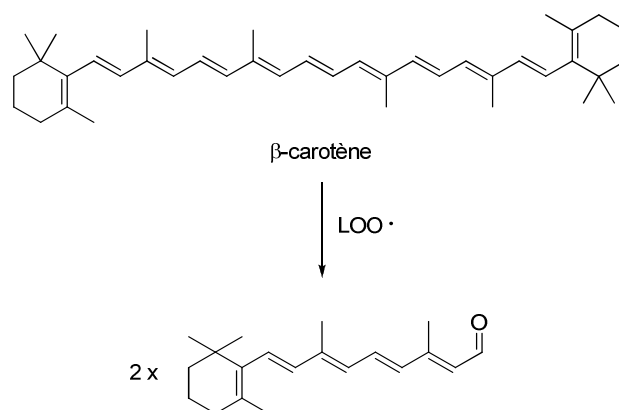


Figure 67

Dans les conditions du test, le β -carotène est présent à l'intérieur de micelles d'acide linoléique formées par une émulsion dans l'eau à l'aide du tensioactif Tween 20 (Figure 68). La peroxydation de l'acide linoléique est réalisée par l'intermédiaire d'une solution d'eau pure saturée en oxygène. Le lipide oxydé, une fois formé, va réagir avec le β -carotène, induisant ainsi une décoloration. Par mesure de l'absorbance à 470 nm, le pourcentage de protection de la membrane lipidique peut être quantifié.

¹⁵⁹ Privat C., Telo J. P., Bernardes-Genisson V., Vieira A., Souchard J.-P., Nepveu F. *J. Agric. Food. Chem.* **2002**, 50, 1213-1217.

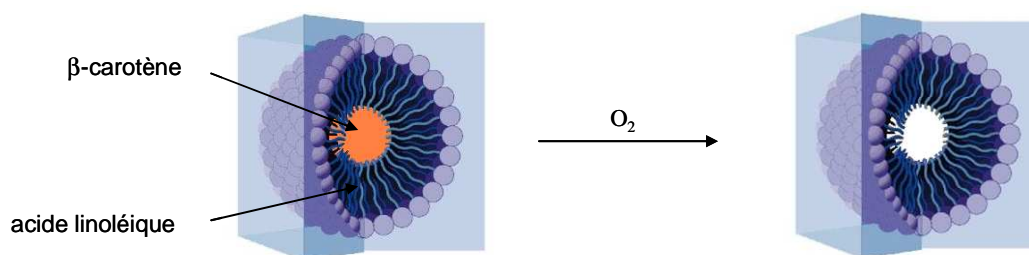


Figure 68

Plus le produit étudié protège la membrane lipidique, moins la décoloration du β-carotène sera importante. Cependant, si une molécule est trop hydrophile, elle ne pourra pas pénétrer dans la membrane et bloquer la peroxydation lipidique.

Le pourcentage de protection de la membrane lipidique est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ de protection} = \left(1 - \frac{A_0 - A_t}{Ac_0 - Ac_t}\right) \times 100$$

Avec :

- A_0 = absorbance initiale de l'échantillon
- A_t = absorbance de l'échantillon après 4 h
- Ac_0 = absorbance initiale en l'absence d'agent de protection
- Ac_t = absorbance après 4 h en l'absence d'agent de protection

Par cette méthode de calcul, une protection avec un signe négatif indique une oxydation supérieure du β-carotène en présence de la molécule étudiée par rapport au contrôle. L'évaluation des composés a été réalisée à deux concentrations différentes (24 et 116 μM).

4.2. Résultats

Cette étude de l'oxydation du β -carotène en milieu micellaire a permis de connaître la capacité de nos composés à traverser les membranes lipidiques et à inhiber la peroxydation des lipides. Cependant, cette étude n'a pas pu être effectuée sur l'ensemble des composés synthétisés mais les résultats obtenus ont tout de même révélé de nombreuses disparités.

Tout d'abord, dans la série des α -hydroxyesters et des dérivés pulviniques monosubstitués (Figure 69), les composés comportant des groupements 4-méthoxyphényle, phényle, 4-bromophényle et 4-hydroxyphényle montrent les meilleures protections. Cependant, le dérivé monosubstitué par un phényle **117b** n'est pas efficace dans les conditions de ce test et son analogue **117d** possédant un groupement 4-bromophényle est même pro-oxydant à faible concentration. Les composés comportant un groupement 4-nitrophényle ou une fonction ester ou acétyle ne protègent pas du tout le β -carotène de la peroxydation lipidique. De plus, certains dérivés augmentent même les effets du stress oxydant, comme le composé monosubstitué **117i**, comportant un ester benzylique.

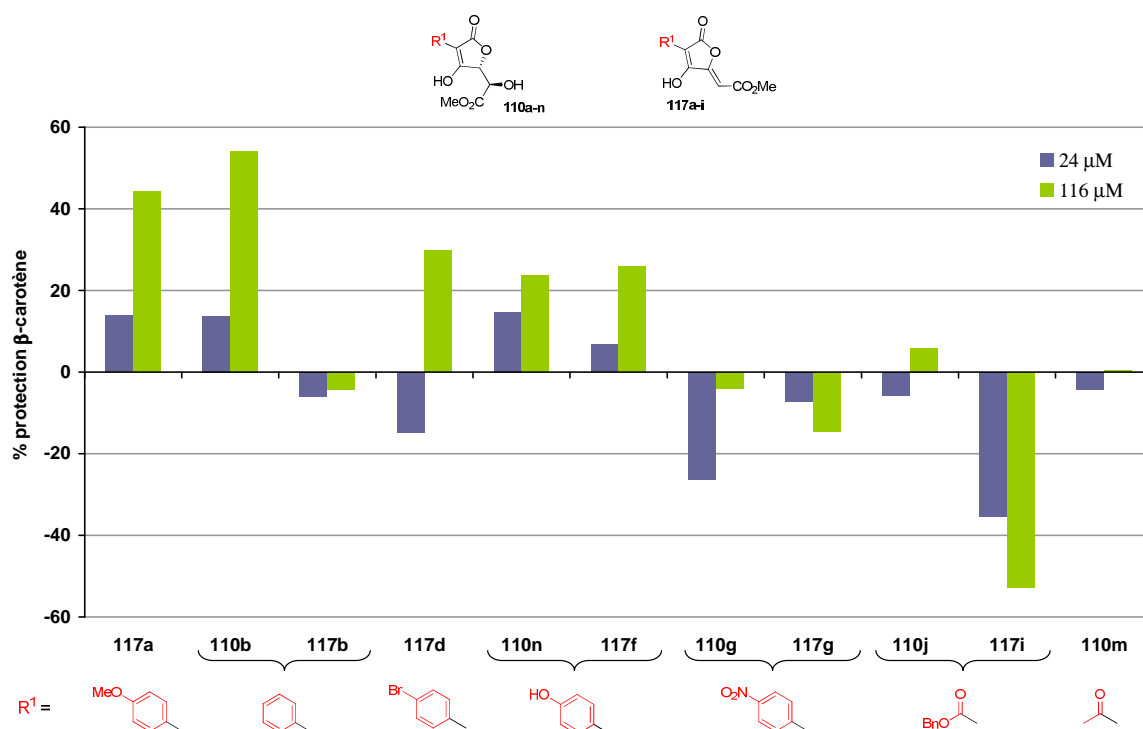


Figure 69

Dans la famille des pulvinate de méthyle (Figure 70), les composés comportant des groupements phényle, 4-chlorophényle, et furanyle n'engendrent aucune protection lipidique,

tandis que les composés **122e** et **122f** possédant un groupement 2-(trifluorométhyl)phényle ou 4-acétylphényle ont donné les meilleurs résultats et cela, aux deux concentrations étudiées.

En ce qui concerne les diacides tétroniques, ils n'ont eu aucune efficacité dans ce test, et le dérivé **115b** a même montré un caractère pro-oxydant à concentration élevée.

Enfin, les deux acides tétroniques **217e** et **217f** se sont révélés être d'assez bons protecteurs de la peroxydation lipidique mais ils restent tout de même moins efficaces que les pulvinate de méthyle **122e** et **122f**.

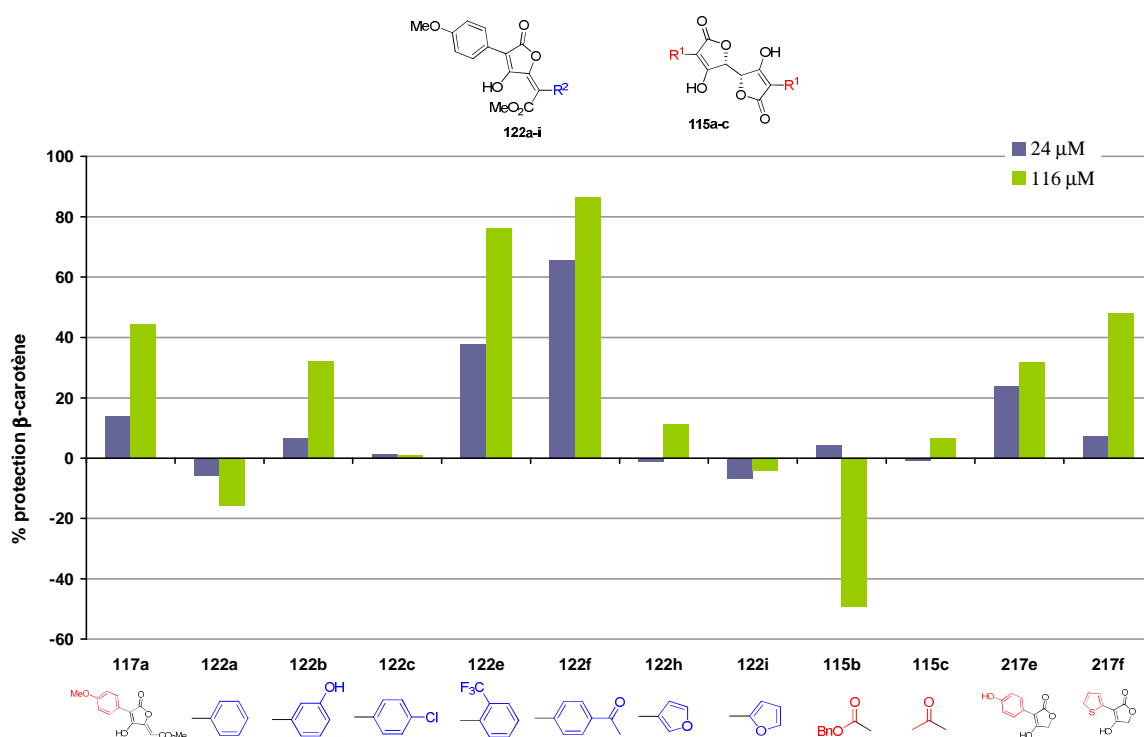


Figure 70

4.3. Conclusion

Par cette étude de la peroxydation lipidique, nous avons pu observer tout d'abord que certains α -hydroxyesters et dérivés pulviniques monosubstitués sont de bons protecteurs du β -carotène et ont de bonnes propriétés lipophiles. Cependant les dérivés comportant un groupement 4-nitrophényle ou des fonctions carbonylées n'ont montré aucune efficacité dans ces conditions, tout comme les diacides tétroniques. Par contre, les acides tétroniques ont donné des protections équivalentes aux meilleurs α -hydroxyesters et dérivés pulviniques monosubstitués. Cette efficacité des acides tétroniques confirme bien les résultats obtenus avec ces dérivés dans les autres évaluations.

Enfin, la nature du groupement R^2 présent sur les pulvinate de méthyle a beaucoup plus d'importance que dans les évaluations faisant appel à la capture du radical DPPH ou à la protection de la thymidine. Et les meilleurs résultats ont été obtenus avec les composés **122e** et **122f** comportant respectivement un groupement 2-(trifluorométhyl)phényle et 4-acétylphényle.

5. Conclusion : bilan des évaluations antioxydantes

L'ensemble des évaluations antioxydantes réalisées nous ont permis de tirer quelques conclusions sur la relation structure-activité concernant ces composés apparentés aux acides pulviniques. Un résumé de ces conclusions est représenté dans la Figure 71.

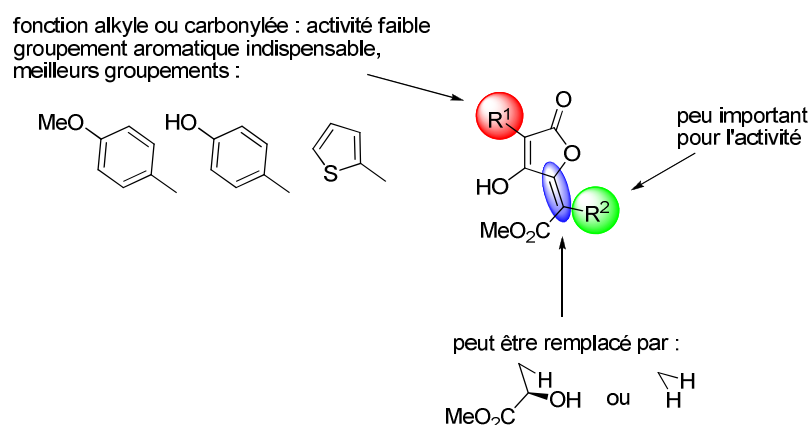


Figure 71

Tout d'abord, en ce qui concerne les pulvinate de méthyle, la nature du groupement aromatique R^2 semble avoir une influence limitée sur l'activité antioxydante. De plus, la présence de ce groupement aromatique sur la double liaison exocyclique n'apparaît pas être indispensable pour l'efficacité des dérivés pulviniques. Ces résultats confortent l'hypothèse selon laquelle la nature du pouvoir antioxydant des acides pulviniques provient de leur capacité à délocaliser le radical au niveau du noyau aromatique présent sur la position 3 de la lactone. Cependant, à la vue des résultats décrits précédemment, la stabilisation du radical ne paraît pas être suffisante lorsque ce groupement aromatique est remplacé par une fonction carbonylée.

Les analogues d'acides pulviniques constitués d'une structure plus simple, tels que les α -hydroxyesters ou les acides tétroniques ont donné en général des activités antioxydantes légèrement inférieures. Cependant, certains composés de ces deux familles se sont révélés

aussi efficaces que les acides vulpiniques. Les produits les plus actifs comportaient des groupements 4-méthoxyphényle, 4-hydroxyphényle ou 2-thiényle. Ces dérivés peuvent se révéler très intéressants en tant que radioprotecteurs si les activités obtenues jusqu'à présent sont confirmées par des études sur cellules. En effet, ce sont des molécules facilement accessibles, en peu d'étapes. De plus, leur petite structure pourrait très certainement leur conférer une meilleure solubilité et une meilleure capacité de pénétration dans les tissus vivants par rapport aux acides pulviniques.

Enfin, des diacides tétroniques ont également montré des efficacités remarquables. Ce résultat est tout à fait logique puisque ces structures comportent deux fonctions énols, ce qui augmente leur capacité à capter les radicaux libres.

Tous les résultats des tests antioxydants nous ont permis de sélectionner neuf composés qu'il nous paraissait intéressant d'étudier en tant que radioprotecteurs par des tests de protection sur cellules. Les composés choisis comprennent les meilleurs dérivés de chaque famille étudiés jusqu'à présent, c'est-à-dire les produits les plus efficaces parmi les pulvinates de méthyle, les α -hydroxyesters, les dérivés monosubstitués et les acides et diacides tétroniques. Cette sélection a été effectuée dans le but d'étudier les effets sur la radioprotection des différentes structures préparées. La Figure 72 présente les dérivés sélectionnés qui ont fait l'objet de tests sur cellules.

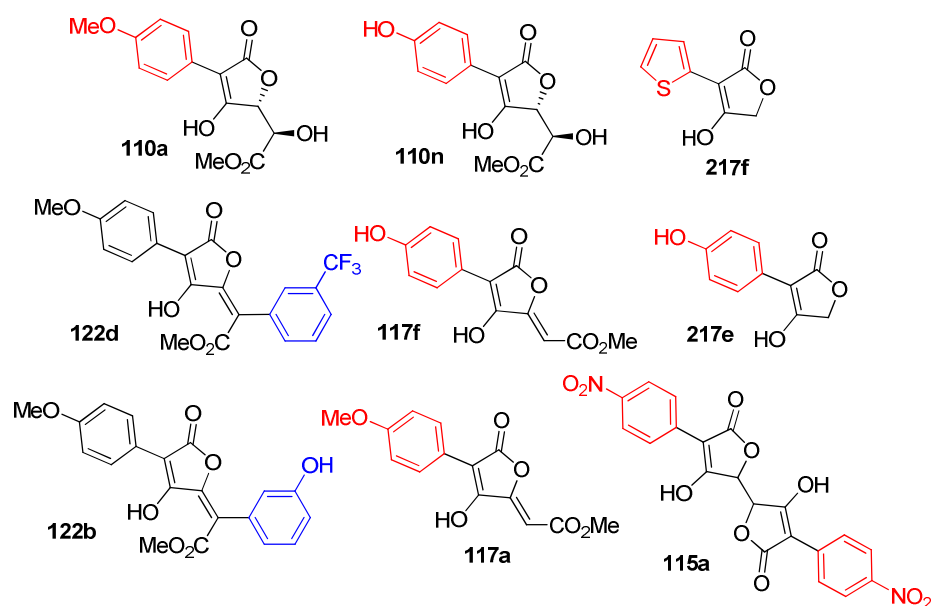


Figure 72

III. Evaluation de l'activité radioprotectrice

La mesure de l'activité antioxydante d'un composé n'est que la première étape dans l'évaluation de l'activité radioprotectrice. En effet, la plupart des tests antioxydants réalisés précédemment ne mettent en jeu qu'une seule cible à protéger ou bien qu'un seul type de radical et sont réalisés dans un milieu relativement simple par rapport au milieu biologique. Dans un organisme, un composé radioprotecteur va devoir protéger un grand nombre de cibles biologiques (ADN, protéines, lipides, sucres...) face à l'ensemble des EAO produits par les rayonnements ionisants.

Par conséquent, l'évaluation radioprotectrice d'un composé doit rendre compte de sa capacité de protection d'un organisme vivant contre les rayonnements ionisants. Pour cela, des études préliminaires de notre sélection de composés ont été réalisées sur un modèle cellulaire (TK6). Les résultats obtenus lors de ces évaluations vont être détaillés dans cette partie. Des travaux réalisés sur la protection de souris seront décrits ensuite.

1. *Etude sur des cellules TK6*

Les études de la radioprotection des cellules TK6 ont été effectuées au Centre Régional de Lutte contre le Cancer Paul Strauss, à Strasbourg, par Pierre Bischoff et Antoine Le Roux.

1.1. Principe

Ces études ont été menées sur des TK6, une lignée de cellules lymphoblastoïdes humaines très radiosensibles, ayant un caryotype stable (47 chromosomes) et dotée d'une protéine p53 fonctionnelle. Cette protéine agit en tant que facteur de transcription et est indispensable au maintien de l'intégrité de la cellule et de ses composants. Lorsque la cellule est soumise à un stress, la protéine p53 est activée et elle va provoquer la transcription de nombreux gènes. Cette activation conduit soit à l'arrêt du cycle cellulaire, de manière à permettre par exemple la réparation de l'ADN endommagé, soit directement à l'apoptose.

Ce test est réalisé dans des flacons de 25 mL en mélangeant 7,5 mL de milieu de culture contenant 2 millions de cellules TK6 (quantité évaluée par un compteur Coulter) et 2,5 mL d'une solution d'antioxydant à 1 mg/mL dans du PBS (Phosphate Buffered Saline). Avant de

mélanger cette solution d'antioxydant avec les cellules, elle est préalablement stérilisée par une filtration sur filtre millipore de 0,22 μm . L'antioxydant est mis en contact avec les cellules une heure avant l'irradiation.

Ensuite, le mélange est soumis à une dose d'irradiation de 8 Gy à l'aide d'un accélérateur linéaire à rayons X. Au bout de 40 h après l'exposition aux rayons X, le milieu de culture est remplacé. Pour cela, la solution contenant les cellules est centrifugée à 20000 tr/min, puis le surnageant est retiré et remplacé par 10 mL de milieu de culture.

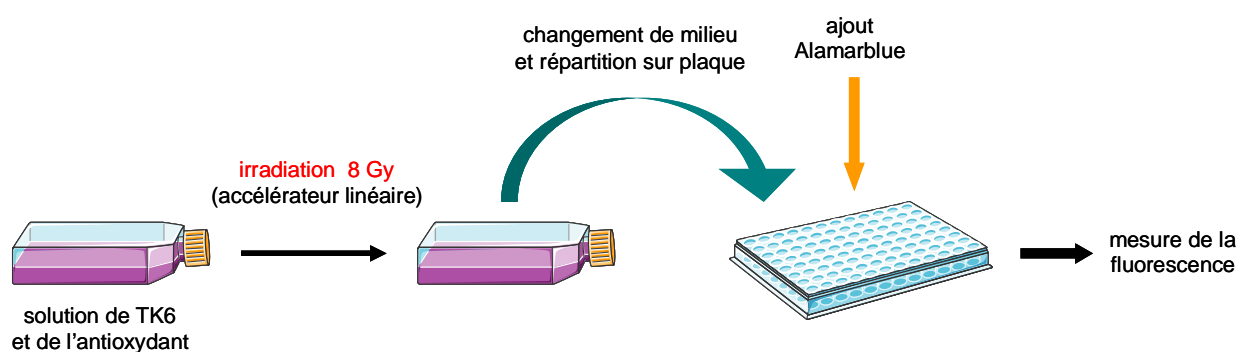


Figure 73

Ensuite, la croissance des cellules est suivie pendant plusieurs jours et est comparée à celle de cellules irradiées en l'absence d'agent antioxydant. Pour cela, 200 μL de la solution précédente sont introduits dans cinq puits d'une plaque 96 puits pour permettre d'effectuer plusieurs mesures. Cette opération est réalisée sur la même plaque pour chacun des antioxydants évalués. Pour chaque point de suivi de la croissance ces cellules (à des jours différents), une nouvelle plaque doit être utilisée. Plusieurs plaques sont donc préparées en parallèle en utilisant la même méthode de répartition des solutions.

Le suivi du nombre de cellules vivantes au cours du temps est réalisé à l'aide d'un test à l'Alamarblue^{®160}. Ce test utilise le pouvoir réducteur inhérent des cellules vivantes comme un indicateur de l'activité métabolique. Ce réactif consiste en la réduction de la résazurine, un colorant bleu non fluorescent, en résosurine, qui est un colorant rouge très fluorescent

¹⁶⁰ O'Brien J., Wilson I., Orton T., Pognan F. *Eur. J. Biochem.* **2000**, 267, 5421-5426.

(Schéma 99). L'intensité de la fluorescence est directement proportionnelle aux nombre de cellules vivantes présentes dans le puits.



Schéma 99

Dans le cadre du test sur les cellules TK6, 20 μL d'Alamarblue[®] sont introduits dans chaque puits d'une plaque 96 puits préparée précédemment. Celle-ci est ensuite incubée pendant 4 h à 37 °C puis une lecture de fluorescence est réalisée à 590 nm en excitant à 560 nm. La quantité de cellules étant proportionnelle à l'intensité de fluorescence, l'unité arbitraire de fluorescence (UAF) indiquée par le fluorimètre est utilisée comme unité de comparaison de l'efficacité des différents antioxydants.

1.2. Résultats

Les composés sélectionnés ont été évalués en tant que radioprotecteurs à l'aide du test cellulaire décrit précédemment en deux séries successives.

Dans la première série, nous retrouvons l' α -hydroxyester **110a** et l'acide tétronique **217f**. Au cours de cette évaluation, le trolox a également été testé et a servi de référence.

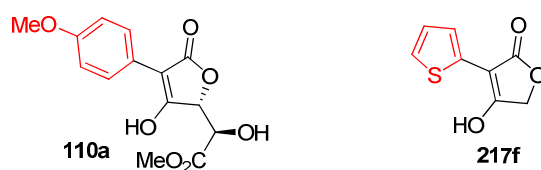


Figure 74

Dans un premier temps, la toxicité des composés a été estimée en mettant en contact les différentes molécules avec les cellules, sans irradiation. Un suivi de la prolifération cellulaire est alors effectué sur plusieurs jours par la méthode établie précédemment. Le graphique de la Figure 75 représente l'évolution du nombre de cellules au cours du temps. Dans cette série, aucun composé ne semble toxique pour les cellules TK6 puisque la croissance des cellules en présence des antioxydants est comparable à celle des cellules placées dans un milieu de culture en l'absence d'agent de protection (contrôle).

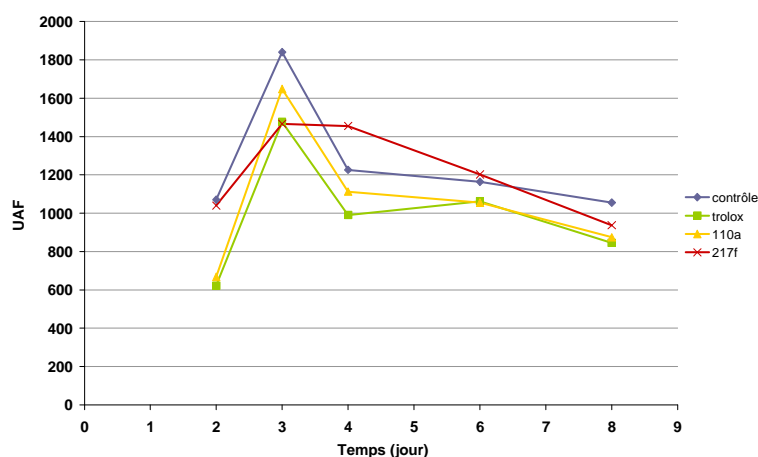


Figure 75

Ensuite, l'évaluation radioprotectrice a été réalisée en irradiant les cellules TK6 par des rayons X à 8 Gy en présence des antioxydants. Le suivi de la croissance cellulaire, représenté dans la Figure 76, montre que suite à l'irradiation, les cellules irradiées en présence de **110a** ou **217f** prolifèrent beaucoup mieux que celles de l'échantillon de contrôle ou même que celles irradiées en présence de trolox. En effet, L'utilisation de **217f** ou **110a** permet une prolifération deux fois plus importante que le contrôle après le 8^e jour. Ces résultats montrent bien que les dérivés **110a** et **217f** ont un effet radioprotecteur sur les cellules TK6.

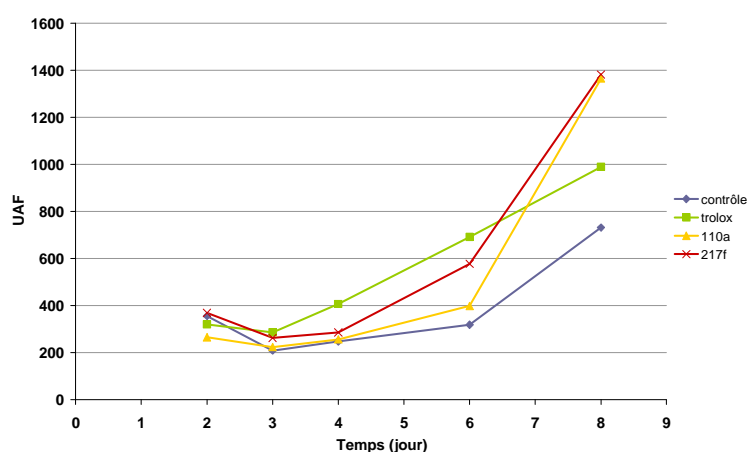


Figure 76

La deuxième série de composés (Figure 77) a été évaluée en suivant le même déroulement des opérations que la série précédente, à savoir d'abord une étude de toxicité préliminaire, puis l'étude de radioprotection proprement dite.

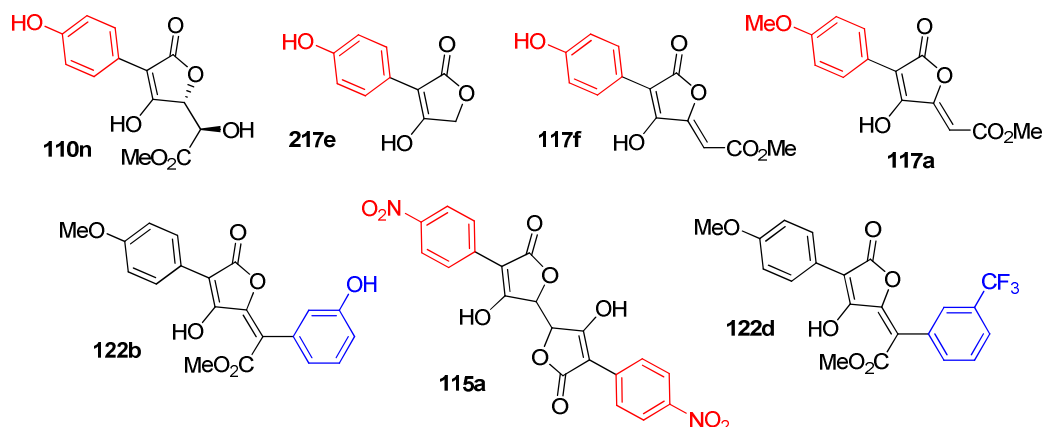


Figure 77

La Figure 78 montre le suivi de la prolifération cellulaire de l'étude de toxicité des dérivés de la deuxième série. Nous pouvons voir que les composés **122b**, **122d** et **115a** montrent une certaine toxicité sur les cellules TK6. En effet, leur courbe de croissance est totalement différente de celle du contrôle. Cependant, pour **122d** et **115a**, la courbe redevient normale au bout de 7 jours, tandis que dans le cas de **122b**, aucune croissance cellulaire n'est visible pendant toute la durée de l'expérience.

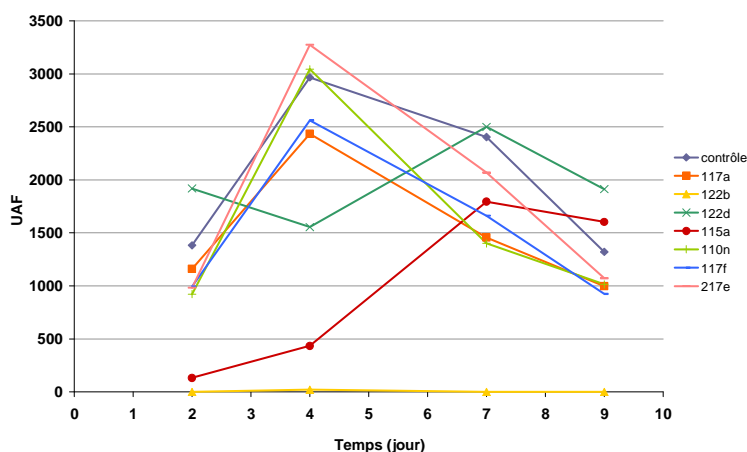


Figure 78

Les cellules ont été ensuite irradiées à 8 Gy par un accélérateur linéaire en présence des différents antioxydants. L'histogramme de la Figure 79 représente le pourcentage relatif du nombre de cellules par rapport au contrôle au bout du quatrième jour de suivi de la prolifération cellulaire.

Tout d'abord, pour les dérivés **122b** et **115a**, nous observons que la prolifération cellulaire est fortement diminuée par rapport au contrôle. Ceci est dû à leur toxicité, révélée précédemment. En ce qui concerne les composés **117a**, **110n** et **117f**, aucune protection n'est observable, puisque le nombre de cellules présentes au bout de quatre jours est comparable à celui du contrôle. Par contre, les dérivés **122d** et **217e** montrent une bonne capacité à protéger les cellules TK6 des rayonnements ionisants. En effet, la prolifération cellulaire est augmentée de plus de 50 % par rapport au contrôle en présence de chacun de ces deux dérivés.

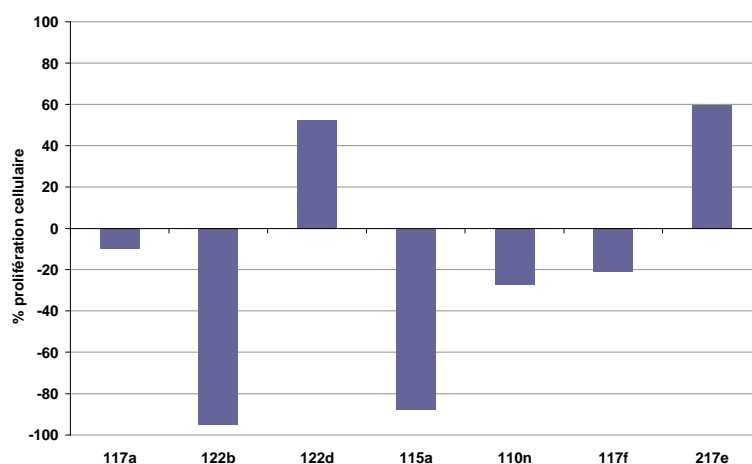


Figure 79

1.3. Conclusion

Ces études de radioprotection sur des cellules TK6, ont montré, tout d'abord, que certains dérivés pulviniques pouvaient être toxiques (**122b**, **122d** et **115a**). En effet, la croissance cellulaire est altérée en présence de ces composés. Cependant, seul le dérivé **122b** entraîne une perte totale de la croissance cellulaire.

Dans la sélection des produits étudiés, quatre composés ont montré des activités radioprotectrices intéressantes. Il s'agit de l' α -hydroxyester **110a**, de l'acide vulpinique **122d**, et des deux acides tétroniques **217e** et **217f**. Ces résultats doivent néanmoins être confirmés en répétant plusieurs fois la même expérience.

2. Etude de radioprotection sur souris

Des études de protection de souris contre les rayonnements ionisants ont été effectuées par Pierre Bischoff au Centre Régional de Lutte contre le Cancer Paul Strauss de Strasbourg.

Ces expériences consistent à irradier (rayons X, 8,3 Gy) une population de souris qui ont été préalablement traitées par le produit à étudier. La comparaison du nombre de souris vivantes au bout de 30 jours dans un lot de souris traitées et dans un lot de souris non traitées, permet de se rendre compte de l'activité radioprotectrice de l'antioxydant en question.

Les études menées, jusqu'à présent, se sont limitées au composé **128** (Figure 80), dont la synthèse a été décrite dans le chapitre 3. Ce dérivé avait montré de bonnes activités antioxydantes lors de travaux précédents⁷².

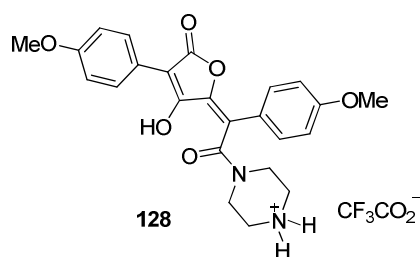


Figure 80

Ces expériences ont été conduites sur des lots de souris mâles de type Swiss, obtenues de Charles River Laboratories. Tout d'abord, le composé a été injecté à des lots de souris à différentes concentrations sans être irradiés afin de déterminer la DL₅₀ du composé **128**. Cependant, à la concentration maximale du composé injectée qui correspond à 400 mg/kg, aucune toxicité n'a pu être observée.

Pour les expériences de radioprotection, 400 mg/kg de produit sont injectés en suspension dans du PBS, par voie intrapéritonéale, à un lot de souris. Les souris témoins se voient injecter du PBS seul pour subir le stress de l'injection tout comme les autres animaux. Toutes les souris sont irradiées corps entier 2 h après l'injection par des rayons X à 8,3 Gy. Suite à l'irradiation, les souris sont contrôlées quotidiennement. Après trente jours, les souris survivantes dans les lots de souris traitées et de témoins sont comptées.

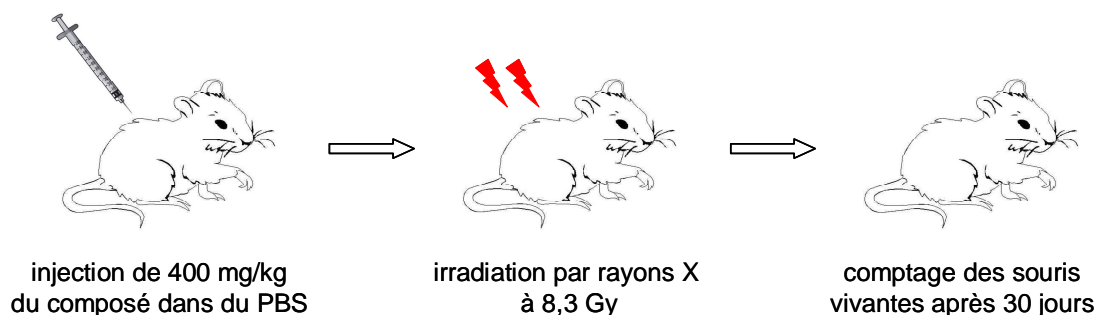


Figure 81

Trois expériences indépendantes ont été réalisées jusqu'à présent avec le dérivé **128**. Au total, quarante souris ont été utilisées en tant que témoins et quarante-huit souris ont été traitées par **128**. En prenant en compte l'ensemble des expériences, au bout de trente jours, le taux de survie des témoins est de 27,5 % alors que pour les souris préalablement traitées par le composé **128**, le taux de survie atteint 77,5 %. Dans ces conditions, le nombre de survivant a été presque triplé grâce à une injection du dérivé **128**, 2 h avant une exposition aux radiations.

Ces expériences nous montrent que le composé **128** peut protéger des souris exposées à des rayonnements ionisants. Cependant, il est encore nécessaire de compléter ces études par de nouvelles expériences. Par la suite, d'autres composés identifiés comme radioprotecteurs sur cellules pourront également être testés.

IV. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté les résultats des différents tests réalisés afin d'évaluer l'activité antioxydante puis l'activité radioprotectrice des composés synthétisés. Dans un premier temps, cinq tests antioxydants complémentaires ont été utilisés afin d'étudier la relation structure-activité des dérivés.

Nous avons constaté notamment que le groupement aromatique R^2 présent sur la double liaison exocyclique ne semble pas utile à l'activité antioxydante puisque certains dérivés monosubstitués **117** ont des efficacités comparables.

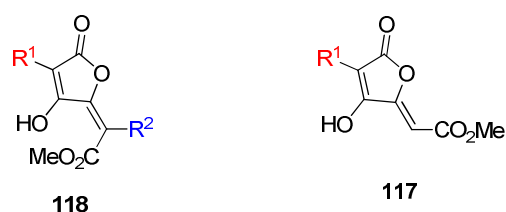


Figure 82

Par contre, la nature du groupement R^1 semble cruciale, et en rapport avec l'effet induit sur la stabilisation du radical formé initialement sur la fonction énol. En effet, lors de travaux précédents, il avait été observé que des fonctions alkyles ne permettaient par cette stabilisation. De plus, au cours de nos évaluations antioxydantes, nous avons remarqué que des fonctions telles qu'un acyle ou un ester benzylique en position 3 de la lactone conduisaient en général à des activités antioxydantes faibles. Ces études ont donc permis de mettre en évidence que le groupement R^1 doit être obligatoirement un noyau aromatique pour conduire à une stabilisation suffisante du radical.

Ces évaluations antioxydantes ont également permis de constater que des composés de structure plus simple, ne comportant pas la double liaison exocyclique, pouvaient être de bons antioxydants. En effet, des α -hydroxyesters **110** et des acides tétroniques **217** ont montré dans certains tests des activités comparables à celles des pulvinate de méthyle.

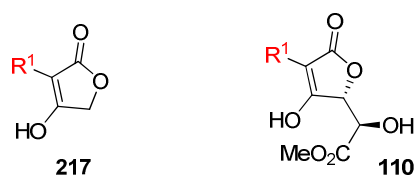


Figure 83

Ensuite, une sélection de composés a été effectuée à partir des conclusions tirées de l'étude antioxydante. Les dérivés choisis ont alors été testés en tant que radioprotecteurs sur des cellules TK6. Trois composés se sont révélés toxiques pour ce type de cellules mais un seul de ces dérivés conduit à un arrêt total de la prolifération cellulaire. Ces expériences ont également permis de révéler l'activité radioprotectrice de quatre composés, qui devra être confirmée par des expériences supplémentaires.

Enfin, une étude de la radioprotection de souris contre les rayons X a montré que l'injection du pulvinamide **128** avant une irradiation de 8,3 Gy permettait de multiplier leur taux de survie après trente jours par trois, par rapport à des souris non traitées. Ce résultat devra être confirmé par de nouveaux essais. Par la suite, les composés ayant des activités radioprotectrices sur cellules seront également évalués sur souris en suivant le même protocole.

Conclusion générale

Ce travail de thèse a été consacré à la synthèse de nouveaux dérivés d'acides pulviniques et à leur évaluation en tant qu'agents de protection contre les rayonnements ionisants. Pour cela, plusieurs voies de synthèse ont été développées pour permettre la plus grande diversification possible de la structure pulvinique.

Une première stratégie faisait appel à la préparation d'un synthon commun. Différentes approches ont été testées en partant soit d'un acide tétronique soit du *O*-acétyltartrate de diméthyle. Mais malgré tous les essais réalisés, la préparation du synthon souhaité n'a pas été réalisée. Cependant, une modification de la dernière approche a permis la synthèse de trois familles de dérivés pulviniques.

En partant du *L*-tartrate de diméthyle **105**, trois étapes successives ont tout d'abord conduit à divers α -hydroxyesters **110** et dérivés pulviniques monosubstitués **117**. Cette méthode nous a permis d'introduire des groupements aromatiques ou des fonctions carbonylées (ester et acétyle) en position 3 de la lactone.

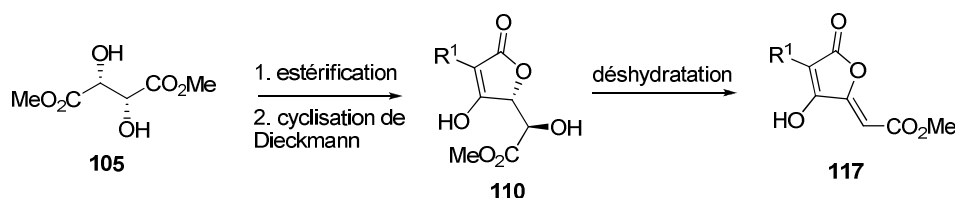


Schéma 100

Ensuite, le dérivé pulvinique monosubstitué **117a** a été utilisé pour préparer des pulvinate de méthyle dissymétriques **122** par une séquence d'iodation et d'un couplage de Suzuki-Miyaura sur la double liaison exocyclique. Par l'emploi d'un couplage au palladium en dernière étape, des groupements aryles variés ont pu être facilement introduits.

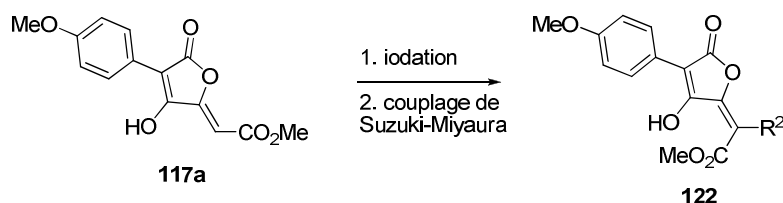


Schéma 101

Une modification de la stratégie utilisée pour la préparation de dérivés pulviniques monosubstitués a également été employée avec succès afin de synthétiser des pulvinones. La méthode développée a permis de préparer de manière concise diverses pulvinones grâce notamment à un processus tandem de cyclisation de Dieckmann et de d'élimination effectué en dernière étape.

Dans un autre chapitre de ce mémoire, nous avons utilisé un processus tandem, adapté d'une méthode mise au point précédemment pour la préparation d'acides tétroniques, afin de synthétiser des acides 3-aryltétramiques. Dans cette partie, des acides tétramiques *N*-2,4-diméthoxybenzylés ont été préparés, puis le groupement protecteur a été clivé de manière quantitative avec de l'acide trifluoroacétique. Ces acides ont été synthétisés dans le but de les utiliser, par la suite, pour la préparation d'acides pulviniques azotés.

Les différents composés préparés ont été ensuite évalués en tant qu'antioxydants à l'aide de différents tests afin de déterminer leur capacité réelle de protection. Les résultats obtenus ont été interprétés afin de définir certaines relations structure-activité. Celles-ci sont résumées dans la Figure 84. Tout d'abord, la présence d'un groupement aromatique sur la double liaison exocyclique n'est pas capitale pour l'activité antioxydante. De plus, l'insaturation exocyclique n'apporte pas énormément à l'efficacité des composés. Des dérivés de structure plus simple tels que des α -hydroxyesters ou des acides tétroniques ont montré en règle générale de très bonnes activités, comparables, voire supérieures dans certains cas à celles des esters pulviniques.

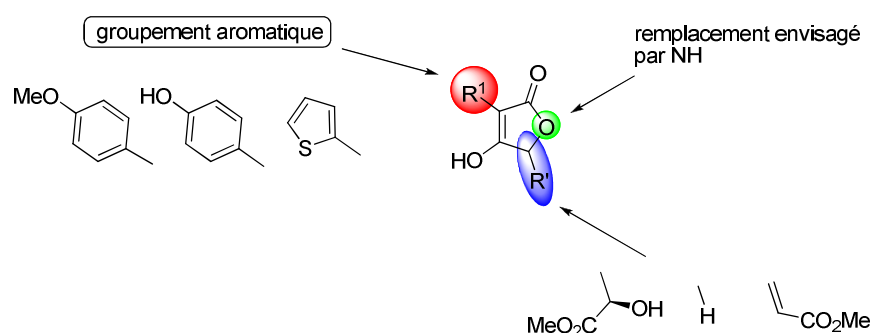


Figure 84

Par contre, le groupement R^1 présent sur la position 3 de la lactone doit être un noyau aromatique pour conduire à un produit ayant une bonne activité antioxydante. La présence

d'un groupement alkyle ou une fonction carbonylée en position 3 fait chuter significativement l'efficacité des composés. Un groupement aromatique est nécessaire afin de stabiliser suffisamment le radical formé sur la fonction énol de la lactone lors de la capture de radicaux libres. Les produits les plus actifs comportent des groupements 4-méthoxyphényle, 4-hydroxyphényle ou 2-thiényle.

Cependant, toutes les études envisagées sur les relations structure-activité n'ont pas pu être réalisées. Par exemple, l'influence du groupement 4-fluorophényle en position 3 n'a pas été clairement définie. De plus, les évaluations antioxydantes n'ont pas été réalisées jusqu'à présent sur les pulvinones et les acides pulviniques azotés. Des travaux supplémentaires devront donc être réalisés afin de compléter notre étude.

Les premiers résultats obtenus sur l'activité radioprotectrice de cellules TK6 sont plutôt encourageants. Les expériences menées ont permis de révéler une bonne efficacité de protection de quatre composés contre les rayonnements ionisants. Ces études de la radioprotection devront être également complétées lorsque les tests antioxydants supplémentaires auront été réalisés. De plus, les bons résultats devront être confirmés en répétant plusieurs fois la même expérience avant de pouvoir réaliser une étude de radioprotection sur souris.

Partie expérimentale : synthèses chimiques

Généralités

Les expériences sensibles à l'humidité et/ou à l'air ont été réalisées dans des montages secs (flambés sous vide) sous atmosphère d'azote séché sur chlorure de calcium et gel de silice ou sous atmosphère d'argon.

Les solvants anhydres sont achetés ou préparés par distillation sous azote en présence de leurs agents de dessiccation respectifs:

Solvant	Agent desséchant
THF	Sodium/benzophénone
CH ₂ Cl ₂	P ₂ O ₅

Chromatographie

Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les plaques utilisées sont de type Silice Merck 60 F-254, d'épaisseur 0,25 mm sur support de verre. Les révélations ont été effectuées par des rayonnements ultraviolets à 254 nm ou par pulvérisation de solutions éthanoliques à 5 % d'acide phosphomolybdique.

Chromatographie sur colonne de gel de silice

Les chromatographies ont été réalisées sous pression d'azote en utilisant du gel de silice Merck (granulométrie 40-63 µm). Pour certains produits, les purifications ont été effectuées à l'aide d'un *CombiFlash* Serlabo Rf75 avec des colonnes de gel de silice *RediSep*[®] Rf (granulométrie 35-60µm). Les éluants sont indiqués dans les modes opératoires.

Analyses

Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les spectres de RMN ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker Advanced 400. Les fréquences de résonance sont de 400,13 MHz pour le proton, 100,61 MHz pour le carbone.

Les déplacements chimiques sont exprimés en partie par million (ppm) par rapport au solvant de référence.

Solvant	δ (1H) en ppm	δ (13C) en ppm
acétone	2,05	29,84
chloroforme	7,26	77,16
méthanol	3,31	49,00
DMSO	2,50	39,52

La multiplicité des différents signaux est indiquée à l'aide des abréviations suivantes : s (singulet), bs (singulet large), d (doublet), t (triplet), m (massif), dd (doublet de doublets), q (quadruplet).

L'attribution des spectres ^{13}C a été réalisée à l'aide d'HMBC et d'HSQC.

Remarque : La numérotation utilisée pour la description des spectres RMN correspond à celle indiquée sur la structure du produit mais ne suit pas nécessairement les règles de nomenclature.

Spectre d'absorption Infrarouge (IR)

Les spectres ont été enregistrés sur un spectromètre PERKIN ELMER System 2000 FT-IR. Les échantillons liquides sont placés entre deux pastilles de NaCl. Une pastille de KBr est préparée pour les échantillons solides. Les nombres d'onde (ν) des bandes IR sont exprimés en cm^{-1} à leur maximum d'intensité.

Spectrométrie de masse (SM)

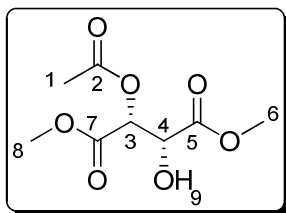
Les spectres ont été effectués sur un spectromètre MARINER ESI TOF (Perseptive Biosystems) en mode électrospray couplé au temps de vol (ESI-TOF).

Masse Exacte

Les spectres de masse à haute résolution ont été effectués en mode ESI-TOF par le Service de Spectrométrie de Masse de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles du CNRS à Gif-sur-Yvette.

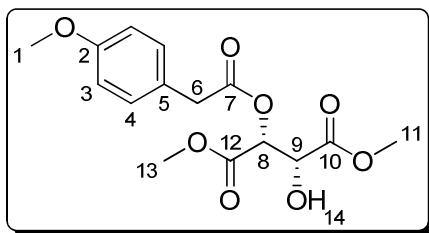
Point de fusion

Les points de fusion ont été mesurés en capillaire avec un appareil Büchi B-540.

103**(2R,3R)-2-Acétoxy-3-hydroxysuccinate de diméthyle****M** = 220.18 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₈H₁₂O₇**Solide blanc**

A une solution de L-tartrate de diméthyle (10 g, 56,1 mmol, 1 éq.) dans du THF fraîchement distillé (33 mL) sont ajoutés l'orthoacétate de triméthyle (14.3 mL, 112.3 mmol, 2 éq.) puis l'acide *p*-toluènesulfonique (321 mg, 1.7 mmol, 3 mol %). La réaction est agitée à t.a. pendant la nuit. Ensuite la réaction est concentrée sous vide puis traitée avec une solution aqueuse d'acide acétique à 80 % (50 mL) pendant 2 h. La solution est alors concentrée sous vide, puis le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (cyclohexane/EtOAc : 60/40) pour conduire à l'acétate **103** (11 g, 89 %) sous forme d'un solide blanc.

CCM : $R_f = 0.50$ (pentane/EtOAc : 1/1)**Point de fusion** : 81-82 °C**Pouvoir rotatoire** : $[\alpha]_D^{20} = -1.8$ (c 1, MeOH)**RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm)** δ = 5.45 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, H₃), 4.75 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, H₄), 3.82 (s, 6H, H₆-H₈), 3.12 (bs, 1H, H₉), 2.15 (s, 3H, H₁)**RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm)** δ = 171.2 (C₇), 169.8 (C₂), 167.2 (C₅), 73.0 (C₃), 70.6 (C₄), 53.4-53.0 (C₆-C₈), 20.5 (C₁)**IR (KBr, ν en cm⁻¹)** ν = 3495, 2998, 2965, 2930, 2856, 1763, 1726, 1452, 1375, 1351, 1279, 1127, 1078, 971, 956, 942, 886, 794, 702, 655, 606, 571**MS (ESI)** m/z $[M + Na]^+ = 243$ **HRMS (ESI)** calculé pour $[M + Na]^+$: 243.0481 ; mesuré : 243.0482

109a **(2R,3R)-2-Hydroxy-3-(2-(4-méthoxyphényl)acétoxy)succinate de diméthyle**

M = 326.30 g.mol⁻¹
Formule brute : C₁₅H₁₈O₈
Huile incolore

La 4-(diméthylamino)pyridine (2,74 g, 22,45 mmol, 0,4 éq.) et la dicyclohexyle carbodiimide (11,58 g, 56,13 mmol, 1 éq.) sont ajoutés simultanément à une solution à -18 °C de L-tartrate de diméthyle (10 g, 56,13 mmol, 1 éq.) et d'acide 4-méthoxyphénylacétique (9,33 g, 56,13 mmol, 1 éq.) dans du CH₂Cl₂ (400 mL) fraîchement distillé. La solution est agitée à température ambiante pendant 12 h. Le mélange obtenu est concentré sous vide jusqu'à environ 150 mL puis du Et₂O (300 mL) est ajouté et le précipité apparu est filtré. Le filtrat est ensuite lavé avec une solution saturée de NH₄Cl (3×100 mL), séché sur MgSO₄ et concentré. Le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (cyclohexane/EtOAc : 80/20 à 70/30) pour conduire au di-ester **113a** (4,6 g, 17 %) sous forme d'un solide blanc et au mono-ester **109a** (11,9 g, 65 %) sous forme d'une huile incolore.

*Les caractéristiques du di-ester **113a** sont indiquées plus loin.*

CCM : R_f = 0.48 (pentane/EtOAc : 1/1)

Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{20} = +29.8$ (c 1, MeOH)

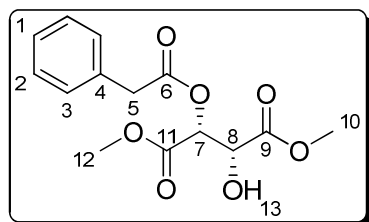
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.18 (d, 2H, J = 8.4 Hz, H₄), 6.86 (d, 2H, J = 8.4 Hz, H₃), 5.44 (d, 2H, J = 2.2 Hz, H₈), 4.74 (d, 2H, J = 2.2 Hz, H₉), 3.80 (s, 3H, H₁₁), 3.79 (s, 3H, H₁), 3.65 (s, 2H, H₆), 3.62 (s, 3H, H₁₂)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 170.9 (C₁₂), 170.6 (C₇), 167.0 (C₁₀), 158.8 (C₂), 130.4 (C₄), 125.3 (C₅), 114.1 (C₃), 73.1 (C₈), 70.4 (C₉), 55.3 (C₁), 53.1 (C₁₃), 52.9 (C₁₁), 39.8 (C₆)

IR (NaCl, ν en cm⁻¹) ν = 2500, 3008, 2957, 2841, 2361, 2341, 1747, 1613, 1586, 1514, 1436, 1360, 1247, 1135, 1070, 1030, 980, 860, 822, 792, 729, 638, 588, 569

MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 349

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 349.0899 ; mesuré : 349.0913

109b**(2R,3R)-2-Hydroxy-3-(2-phénylacétoxy)succinate de diméthyle****M** = 296.27 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₄H₁₆O₇**Solide blanc**

Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **109a**, l'acide phénylacétique (1,17 g, 8,59 mmol, 1 éq.) conduit au mono-ester **109b** (1,72 g, 67 %) sous forme d'un solide blanc.

CCM : $R_f = 0.55$ (cyclohexane/EtOAc : 1/1)

Point de fusion : 66-67 °C

Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{20} = +31.0$ (c 1, MeOH)

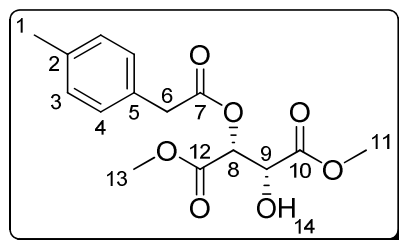
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.34-7.25 (m, 5H, H_{aromatiques}), 5.43 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz, H₇), 4.73 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz, H₈), 3.80 (s, 3H, H₁₀), 3.71 (s, 2H, H₅), 3.56 (s, 3H, H₁₂)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 170.9 (C₁₁), 170.3 (C₆), 167.0 (C₉), 133.2 (C₄), 129.3 (C₃), 128.7 (C₂), 127.4 (C₁), 73.2 (C₇), 70.5 (C₈), 53.1 (C₁₂), 53.0 (C₁₀), 40.9 (C₅)

IR (NaCl, ν en cm⁻¹) ν = 3491, 3032, 2957, 2852, 1747, 1454, 1438, 1216, 1138, 1068, 979, 727

MS (ESI) m/z $[M + Na]^+ = 319$

HRMS (ESI) calculé pour $[M + Na]^+ : 319.0794$; mesuré : 319.0799

109c **(2*R*,3*R*)-2-Hydroxy-3-(2-*para*-tolylacétoxy)succinate de diméthyle****M** = 310.30 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₅H₁₈O₇**Huile incolore**

Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **109a**, l'acide 4-tolylacétique (843 mg, 5,61 mmol, 1 éq.) conduit au mono-ester **109c** (1 g, 57 %) sous forme d'une huile incolore.

CCM : $R_f = 0.20$ (cyclohexane/EtOAc : 7/3)

Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{20} = +36$ (*c* 0.2, MeOH)

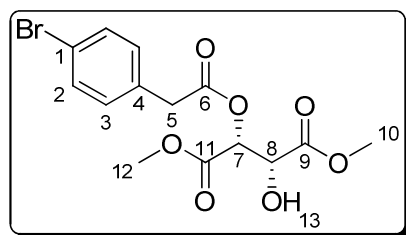
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.16-7.11 (m, 4H, H₃-H₄), 5.43 (d, 1H, *J* = 2.3 Hz, H₈), 4.73 (d, 1H, *J* = 2.3 Hz, H₉), 3.79 (s, 3H, H₁₁), 3.67 (s, 2H, H₆), 3.59 (s, 3H, H₁₃), 3.21 (bs, 1H, H₁₄), 2.31 (s, 3H, H₁)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 171.0 (C₁₂), 170.6 (C₇), 167.0 (C₁₀), 137.0 (C₂), 130.1 (C₅), 129.4-129.2 (C₃-C₄), 73.2 (C₈), 70.5 (C₉), 53.1 (C₁₃), 53.0 (C₁₁), 40.4 (C₆), 21.1 (C₁)

IR (NaCl, ν en cm⁻¹) ν = 3494, 3008, 2956, 2926, 2857, 1748, 1516, 1438, 1359, 1251, 1223, 1137, 1070, 979, 795, 727, 705

MS (ESI) *m/z* [M + Na]⁺ = 333

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 333.0950 ; mesuré : 333.0944

109d**(2*R*,3*R*)-2-(2-(4-Bromophényl)acétoxy)-3-hydroxysuccinate de diméthyle****M** = 375.17 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₄H₁₅BrO₇**Huile incolore**

Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **109a**, l'acide 4-bromophénylacétique (6,04 g, 28,07 mmol, 1 éq.) conduit au mono-ester **109d** (6,25 g, 59 %) sous forme d'une huile incolore.

CCM : $R_f = 0.45$ (cyclohexane/EtOAc : 1/1)**Pouvoir rotatoire** : $[\alpha]_D^{20} = +128.0$ (c 1, MeOH)

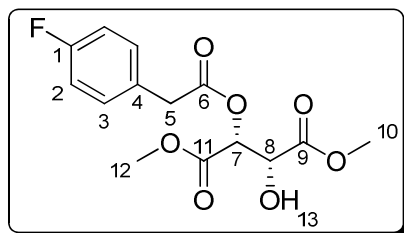
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.45 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, H₂), 7.13 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, H₃), 5.43 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz, H₇), 4.74 (dd, 1H, $J = 7.0, 2.2$ Hz, H₈), 3.80 (s, 3H, H₁₀), 3.66 (s, 2H, H₅), 3.63 (s, 3H, H₁₂), 3.16 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz, H₁₃)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 171.0 (C₁₁), 169.9 (C₆), 166.9 (C₉), 132.2 (C₁), 131.9 (C₃), 131.2 (C₄), 121.6 (C₂), 73.4 (C₇), 70.5 (C₈), 53.3 (C₁₂), 53.1 (C₁₀), 40.3 (C₅)

IR (NaCl, ν en cm⁻¹) ν = 3493, 3007, 2956, 2852, 1748, 1490, 1438, 1359, 1217, 1140, 1071, 1013, 979, 805

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 375, 377

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ C₁₄H₁₅O₇Na⁷⁹Br : 396.9899 ; mesuré : 396.9897
C₁₄H₁₅O₇Na⁸¹Br : 398.9878 ; mesuré : 398.9878

109e **(2*R*,3*R*)-2-(2-(4-Fluorophényl)acétoxy)-3-hydroxysuccinate de diméthyle****M** = 314.26 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₄H₁₅FO₇**Huile incolore**

Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **109a**, l'acide 4-fluorophénylacétique (865 mg, 5,61 mmol, 1 éq.) conduit au mono-ester **109e** (1,04 g, 58 %) sous forme d'une huile incolore.

CCM : $R_f = 0.20$ (cyclohexane/EtOAc : 7/3)

Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{20} = +51$ (c 0.1, MeOH)

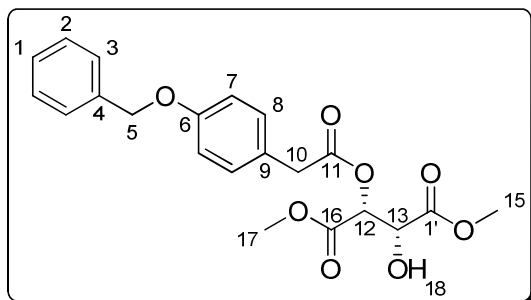
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.23 (dd, 2H, $J = 8.6, 5.4$ Hz, H₃), 7.00 (t, 2H, $J = 8.6$ Hz, H₂), 5.42 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, H₇), 4.74 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, H₈), 3.79 (s, 3H, H₁₀), 3.67 (s, 2H, H₅), 3.61 (s, 3H, H₁₂), 3.26 (bs, 1H, H₁₃)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 171.0 (C₁₁), 170.2 (C₆), 166.9 (C₉), 162.2 (d, $J = 246.1$ Hz, C₁), 131.0 (d, $J = 8.6$ Hz, C₃), 129.0 (d, $J = 3.8$ Hz, C₄), 115.6 (d, $J = 21.4$ Hz, C₂), 73.3 (C₇), 70.4 (C₈), 53.2 (C₁₂), 53.0 (C₁₀), 39.9 (C₅)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3492, 3010, 2958, 2853, 1747, 1605, 1511, 1438, 1360, 1222, 1139, 1069, 979, 863, 827, 803, 731, 704

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 315

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 337.0700 ; mesuré : 337.0695

109f **(2*R*,3*R*)-2-(2-(4-(Benzyloxy)phényl)acétoxy)-3-hydroxysuccinate de diméthyle**

M = 402.39 g.mol⁻¹
Formule brute : C₂₁H₂₂O₈
Solide blanc

Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **109a**, l'acide **112f** (1,36 g, 5,62 mmol, 1 éq.) conduit au mono-ester **109f** (1,41 g, 62 %) sous forme d'un solide blanc.

CCM R_f = 0.40 (cyclohexane/EtOAc : 1/1)

Point de fusion : 86-87 °C

Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{20} = +43$ (*c* 0.1, MeOH)

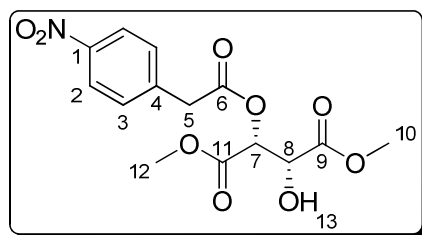
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.43-7.30 (m, 5H, H₁-H₂-H₃), 7.17 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, H₈), 6.93 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, H₇), 5.43 (d, 1H, *J* = 2.2 Hz, H₁₂), 5.06 (s, 2H, H₅), 4.74 (dd, 1H, *J* = 7.3, 2.2 Hz, H₁₃), 3.80 (s, 3H, H₁₅), 3.65 (s, 2H, H₁₀), 3.56 (s, 3H, H₁₇), 3.17 (d, 1H, *J* = 7.3 Hz, H₁₈)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 171.0 (C₁₆), 170.7 (C₁₂), 167.1 (C₁₄), 158.1 (C₆), 137.0 (C₄), 130.5 (C₈), 128.7 (C₂), 128.1 (C₁), 127.5 (C₃), 125.6 (C₉), 115.2 (C₇), 73.2 (C₁₂), 70.5 (C₁₃), 70.1 (C₅), 53.2 (C₁₇), 53.0 (C₁₅), 40.0 (C₁₀)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3496, 3040, 3000, 2957, 2932, 2875, 2853, 1768, 1748, 1728, 1611, 1583, 1512, 1441, 1384, 1348, 1306, 1266, 1243, 1213, 1178, 1140, 1065, 1009, 970, 734, 699

MS (ESI) *m/z* [M + H]⁺ = 403

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 425.1212 ; mesuré : 425.1221

109g (2*R*,3*R*)-2-Hydroxy-3-(2-(4-nitrophényl)acétoxy)succinate de diméthyle

$$M = 341.27 \text{ g.mol}^{-1}$$

Formule brute : C₁₄H₁₅NO₉

Solide blanc

Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **109a**, l'acide 4-nitrophénylacétique (3,05 g, 16,84 mmol, 1 éq.) conduit au di-ester **113g** (1,91 g, 22 %) sous forme d'un solide blanc et au mono-ester **109g** (2,18 g, 38 %) sous forme d'un solide blanc.

Les caractéristiques du di-ester 113g sont indiquées plus loin.

CCM : $R_f = 0.30$ (cyclohexane/EtOAc : 1/1)

Point de fusion : 102-103 °C

Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{20} = +17.4$ (c 1, MeOH)

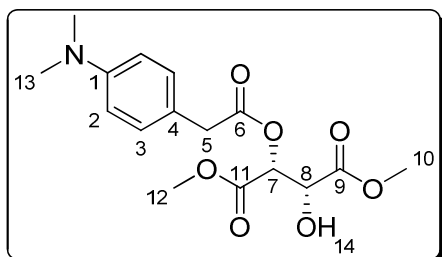
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 8.18 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, H₂), 7.46 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, H₃), 5.45 (s, 1H, H₇), 4.75 (s, 1H, H₈), 3.83 (s, 2H, H₅), 3.79 (s, 3H, H₁₀), 3.68 (s, 3H, H₁₂), 3.26 (s, 1H, H₁₃)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 171.0 (C₁₁), 169.1 (C₆), 166.7 (C₉), 147.4 (C₁), 140.5 (C₄), 130.5 (C₃), 123.9 (C₂), 73.5 (C₇), 70.4 (C₈), 53.3 (C₁₂), 53.1 (C₁₀), 40.4 (C₅)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3536, 3328, 3113, 3077, 3018, 2962, 2853, 1749, 1608, 1599, 1521, 1433, 1349, 1299, 1253, 1136, 1108, 1061, 974, 872, 859, 767, 732, 690, 666, 574

MS (ESI) m/z $[M + H]^+ = 342$

HRMS (ESI) calculé pour $[M + Na]^+$: 364.0645 ; mesuré : 364.0652

109h**(2*R*,3*R*)-2-(2-(4-(Diméthylamino)phényl)acétoxy)-3-hydroxysuccinate de diméthyle****M** = 339.34 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₆H₂₁NO₇**Solide blanc**

Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **109a**, l'acide 4-(diméthylamino)phénylacétique (1 g, 5,61 mmol, 1 équ.) conduit au mono-ester **109h** (1,22 g, 64 %) sous forme d'un solide blanc.

CCM $R_f = 0.20$ (cyclohexane/EtOAc : 1/1)

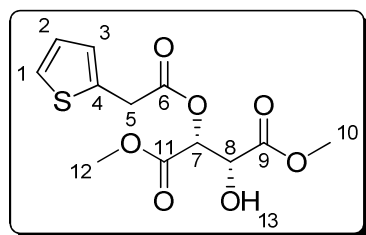
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.12 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, H₂), 6.69 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, H₃), 5.43 (s, 1H, H₇), 4.73 (s, 1H, H₈), 3.80 (s, 3H, H₁₀), 3.60 (s, 5H, H₅-H₁₂), 3.18 (s, 1H, H₁₄), 2.91 (s, 6H, H₁₃)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 171.0 (C₆-C₁₁), 167.2 (C₉), 150.0 (C₄), 130.0 (C₂), 121.0 (C₁), 112.9 (C₃), 73.1 (C₇), 70.6 (C₈), 53.2 (C₁₂), 53.0 (C₁₀), 40.8 (C₁₃), 39.9 (C₅)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3479, 3004, 2957, 2918, 2813, 1762, 1725, 1619, 1528, 1451, 1357, 1295, 1253, 1199, 1136, 1068, 977, 944, 860, 800, 750, 712, 697, 592

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 340

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 362.1216 ; mesuré : 362.1216

109i**(2*R*,3*R*)-2-Hydroxy-3-(2-(2-thiényl)acétoxy)succinate de diméthyle****M** = 302.30 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₂H₁₄O₇S**Huile incolore**

Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **109a**, l'acide 2-thiénylacétique (798 mg, 5,62 mmol, 1 éq.) conduit au mono-ester **109i** (946 mg, 55 %) sous forme d'une huile incolore.

CCM : $R_f = 0.45$ (cyclohexane/EtOAc : 1/1)

Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{20} = +120.6$ (c 0.1, MeOH)

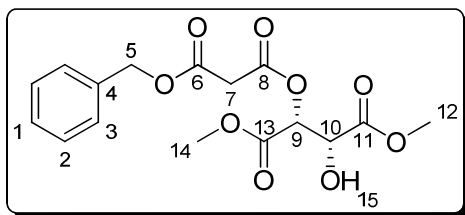
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.23-7.21 (m, 1H, H₂), 6.97-6.95 (m, 2H, H₁-H₃), 5.46 (s, 1H, H₇), 4.75 (s, 1H, H₈), 3.95 (d, 1H, $J = 16.4$ Hz, H₅), 3.91 (d, 1H, $J = 16.4$ Hz, H_{5'}), 3.81 (s, 3H, H₁₀), 3.68 (s, 3H, H₁₂), 3.20 (s, 1H, H₁₃)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 171.0 (C₁₁), 169.3 (C₆), 166.9 (C₉), 134.0 (C₄), 127.4 (C₃), 127.1 (C₁), 125.4 (C₂), 73.5 (C₇), 70.5 (C₈), 53.3 (C₁₂), 53.1 (C₁₀), 35.0 (C₅)

IR (NaCl, ν en cm⁻¹) ν = 3492, 3330, 3111, 3007, 2956, 2928, 2850, 1749, 1624, 1578, 1535, 1438, 1407, 1357, 1267, 1225, 1160, 1140, 1067, 979, 706

MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 325

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 325.0358 ; mesuré : 325.0354

109j**(2R,3R)-2-(3-(Benzyloxy)-3-oxopropanoyloxy)-3-hydroxysuccinate de diméthyle****M** = 354.31 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₆H₁₈O₉**Huile jaune pâle**

Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **109a**, l'acide **112j** (4,73 g, 24,4 mmol, 1 équ.) conduit au di-ester **113j** (2,22 g, 17 %) sous forme d'une huile jaune pâle et au mono-ester **109j** (3,26 g, 40 %) sous forme d'une huile jaune pâle.

Les caractéristiques du di-ester 113j sont indiquées plus loin.

CCM $R_f = 0.45$ (CH₂Cl₂/MeOH : 94/6)

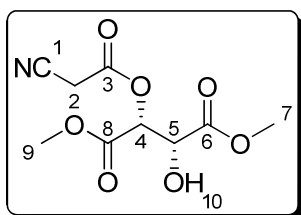
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.35-7.33 (m, 5H, H_{aromatiques}), 5.52 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz, H₉), 5.16 (s, 2H, H₅), 4.76 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz, H₁₀), 3.81 (s, 3H, H₁₂), 3.78 (s, 3H, H₁₄), 3.53 (s, 2H, H₇), 3.19 (bs, 1H, H₁₅)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 171.1 (C₁₁), 166.8 (C₈), 166.0 (C₆), 165.5 (C₁₃), 135.4 (C₄), 129.0 (C₂), 128.9 (C₁), 128.7 (C₃), 73.9 (C₉), 70.7 (C₁₀), 67.8 (C₅), 53.7 (C₁₄), 53.3 (C₁₂), 41.2 (C₇)

IR (NaCl, ν en cm⁻¹) ν = 1746, 1439, 1269, 1215, 1140, 1069, 985, 751, 700

MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 377

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 377.0849 ; mesuré : 377.0853

109k (2*R*,3*R*)-2-(2-Cyanoacétoxy)-3-hydroxysuccinate de diméthyle

M = 245.19 g.mol⁻¹
Formule brute : C₉H₁₁NO₇
Huile incolore

Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **109a**, l'acide cyanoacétique (1,9 g, 22,4 mmol, 1 éq.) conduit au mono-ester **109k** (2,1 g, 38 %) sous forme d'une huile incolore.

CCM : $R_f = 0.30$ (cyclohexane/EtOAc : 8/2)

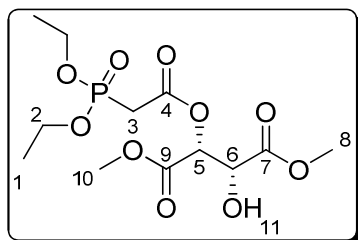
RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 5.50 (d, 1H, $J = 2.8$ Hz, H₄), 5.05 (d, 1H, $J = 7.2$ Hz, H₁₀), 4.82 (dd, 1H, $J = 7.2, 2.8$ Hz, H₅), 3.97 (s, 1H, H₂), 3.96 (s, 1H, H_{2'}), 3.75 (s, 3H, H₉), 3.61 (s, 3H, H₇)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 171.1 (C₆), 167.2 (C₃), 164.5 (C₈), 114.2 (C₁), 75.7 (C₄), 71.2 (C₅), 53.1 (C₉), 53.0 (C₇), 24.3 (C₂)

IR (NaCl, ν en cm⁻¹) ν = 3488, 2962, 2933, 2855, 2265, 1756, 1628, 1440, 1363, 1272, 1179, 1066, 985, 933, 893, 868, 733, 701, 581

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 246

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 268.0433 ; mesuré : 268.0426

1091**(2*R*,3*R*)-2-(2-(Diéthoxyphosphoryl)acétoxy)-3-hydroxysuccinate de diméthyle****M** = 356.26 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₂H₂₁O₁₀P**Huile incolore**

Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **109a**, l'acide diéthylphosphonoacétique (1,8 mL, 11,2 mmol, 1 éq.) conduit au mono-ester **1091** (1,5 g, 38 %) sous forme d'une huile incolore.

CCM : $R_f = 0.33$ (EtOAc/MeOH : 96/4)

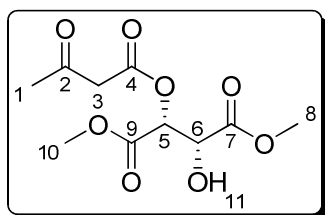
RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 5.46 (d, 1H, $J = 2.8$ Hz, H₅), 4.99 (d, 1H, $J = 7.2$ Hz, H₁₁), 4.77 (dd, 1H, $J = 7.2, 2.8$ Hz, H₆), 4.17-4.09 (m, 4H, H₂), 3.77 (s, 3H, H₁₀), 3.76 (s, 2H, H₈), 3.12 (dd, 1H, $J = 35.6, 14.4$ Hz, H₃), 3.06 (dd, 1H, $J = 35.6, 14.4$ Hz, H_{3'}), 1.33-1.28 (m, 6H, H₁)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 171.3 (C₇), 167.7 (C₉), 165.8 (d, $J = 6.0$ Hz, C₄), 74.9 (C₅), 71.4 (C₆), 63.2 (t, $J = 7.0$ Hz, C₂), 53.0 (C₁₀), 52.9 (C₈), 34.8 (d, $J = 129.0$ Hz, C₃), 16.9 (d, $J = 6.0$ Hz, C₁)

IR (NaCl, ν en cm⁻¹) ν = 3423, 2988, 2960, 1749, 1639, 1439, 1397, 1358, 1260, 1142, 1120, 1050, 1023, 978, 839, 794, 623

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 357

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 379.0770 ; mesuré : 379.0764

109m (2*R*,3*R*)-2Hydroxy-3-(3-oxobutanoyloxy)succinate de diméthyleM = 262.21 g.mol⁻¹Formule brute : C₁₀H₁₄O₈

Huile orange

La 2,2,6-triméthyl-1,3-dioxin-4-one (7,4 mL, 56,2 mmol, 1 éq.) est ajoutée à une solution de L-tartrate de diméthyle (10 g, 56,2 mmol, 1 éq.) dans du *para*-xylène (20 mL) sous argon. Le mélange est porté à reflux pendant 1,5 h, refroidi à t.a., puis concentré. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (CH₂Cl₂/MeOH : 100/0 puis 96/4) pour conduire au di-ester **113m** (4,3 g, 22 %) sous forme d'une huile orange pâle et au mono-ester **109m** (8,1 g, 55 %) sous forme d'une huile orange.

Les caractéristiques du di-ester **113m** sont indiquées plus loin.

CCM $R_f = 0.55$ (CH₂Cl₂/MeOH : 94/6)

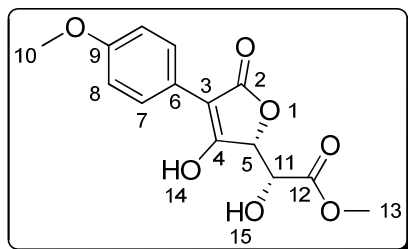
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 5.51 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz, H₅), 4.77 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz, H₆), 3.85 (s, 3H, H₈), 3.82 (s, 3H, H₁₀), 3.55 (s, 2H, H₃), 2.26 (s, 3H, H₁)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 199.8 (C₂), 172.3 (C₇), 171.2 (C₄), 167.0 (C₉), 73.8 (C₅), 70.7 (C₆), 53.8 (C₁₀), 53.5 (C₈), 49.8 (C₃), 30.5 (C₁)

IR (NaCl, ν en cm⁻¹) ν = 3487, 2960, 2854, 1751, 1630, 1439, 1363, 1266, 1140, 1073, 978, 948, 866, 701, 597

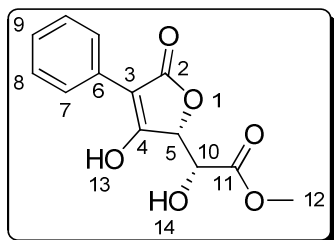
MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 285

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 285.0586 ; mesuré : 285.0577

110a**(R)-2-Hydroxy-2-((R)-3-hydroxy-4-(4-méthoxyphényl)-5-oxo-2,5-dihydrofuran-2-yl)acétate de méthyle****M** = 294.26 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₄H₁₄O₇**Solide jaune pâle**

Une solution du mono-ester **109a** (11,9 g, 36,47 mmol, 1 éq.) dans du THF fraîchement distillé (120 mL) est ajoutée à une solution à -78 °C de LiHMDS (109 mL, 1M dans du THF) dans du THF fraîchement distillé (220 mL) sous azote. La réaction est agitée 1 h à -78 °C, puis laissée remonter à t.a. pendant 2 h. Le mélange obtenu est refroidi dans un bain de glace et traité avec une solution aqueuse de HCl 2N (140 mL). Les deux phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite avec de l'EtOAc (2×200 mL), les phases organiques réunies sont séchées sur MgSO₄ puis concentrées. L' α -hydroxyester **110a** est obtenu (10,7 g) sous forme d'un solide jaune pâle qui est engagé dans la réaction suivante sans purification.

CCM : $R_f = 0.34$ (CH₂Cl₂/MeOH : 9/1)**Point de fusion** : 179-181 °C**Pouvoir rotatoire** : $[\alpha]_D^{20} = +132.9$ (c 1, MeOH)**RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm)** $\delta = 7.87$ (d, 2H, $J = 9.0$ Hz, H₇), 6.94 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz, H₈), 5.27 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, H₅), 4.79 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, H₁₁), 3.82 (s, 3H, H₁₃), 3.80 (s, 3H, H₁₀)**RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm)** $\delta = 172.4$ (C₂), 172.3 (C₁₂), 170.5 (C₄), 159.6 (C₉), 129.5 (C₇), 123.6 (C₆), 114.3 (C₈), 102.7 (C₃), 78.6 (C₅), 69.7 (C₁₁), 55.5 (C₁₀), 52.9 (C₁₃)**IR (KBr, ν en cm⁻¹)** $\nu = 3324, 3016, 2957, 2843, 2645, 1747, 1696, 1637, 1613, 1517, 1447, 1428, 1391, 1312, 1294, 1259, 1213, 1125, 1032, 992, 832, 628$ **MS (ESI)** m/z [M + H]⁺ = 295**HRMS (ESI)** calculé pour [M + Na]⁺ : 317.0637 ; mesuré : 317.0633

110b **(R)-2-Hydroxy-2-((R)-3-hydroxy-5-oxo-4-phényl-2,5-dihydrofuran-2-yl)acétate de méthyle**

M = 264.23 g.mol⁻¹
Formule brute : C₁₃H₁₂O₆
Solide blanc

Une solution du mono-ester **109b** (1,62 g, 5,47 mmol, 1 éq.) dans du THF fraîchement distillé (18 mL) est ajoutée à une solution à -78 °C de LiHMDS (19,1 mL, 1M dans du THF, 3,5 éq.) dans du THF fraîchement distillé (32 mL) sous azote. La réaction est agitée 1 h à -78 °C, puis laissée remonter à t.a. pendant 2 h. Le mélange obtenu est refroidi dans un bain de glace et traité avec une solution aqueuse de HCl 2N (40 mL). Les deux phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite avec de l'EtOAc (120 mL), la phase organique est séchée sur MgSO₄ puis concentrée. Le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (CH₂Cl₂/MeOH/AcOH : 89/10/1) pour conduire à l' α -hydroxyester **110b** (858 mg, 59 %) sous forme d'un solide blanc.

CCM : $R_f = 0.25$ (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)

Point de fusion : 188-190 °C

Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{20} = +150.4$ (c 1, MeOH)

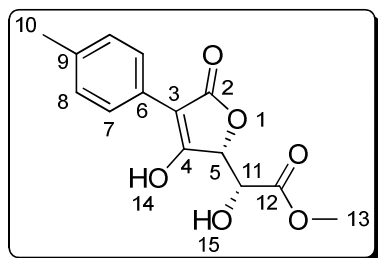
RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 7.93$ (d, 2H, $J = 7.4$ Hz, H₇), 7.37 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, H₈), 7.26 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, H₉), 5.31 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, H₅), 4.81 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, H₁₀), 3.82 (s, 3H, H₁₂)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 172.2$ (C₄-C₂), 172.0 (C₁₁), 131.2 (C₆), 128.8 (C₈), 128.2 (C₇), 127.8 (C₉), 102.8 (C₃), 78.6 (C₅), 69.6 (C₁₀), 52.9 (C₁₂)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) $\nu = 3294, 3058, 3023, 2956, 2761, 1760, 1736, 1667, 1599, 1499, 1424, 1328, 1256, 1238, 1168, 1128, 1058, 1013, 883, 833, 765, 753, 699, 682$

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 265

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 287.0532 ; mesuré : 287.0530

110c**(R)-2-Hydroxy-2-((R)-3-hydroxy-5-oxo-4-p-tolyl-2,5-dihydrofuran-2-yl)acétate de méthyle****M** = 278.26 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₄H₁₄O₆**Solide jaune pâle**

Selon la procédure représentative de la cyclisation de Dieckmann par le LiHMDS décrite pour **110b**, le mono-ester **109c** (970 mg, 3,13 mmol, 1 éq.) conduit à l' α -hydroxyester **110c** (611 mg, 70 %) sous forme d'un solide jaune pâle.

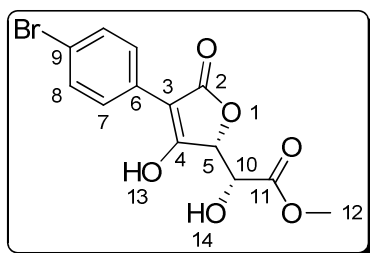
CCM : $R_f = 0.30$ (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)**Point de fusion** : 194-196 °C**Pouvoir rotatoire** : $[\alpha]_D^{20} = +147$ (*c* 0.1, MeOH)

RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 7.81$ (d, 2H, $J = 8.2$ Hz, H₇), 7.19 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz, H₈), 5.30 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, H₅), 4.80 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, H₁₁), 3.81 (s, 3H, H₁₃), 2.32 (s, 3H, H₁₀)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 172.2$ (C₁₂-C₄), 171.0 (C₂), 137.4 (C₉), 129.5 (C₈), 128.2 (C₆), 128.1 (C₇), 103.0 (C₃), 78.5 (C₅), 69.5 (C₁₁), 52.9 (C₁₃), 21.2 (C₁₀)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) $\nu = 3534, 3459, 3183, 3035, 2982, 2954, 2917, 1768, 1743, 1714, 1668, 1518, 1419, 1389, 1341, 1311, 1268, 1215, 1146, 1131, 1040, 1006, 971, 824, 803, 782, 762, 706, 692, 588$

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 279**HRMS (ESI)** calculé pour [M + Na]⁺ : 301.0688 ; mesuré : 301.0694

110d**(R)-2-((R)-4-(4-Bromophényl)-3-hydroxy-5-oxo-2,5-dihydrofuran-2-yl)-2-hydroxyacétate de méthyle****M** = 343.13 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₃H₁₁BrO₆**Solide blanc**

Selon la procédure représentative de la cyclisation de Dieckmann par le LiHMDS décrite pour **110b**, le mono-ester **109d** (5,8 g, 15,47 mmol, 1 éq.) conduit à l' α -hydroxyester **110d** (4,2 g, 79 %) sous forme d'un solide blanc.

CCM : $R_f = 0.40$ (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)**Point de fusion** : 156-158 °C**Pouvoir rotatoire** : $[\alpha]_D^{20} = +14.0$ (*c* 1, MeOH)

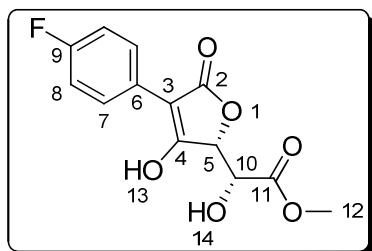
RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 7.98$ (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, H₈), 7.54 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, H₇), 5.30 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, H₅), 4.88 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, H₁₀), 3.81 (s, 3H, H₁₂)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 174.3$ (C₂), 172.5 (C₁₁), 172.3 (C₄), 131.8 (C₇), 131.1 (C₆), 129.5 (C₈), 120.5 (C₉), 100.5 (C₃), 78.9 (C₅), 69.6 (C₁₀), 52.9 (C₁₂)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) $\nu = 3183, 2960, 2901, 1755, 1708, 1648, 1493, 1414, 1387, 1267, 1227, 1120, 1059, 991, 823, 672$

MS (ESI) m/z [M - H]⁻ = 340, 342

HRMS (ESI) calculé pour [M - H]⁻ C₁₃H₁₀O₆⁷⁹Br : 340.9661 ; mesuré : 340.9660
C₁₃H₁₀O₆⁸¹Br : 342.9640 ; mesuré : 342.9645

110e**(R)-2-((R)-4-(4-Fluorophényl)-3-hydroxy-5-oxo-2,5-dihydrofuran-2-yl)-2-hydroxyacétate de méthyle****M** = 282.22 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₃H₁₁FO₆**Solide blanc cassé**

Selon la procédure représentative de la cyclisation de Dieckmann par le LiHMDS décrite pour **110b**, le mono-ester **109e** (870 mg, 2,77 mmol, 1 éq.) conduit à l' α -hydroxyester **110e** (431 mg, 55 %) sous forme d'un solide blanc cassé.

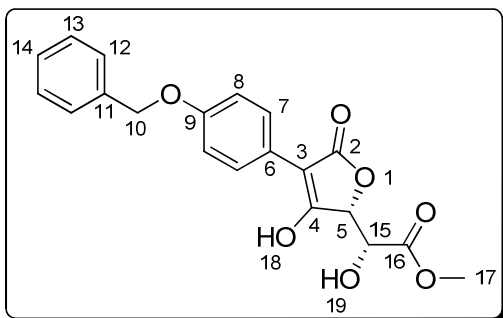
CCM : $R_f = 0.25$ (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)**Point de fusion** : 205-206 °C**Pouvoir rotatoire** : $[\alpha]_D^{20} = +141$ (*c* 0.1, MeOH)

RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 11.2$ (bs, 1H, H₁₃), 7.99 (dd, 2H, *J* = 9.0, 5.7 Hz, H₇), 7.15 (t, 2H, *J* = 9.0 Hz, H₈), 5.33 (d, 1H, *J* = 1.8 Hz, H₅), 4.81 (d, 1H, *J* = 1.8 Hz, H₁₀), 3.82 (s, 3H, H₁₂), 3.38 (bs, 1H, H₁₄)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 172.2$ (C₁₁), 172.1 (C₄), 171.7 (C₂), 162.4 (d, *J* = 244.4 Hz, C₉), 130.0 (d, *J* = 8.2 Hz, C₇), 127.5 (d, *J* = 3.4 Hz, C₆), 115.6 (d, *J* = 21.2 Hz, C₈), 102.0 (C₃), 78.6 (C₅), 69.6 (C₁₀), 52.9 (C₁₂)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) $\nu = 3382, 3183, 2962, 2931, 1746, 1703, 1673, 1514, 1446, 1422, 1388, 1325, 1233, 1163, 1152, 1060, 1038, 987, 841, 793, 698, 585, 512$

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 283**HRMS (ESI)** calculé pour [M + Na]⁺ : 305.0437 ; mesuré : 305.0439

110f **(R)-2-((R)-4-(4-(Benzyloxy)phényl)-3-hydroxy-5-oxo-2,5-dihydrofuran-2-yl)-2-hydroxyacétate de méthyle**

M = 370.36 g.mol⁻¹
Formule brute : C₂₀H₁₈O₇
Solide brun

Selon la procédure représentative de la cyclisation de Dieckmann par le LiHMDS décrite pour **110b**, le mono-ester **109f** (1,35 g, 3,35 mmol, 1 éq.) conduit à l' α -hydroxyester **110f** (527 mg, 42 %) sous forme d'un solide brun.

CCM R_f = 0.40 (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)

Point de fusion : 177-179 °C

Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{20} = +87$ (c 0.1, MeOH)

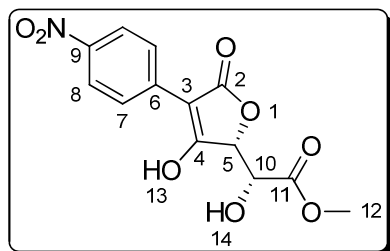
RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 7.89 (d, 2H, J = 9.1 Hz, H₇), 7.49 (d, 2H, J = 7.3 Hz, H₁₂), 7.39 (t, 2H, J = 7.3 Hz, H₁₃), 7.32 (t, 1H, J = 7.3 Hz, H₁₄), 7.03 (d, 2H, J = 9.1 Hz, H₈), 5.30 (d, 1H, J = 1.9 Hz, H₅), 5.15 (s, 2H, H₁₀), 4.84 (d, 1H, J = 1.9 Hz, H₁₅), 3.82 (s, 3H, H₁₇)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 172.3 (C₁₆), 172.2 (C₄), 170.4 (C₂), 158.6 (C₉), 138.4 (C₁₁), 129.4 (C₇), 129.3 (C₁₃), 128.6 (C₁₄), 128.4 (C₁₂), 123.8 (C₆), 115.2 (C₈), 102.5 (C₃), 78.5 (C₅), 70.3 (C₁₀), 69.5 (C₁₅), 52.9 (C₁₇)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3204, 2959, 2887, 1757, 1709, 1652, 1609, 1516, 1455, 1429, 1393, 1292, 1256, 1229, 1122, 1060, 1044, 992, 837, 821, 734, 696, 520

MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 393

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 393.0950 ; mesuré : 393.0962

110g**(R)-2-Hydroxy-2-((R)-3-hydroxy-4-(4-nitrophényl)-5-oxo-2,5-dihydrofuran-2-yl)acétate de méthyle**

$$M = 309.23 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

Formule brute : $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{NO}_8$

Solide jaune

Une solution du mono-ester **109g** (1,72 g, 5,04 mmol, 1 éq.) dans du THF fraîchement distillé (15 mL) est traitée avec du fluorure de tétrabutylammonium (7,56 mL, 1M dans le THF, 1,5 éq.) puis la solution est agitée à t.a. pendant la nuit. Une solution aqueuse de HCl 6N est ajoutée ainsi que de l'Et₂O (100 mL), la phase organique est ensuite lavée avec une solution aqueuse de HCl 6N (3×100 mL), séchée sur MgSO₄, puis concentrée sous vide. Le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (CH₂Cl₂/MeOH : 95/5 puis 80/20) pour conduire à l' α -hydroxyester **110g** (963 mg, 58 %) sous forme d'un solide jaune.

CCM $R_f = 0.30$ (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)

Point de fusion : décomposition à 190 °C

Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{20} = +181$ (c 0.1, MeOH)

RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 8.40$ (d, 2H, $J = 9.1$ Hz, H₈), 8.21 (d, 2H, $J = 9.1$ Hz, H₇), 5.31 (s, 1H, H₅), 4.98 (s, 1H, H₁₀), 3.80 (s, 3H, H₁₂)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 179.6$ (C₂), 173.0 (C₄), 172.4 (C₁₁), 145.9 (C₆), 139.9 (C₉), 127.2 (C₈), 124.0 (C₇), 98.3 (C₃), 79.4 (C₁₀), 69.9 (C₅), 52.9 (C₁₂)

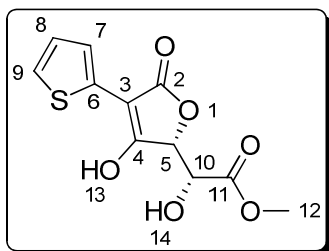
IR (KBr, ν en cm⁻¹) $\nu = 3411, 2959, 2362, 1745, 1661, 1596, 1509, 1440, 1400, 1336, 1239, 1127, 986, 857, 695$

MS (ESI) m/z $[M - H]^- = 307$

HRMS (ESI) calculé pour $[M - H]^-$: 308.0406 ; mesuré : 308.0398

110i

(R)-2-Hydroxy-2-((R)-3-hydroxy-5-oxo-4-(2-thiényl)-2,5-dihydrofuran-2-yl)acétate de méthyle



M = 270.26 g.mol⁻¹

Formule brute : C₁₁H₁₀O₆S

Solide vert foncé

Selon la procédure représentative de la cyclisation de Dieckmann par le LiHMDS décrite pour **110b**, le mono-ester **109i** (820 mg, 2,71 mmol, 1 éq.) conduit à l' α -hydroxyester **110i** (400 mg, 54 %) sous forme d'un solide vert foncé.

CCM : $R_f = 0.40$ (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)

Point de fusion : 149-150 °C

Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{20} = +106$ (*c* 0.1, MeOH)

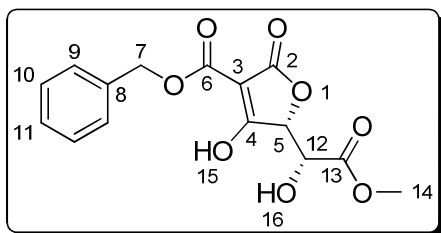
RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 7.66$ (dd, 1H, *J* = 3.6, 1.2 Hz, H₇), 7.40 (dd, 1H, *J* = 5.2 Hz, 1.2 Hz, H₉), 7.08 (dd, 1H, *J* = 5.2, 3.6 Hz, H₈), 5.42 (d, 1H, *J* = 1.8 Hz, H₅), 5.00 (d, 1H, *J* = 1.8 Hz, H₁₀), 3.81 (s, 3H, H₁₁), 3.43 (bs, 1H, H₁₄)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 172.4$ (C₂), 171.6 (C₄), 170.1 (C₁₁), 132.4 (C₆), 127.4 (C₈), 125.0 (C₇), 124.9 (C₉), 99.5 (C₃), 79.3 (C₅), 69.7 (C₁₀), 53.0 (C₁₂)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) $\nu = 3419, 3103, 2958, 2646, 1748, 1668, 1521, 1440, 1401, 1330, 1288, 1247, 1231, 1129, 1035, 986, 704, 609$

MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 293

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 293.0096 ; mesuré : 293.0082

110j**(R)-4-Hydroxy-5-((R)-1-hydroxy-2-méthoxy-2-oxoéthyl)-2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-carboxylate de benzyle****M** = 322.27 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₅H₁₄O₈**Solide blanc**

Selon la procédure représentative de la cyclisation de Dieckmann par le TBAF décrite pour **110g**, le mono-ester **109j** (12,04 g, 34 mmol, 1 éq.) conduit à l' α -hydroxyester **110j** (6,3 g, 58 %) sous forme d'un solide blanc.

CCM R_f = 0.20 (CH₂Cl₂/MeOH : 9/1)**Point de fusion** : 106-107 °C

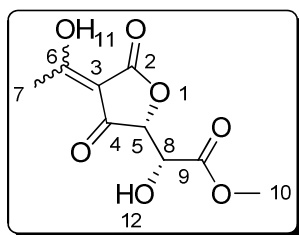
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.46-7.43 (m, 2H, H₉), 7.38-7.35 (m, 3H, H₁₀-H₁₁), 5.39 (s, 2H, H₇), 5.21 (d, 1H, J = 1.6 Hz, H₅), 4.62 (d, 1H, J = 1.6 Hz, H₁₂), 3.90 (s, 3H, H₁₄), 3.80 (s, 3H, H₁₂)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 188.0 (C₂), 171.1 (C₁₃), 166.2 (C₄), 166.0 (C₆), 135.3 (C₈), 129.3 (C₁₀-C₁₁), 128.9 (C₉), 97.2 (C₃), 78.0 (C₅), 68.9 (C₁₂), 68.6 (C₇), 54.3 (C₁₄)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3498, 3207, 2939, 1775, 1739, 1691, 1629, 1453, 1341, 1270, 1175, 1128, 1052, 1030, 793, 730, 696, 586

MS (ESI) m/z [M - H]⁻ = 323**HRMS (ESI)** calculé pour [M - H]⁻ : 321.0610 ; mesuré : 321.0616

110m (R)-2-((R)-4-Acétyl-3-hydroxy-5-oxo-2,5-dihydrofuran-2-yl)-2-hydroxyacétate de méthyle



M = 230.17 g.mol⁻¹
Formule brute : C₉H₁₀O₇
Solide jaune pâle

Selon la procédure représentative de la cyclisation de Dieckmann par le TBAF décrite pour **110g**, le mono-ester **109m** (2,0 g, 7,63 mmol, 1 éq.) conduit à un mélange d'isomères de l' α -hydroxyester **110m** (877 mg, 50 %) sous forme d'un solide jaune pâle.

CCM R_f = 0.60 (CH₂Cl₂/MeOH : 9/1)

Point de fusion : 120-121 °C

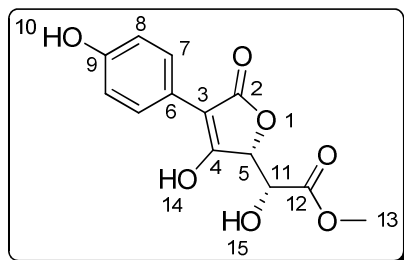
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 5.04 (d, 1H, J = 1.2 Hz, H₅, isomère 1), 4.93 (d, 1H, J = 1.2 Hz, H₅, isomère 2), 4.72 (d, 1H, J = 1.2 Hz, H₈, isomère 2), 4.68 (d, 1H, J = 1.2 Hz, H₈, isomère 1), 3.92 (s, 3H, H₁₀, isomère 1), 3.91 (s, 3H, H₁₀, isomère 2), 2.59 (s, 3H, H₇, isomère 2), 2.57 (s, 3H, H₇, isomère 1)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 197.9, 192.7, 191.3, 188.6, 175.6, 171.4, 171.0, 167.6, 101.1-98.3 (C₃), 84.2-80.4 (C₅), 69.4-69.1 (C₈), 53.7 (C₁₀), 21.3-19.9 (C₇)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3358, 3090, 2964, 2923, 1754, 1652, 1594, 1569, 1463, 1437, 1369, 1337, 1303, 1256, 1209, 1161, 1141, 1055, 1027, 990, 912, 859, 758, 696, 658, 594, 538

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 231

HRMS (ESI) calculé pour [M - H]⁻ : 229.0348 ; mesuré : 229.0355

110n**(R)-2-Hydroxy-2-((R)-3-hydroxy-4-(4-hydroxyphényl)-5-oxo-2,5-dihydrofuran-2-yl)acétate de méthyle** $M = 280.23 \text{ g.mol}^{-1}$ Formule brute : $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_7$

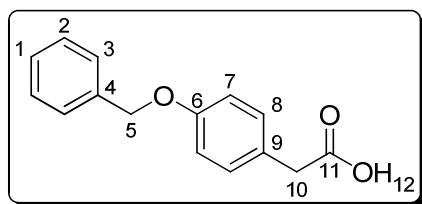
Solide marron

A une solution de l' α -hydroxyester **110f** (470 mg, 1,27 mmol, 1 éq.) dans un mélange de méthanol (6 mL) et DMF (2 mL) est ajouté du Pd/C 10 % (63 mg). Le milieu est dégazé par trois purges vide/argon, puis est placé sous une atmosphère de H_2 . La suspension est agitée vigoureusement pendant 20 h, l'hydrogène est remplacé par de l'argon puis la solution est filtrée sur célite. Après concentration, 20 mL de EtOAc sont ajoutés et la phase organique est lavée trois fois avec une solution aqueuse de HCl 3N (10 mL), séchée sur MgSO_4 , filtrée et concentrée sous vide pour conduire à l' α -hydroxyester **110n** (quantitatif) sous forme d'un solide marron.

CCM $R_f = 0.10$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} : 8/2$)

Point de fusion : 180-182 °C

Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{20} = +127$ (c 0.1, MeOH)RMN ^1H (400 MHz, acétone- d_6 , δ en ppm) $\delta = 7.78$ (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, H_7), 6.85 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, H_8), 5.27 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, H_5), 4.78 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, H_{11}), 3.81 (s, 3H, H_{13})RMN ^{13}C (100 MHz, acétone- d_6 , δ en ppm) $\delta = 171.5$ (C_{12}), 171.3 (C_4), 168.9 (C_2), 156.3 (C_9), 128.6 (C_7), 121.4 (C_6), 114.7 (C_8), 102.0 (C_3), 77.5 (C_5), 68.6 (C_{11}), 51.9 (C_{13})IR (KBr, ν en cm^{-1}) $\nu = 3287, 2958, 1730, 1661, 1612, 1518, 1442, 1398, 1329, 1240, 1163, 1129, 1037, 989, 838$ MS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+ = 303$ HRMS (ESI) calculé pour $[\text{M} + \text{Na}]^+ : 303.0481$; mesuré : 303.0476

112f Acide 2-(4-(benzyloxy)phényl)acétique $M = 242.27 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ Formule brute : $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_3$

Solide blanc

Un mélange d'acide 4-hydroxyphénylacétique (2 g, 13,14 mmol, 1 éq.), de bromure de benzyle (1,64 mL, 13,80 mmol, 1,05 éq.), d'hydroxyde de potassium (1,84 g, 32,86 mmol, 2,5 éq.) et d'iodure de sodium (40 mg, 263 μmol , 2 mol %) dans EtOH (60 mL) est chauffé à reflux pendant 22 h. La réaction est laissée refroidir à t.a. puis une solution aqueuse de HCl 3N (60 mL) est ajoutée. Le précipité formé est filtré, lavé avec H_2O puis séché sous vide pour conduire à l'acide **112f** (2,04 g, 64 %) sous forme d'un solide blanc.

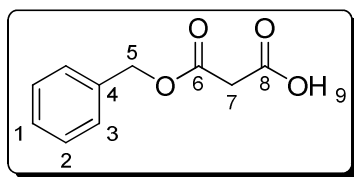
CCM $R_f = 0.50$ (cyclohexane/EtOAc : 1/1)Point de fusion : 124-125 °C (*Litt.*¹⁶¹ 124-125 °C, *Litt.*¹⁶² 120-122 °C)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ en ppm) $\delta = 7.35\text{-}7.32$ (m, 5H, $\text{H}_1\text{-H}_2\text{-H}_3$), 7.21 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, H_8), 6.96 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, H_7), 5.07 (s, 2H, H_5), 3.60 (s, 2H, H_{10})

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ en ppm) $\delta = 178.4$ (C_{11}), 158.2 (C_6), 137.1 (C_4), 130.6 (C_8), 128.7 (C_2), 128.1 (C_1), 127.6 (C_3), 125.7 (C_9), 115.1 (C_7), 70.2 (C_5), 40.3 (C_{10})

IR (KBr, ν en cm^{-1}) $\nu = 3025, 2906, 2866, 2666, 1688, 1613, 1512, 1454, 1406, 1378, 1296, 1247, 1174, 1155, 1014, 917, 809, 799, 748, 720, 696, 626, 521, 512$

MS (ESI) m/z $[\text{M} - \text{H}]^- = 240$ HRMS (ESI) calculé pour $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 265.0841 ; mesuré : 265.0837¹⁶¹ Ogura K., Ito Y., Tsugihashi G-I. *B.Chem. Soc. Jpn.* **1979**, 52, 2013-2022.¹⁶² Kidd D. A. A., Walker J. J. *Chem. Soc.* **1954**, 669-677.

112j Acide 3-(benzyloxy)-3-oxopropanoïque $M = 194.18 \text{ g.mol}^{-1}$ Formule brute : $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$

Solide blanc

Une solution d'acide malonique (13,1 g, 126 mmol, 1,15 éq.) dans du CH_3CN anhydre sous argon est traitée goutte à goutte avec de la triéthylamine (11,2 mL, 84 mmol, 1 éq.) puis du bromure de benzyle (10 mL, 84 mmol, 1 éq.). La solution est chauffée à reflux pendant 3 h, puis refroidie à 0 °C. Une solution aqueuse de HCl à 5 % (100 mL) est ajoutée et la solution aqueuse est extraite avec de l'EtOAc (3×70 mL). Les phases organiques réunies sont lavées avec une solution saturée de NaHCO_3 (2×75 mL). Les phases aqueuses réunies sont acidifiées avec une solution de HCl concentrée jusqu'à pH = 3, puis extraites avec du toluène (3×70 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur MgSO_4 puis concentrées sous vide pour conduire à l'acide **112j** (quantitatif) sous forme d'un acide blanc.

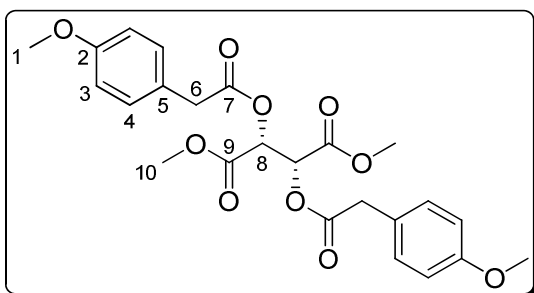
CCM $R_f = 0.45$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} : 9/1$)Point de fusion : 50-51 °C (*Litt.*¹⁶³ 49-50 °C)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ en ppm) $\delta = 8.81$ (bs, 1H, H₉), 7.38 (m, 5H, H_{aromatiques}), 5.22 (s, 2H, H₅), 3.50 (s, 2H, H₇)

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ en ppm) $\delta = 170.9$ (C₈), 167.2 (C₆), 135.2 (C₄), 129.0 (C₂-C₃), 128.8 (C₁), 68.1 (C₅), 40.9 (C₇)

IR (KBr, ν en cm^{-1}) $\nu = 1733, 1434, 1382, 1334, 1166, 980, 902, 756, 700$ MS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{H}]^+ = 195$ HRMS (ESI) calculé pour $[\text{M} + \text{H}]^+ : 217.0477$; mesuré : 217.0479¹⁶³ Costa M., Dalcanale E., Santos Dias F., Graiff C., Tiripicchio A., Bigliardia L. *J. Organomet. Chem.* **2001**, 619, 179-193.

113a (2*R*,3*R*)-2,3-Bis(2-(4-méthoxyphényl)acétoxy)succinate de diméthyle



M = 474.46 g.mol⁻¹
Formule brute : C₂₄H₂₆O₁₀
Solide blanc

Le di-ester **113a** (4,6 g, 17 %) est obtenu sous forme d'un solide blanc lors de la préparation du mono-ester **109a**.

CCM : $R_f = 0.73$ (pentane/EtOAc : 1/1)

Point de fusion : 86-87 °C

Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{20} = +8.9$ (*c* 1, CH₂Cl₂)

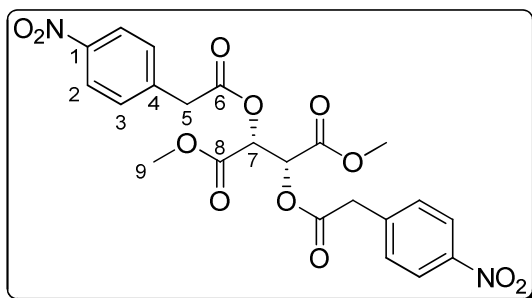
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.19 (d, 4H, *J* = 8.4 Hz, H₄), 6.85 (d, 4H, *J* = 8.4 Hz, H₃), 5.67 (s, 2H, H₈), 3.78 (s, 6H, H₁), 3.67 (s, 4H, H₆), 3.56 (s, 6H, H₁₀)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 170.5 (C₇), 166.1 (C₉), 158.9 (C₂), 130.4 (C₄), 125.2 (C₅), 114.1 (C₃), 70.9 (C₈), 55.3 (C₁), 52.9 (C₁₀), 39.8 (C₆)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3066, 3007, 2967, 2941, 2916, 2843, 1747, 1614, 1585, 1517, 1452, 1359, 1305, 1288, 1250, 1231, 1133, 1061, 1024, 966, 820, 800, 777, 733, 708, 686, 522

MS (ESI) *m/z* [M + Na]⁺ = 497

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 497.1424 ; mesuré : 497.1406

113g (2*R*,3*R*)-2,3-Bis(2-(4-nitrophényl)acétoxy)succinate de diméthyle**M** = 504.40 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₂₂H₂₀N₂O₁₂**Solide blanc**

Le di-ester **113g** (1,91 g, 22 %) est obtenu sous forme d'un solide blanc lors de la synthèse du mono-ester **109g**.

CCM : $R_f = 0.55$ (cyclohexane/EtOAc : 1/1)

Point de fusion : 116-117 °C

Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{20} = -1.9$ (c 1, CH₂Cl₂)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 8.20 (d, 4H, $J = 8.3$ Hz, H₂), 7.47 (d, 4H, $J = 8.3$ Hz, H₃), 5.71 (s, 2H, H₇), 3.88 (d, 1H, $J = 15.7$ Hz, H₅), 3.83 (d, 1H, $J = 15.7$ Hz, H_{5'}), 3.66 (s, 6H, H₉)

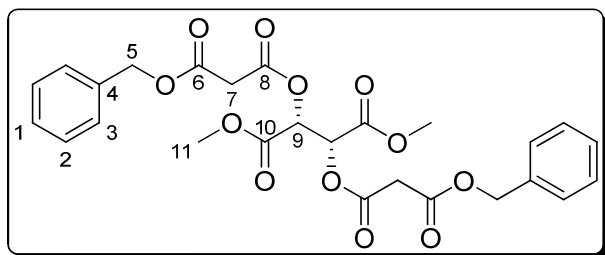
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 169.0 (C₆), 165.8 (C₈), 147.5 (C₁), 140.3 (C₄), 130.5 (C₃), 123.9 (C₂), 71.2 (C₇), 53.2 (C₉), 40.3 (C₅)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3119, 3086, 2996, 2959, 2852, 1770, 1746, 1608, 1530, 1515, 1352, 1226, 1125, 1056, 971, 858, 732, 658

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 505

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 527.0914 ; mesuré : 527.0923

113j (2*R*,3*R*)-1,4-Diméthoxy-1,4-dioxobutane-2,3-diyl dimalonate de benzyle



M = 530.48 g.mol⁻¹
Formule brute : C₂₆H₂₆O₁₂
Huile jaune pâle

Le di-ester **113j** (2,22 g, 17 %) est obtenu sous forme d'une huile jaune pâle lors de la synthèse du mono-ester **109j**.

CCM $R_f = 0.75$ (CH₂Cl₂/MeOH : 94/6)

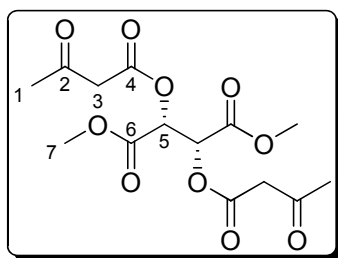
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.35-7.26 (m, 10H, H_{aromatiques}), 5.78 (s, 2H, H₉), 5.16 (s, 4H, H₅), 3.74 (s, 6H, H₁₁), 3.53 (s, 4H, H₇)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 165.9 (C₆), 165.8 (C₈), 165.4 (C₁₀), 135.4 (C₄), 129.0 (C₂), 128.9 (C₁), 128.7 (C₃), 71.6 (C₉), 67.8 (C₅), 53.6 (C₁₁), 41.2 (C₇)

IR (NaCl, ν en cm⁻¹) ν = 3034, 2957, 1764, 1741, 1328, 1280, 1217, 1138, 1065, 994, 751, 699

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 531

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 553.1322 ; mesuré : 553.1305

113m (2*R*,3*R*)-2,3-Bis(3-oxobutanoyloxy)succinate de diméthyle $M = 346.29 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ Formule brute : $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$

Huile jaune pâle

Le di-ester **113m** (4,3 g, 22 %) est obtenu sous forme d'une huile jaune pâle lors de la synthèse du mono-ester **109m**.

CCM $R_f = 0.80$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} : 94/6$)

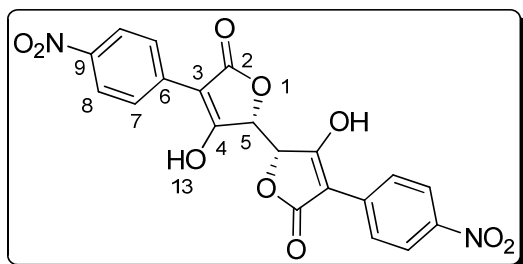
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ en ppm) $\delta = 5.77$ (s, 2H, H_5), 3.82 (s, 6H, H_7), 3.56 (s, 4H, H_3), 2.26 (s, 6H, H_1)

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ en ppm) $\delta = 199.5$ (C_2), 166.0 (C_6), 165.9 (C_4), 71.5 (C_5), 53.6 (C_7), 49.8 (C_3), 30.4 (C_1)

IR (NaCl, ν en cm^{-1}) $\nu = 3501, 3005, 2954, 2853, 1768, 1718, 1631, 1438, 1418, 1398, 1364, 1345, 1242, 1140, 1065, 998, 979, 860, 774, 754, 697, 634, 542$

MS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+ = 369$

HRMS (ESI) calculé pour $[\text{M} + \text{Na}]^+ : 369.0798$; mesuré : 396.0803

115a **(2*R*,2'*R*)-3,3'-Dihydroxy-4,4'-bis(4-nitrophényl)-2,2'-bifuran-5,5'(2*H*,2'*H*)-dione**

M = 440.32 g.mol⁻¹
Formule brute : C₂₀H₁₂N₂O₁₀
Solide jaune

Une solution du di-ester **113g** (500 mg, 0,99 mmol, 1 éq.) dans du THF fraîchement distillé (3 mL) est traitée avec du fluorure de tétrabutyl ammonium (2,98 mL, 1M dans le THF, 3 éq.) puis la solution est agitée à t.a. pendant la nuit. Une solution aqueuse de HCl 6N est ajoutée ainsi que de l'Et₂O (20 mL), la phase organique est ensuite lavée avec une solution aqueuse de HCl 6N (3×20 mL), séchée sur MgSO₄ puis concentrée sous vide. Le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (CH₂Cl₂/MeOH : 95/5 puis 80/20) pour conduire au di-acide **115a** (280 mg, 64 %) sous forme d'un solide jaune.

CCM : $R_f = 0.10$ (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)

Point de fusion : décomposition à 305 °C

Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{20} = +621$ (*c* 0.1, MeOH)

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ en ppm) δ = 8.49 (d, 4H, *J* = 9.0 Hz, H₈), 8.07 (d, 4H, *J* = 9.0 Hz, H₇), 4.59 (s, 2H, H₅)

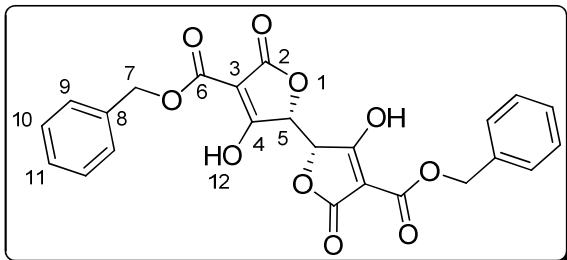
RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆, δ en ppm) δ = 189.4 (C₂), 174.8 (C₄), 144.2 (C₆), 140.9 (C₉), 123.5 (C₈), 122.1 (C₇), 89.3 (C₃), 76.9 (C₅)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3452, 1708, 1596, 1571, 1505, 1434, 1331, 1188, 1112, 1023, 945, 857, 700, 679

MS (ESI) *m/z* [M - H]⁻ = 438

HRMS (ESI) calculé pour [M - H]⁻ : 439.0414 ; mesuré : 439.0415

115b **(2*R*,2'*R*)-3,3'-Dihydroxy-5,5'-dioxo-2,2',5,5'-tetrahydro-2,2'-bifuran-4,4'-dicarboxylate de dibenzyle**



M = 466.39 g.mol⁻¹
Formule brute : C₂₄H₁₈O₁₀
Solide blanc

Selon la procédure représentative de la double cyclisation de Dieckmann par le TBAF décrite pour **115a**, le di-ester **113j** (2,2 g, 4,15 mmol, 1 équ.) conduit au di-acide **115b** (1,35 g, 70 %) sous forme d'un solide blanc.

CCM : $R_f = 0.45$ (CH₂Cl₂/MeOH : 9/1)

Point de fusion : 180-181 °C

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ en ppm) δ = 7.47-7.32 (m, 10H, H_{aromatiques}), 5.21 (s, 4H, H₇), 5.01 (s, 2H, H₅)

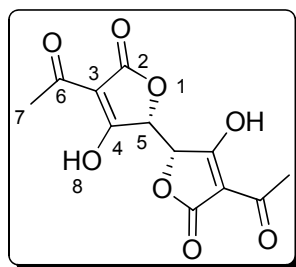
RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆, δ en ppm) δ = 188.2 (C₄), 170.7 (C₂), 162.5 (C₆), 137.9 (C₈), 129.3 (C₁₀), 128.6 (C₁₁), 128.4 (C₉), 90.8 (C₃), 75.8 (C₅), 65.0 (C₇)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3206, 3092, 3062, 3028, 2926, 1762, 1677, 1642, 1586, 1498, 1463, 1438, 1385, 1361, 1340, 1249, 1185, 1130, 1046, 901, 794, 726, 695, 578

MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 487

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 487.0641 ; mesuré : 487.0650

115c **(2*R*,2'*R*)-4,4'-Diacétyl-3,3'-dihydroxy-2,2'-bifuran-5,5'(2*H*,2'*H*)-dione**



M = 282.20 g.mol⁻¹
Formule brute : C₁₂H₁₀O₈
Solide blanc

Selon la procédure représentative de la double cyclisation de Dieckmann par le TBAF décrite pour **115a**, le di-ester **113m** (2 g, 5,8 mmol, 1 éq.) conduit au di-acide **115c** (949 mg, 58 %) sous forme d'un solide blanc.

CCM : *R_f* = 0.50 (CH₂Cl₂/MeOH : 9/1)

Point de fusion : 147-148 °C

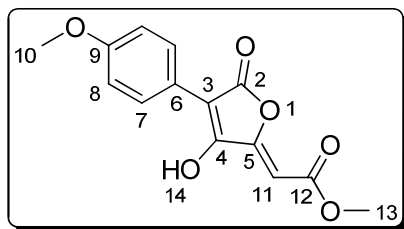
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆, δ en ppm) δ = 6.10 (bs, 2H, H₈), 4.87 (s, 2H, H₅), 2.87 (s, 6H, H₇)

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆, δ en ppm) δ = 191.4 (C₆), 189.8 (C₄), 170.9 (C₂), 98.5 (C₃), 77.4 (C₅), 26.9 (C₇)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3064, 2949, 1758, 1673, 1600, 1446, 1385, 1328, 1303, 1174, 1034, 878, 781, 749, 723, 687, 650, 575

MS (ESI) *m/z* [M - H]⁻ = 281

HRMS (ESI) calculé pour [M - H]⁻ : 281.0297 ; mesuré : 281.0300

117a **(Z)-2-(3-Hydroxy-4-(4-méthoxyphényl)-5-oxofuran-2(5H)-ylidène)acétate de méthyle**

M = 276.24 g.mol⁻¹
Formule brute : C₁₄H₁₂O₆
Solide jaune orangé

Une suspension de l' α -hydroxyester **110a** (10,7 g, 36,4 mmol, 1 éq.) et de DMAP (223 mg, 1,82 mmol, 5 mol %) dans du CH₂Cl₂ (160 mL) fraîchement distillé est refroidie à -10 °C puis est traitée successivement avec de la triéthylamine (30,3 mL, 218,2 mmol, 6 éq.) puis, lentement, avec de l'anhydride trifluoroacétique (15,3 mL, 109,1 mmol, 3 éq.). La réaction est agitée à t.a. pendant 16 h. La solution est alors traitée avec une solution aqueuse de HCl 3N (100 mL) puis est agitée encore 1 h. Les deux phases sont séparées, la phase aqueuse est extraite avec de l'EtOAc (2×100 mL) et les phases organiques réunies sont séchées sur MgSO₄, puis concentrées. Le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (cyclohexane/acétone : 90/10, 50/50 puis 30/70) pour conduire à l'acide **116a** (704 mg, 7 %) sous forme d'un solide jaune et à l'acide **117a** (8,3 g, 83 %) sous forme d'un solide jaune orangé.

*Les caractéristiques de l'acide **116a** sont indiquées plus loin.*

CCM : $R_f = 0.30$ (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)

Point de fusion : 184-185 °C

RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 7.89$ (d, 2H, $J = 9.1$ Hz, H₇), 7.01 (d, 2H, $J = 9.1$ Hz, H₈), 5.91 (s, 1H, H₁₁), 3.84 (s, 3H, H₁₃), 3.76 (s, 3H, H₁₀)

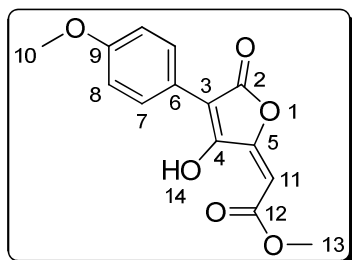
RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 168.1$ (C₂), 164.2 (C₁₂), 160.8 (C₉), 160.5 (C₄), 153.3 (C₅), 130.6 (C₇), 121.9 (C₆), 114.8 (C₈), 106.0 (C₃), 95.8 (C₁₁), 55.7 (C₁₀), 52.1 (C₁₃)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) $\nu = 3524, 3102, 3009, 2954, 2838, 1710, 1665, 1571, 1517, 1436, 1357, 1288, 1219, 1147, 1031, 957, 903, 836, 781, 651, 590$

MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 299

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 299.0532 ; mesuré : 299.0524

116a (E)-2-(3-Hydroxy-4-(4-méthoxyphényl)-5-oxofuran-2(5H)-ylidène)acétate de méthyle



$M = 276,24 \text{ g.mol}^{-1}$
Formule brute : $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_6$
Solide jaune

L'acide **116a** (704 mg, 7 %) est obtenu sous forme d'un solide jaune lors de la synthèse de l'acide **117a**.

CCM : $R_f = 0.70$ (cyclohexane/acétone : 1/1)

Point de fusion : 159-160 °C

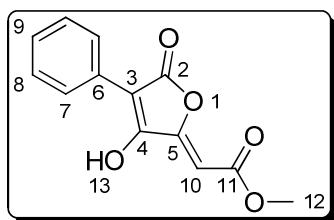
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ en ppm) $\delta = 13.15$ (s, 1H, H_{14}), 8.11 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz, H_7), 6.96 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz, H_8), 5.98 (s, 1H, H_{11}), 3.91 (s, 3H, H_{13}), 3.84 (s, 3H, H_{10})

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ en ppm) $\delta = 171.5$ (C_{12}), 166.6 (C_2), 159.9 (C_9), 158.7 (C_5), 158.2 (C_4), 129.5 (C_7), 121.4 (C_6), 114.1 (C_8), 105.6 (C_3), 100.2 (C_{11}), 55.4 (C_{10}), 53.9 (C_{13})

IR (KBr, ν en cm^{-1}) $\nu = 3071, 2960, 2923, 2845, 2594, 1780, 1680, 1635, 1604, 1513, 1440, 1353, 1280, 1251, 1188, 1157, 1093, 1042, 927, 833$

MS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{H}]^+ = 277$

HRMS (ESI) calculé pour $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 299.0532 ; mesuré : 299.0542

117b (Z)-2-(3-Hydroxy-5-oxo-4-phénylfuran-2(5H)-ylidène)acétate de méthyle

M = 246.21 g.mol⁻¹
Formule brute : C₁₃H₁₀O₅
Solide jaune orangé

Selon la procédure représentative de déshydratation décrite pour **117a**, l' α -hydroxyester **110b** (700 mg, 2,65 mmol, 1 éq.) conduit à l'acide **117b** (410 mg, 62 %) sous forme d'un solide jaune orangé.

CCM : $R_f = 0.45$ (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)

Point de fusion : 210-212 °C

RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 7.91-7.88$ (m, 2H, H₇), $7.47-7.42$ (m, 2H, H₈), $7.39-7.35$ (m, 1H, H₉), 5.95 (s, 1H, H₁₀), 3.76 (s, 3H, H₁₂)

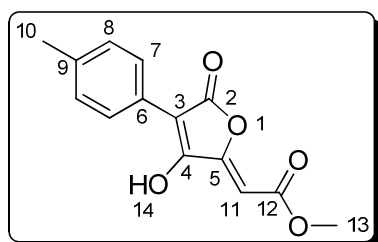
RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 167.8$ (C₂), 164 (C₁₁), 162.1 (C₄), 153.1 (C₅), 129.2 (C₈-C₉), 129.1 (C₇), 105.7 (C₃), 96.2 (C₁₀), 52.0 (C₁₂)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) $\nu = 3230, 3100, 2961, 1771, 1702, 1661, 1641, 1439, 1404, 1373, 1257, 1215, 1184, 1136, 1026, 960, 900, 843, 786, 772, 695, 597$

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 247

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 269.0426 ; mesuré : 269.0427

117c (Z)-2-(3-Hydroxy-5-oxo-4-p-tolylfuran-2(5H)-ylidène)acétate de méthyle



M = 260.24 g.mol⁻¹
Formule brute : C₁₄H₁₂O₅
Solide jaune

Selon la procédure représentative de déshydratation décrite pour **117a**, l' α -hydroxyester **110c** (300 mg, 1,08 mmol, 1 éq.) conduit à l'acide **117c** (234 mg, 83 %) sous forme d'un solide jaune.

CCM : $R_f = 0.45$ (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)

Point de fusion : 189-190 °C

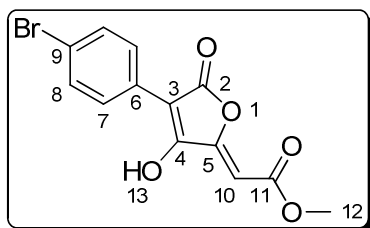
RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 7.84$ (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, H₇), 7.25 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz H₈), 5.96 (s, 1H, H₁₁), 3.76 (s, 3H, H₁₃), 2.35 (s, 3H, H₁₀)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 167.2$ (C₂), 163.2 (C₁₂), 161.5 (C₄), 152.7 (C₅), 137.9 (C₉), 128.8 (C₈), 127.8 (C₇), 126.1 (C₆), 104.0 (C₃), 94.7 (C₁₁), 51.0 (C₁₃), 20.3 (C₁₀)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) $\nu = 3210, 3090, 3017, 2953, 2920, 2853, 1780, 1697, 1656, 1644, 1613, 1516, 1439, 1396, 1369, 1290, 1270, 1215, 1187, 1136, 1031, 960, 901, 838, 827, 773$

MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 283

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 283.0582 ; mesuré : 283.0576

117d **(Z)-2-(4-(4-Bromophényl)-3-hydroxy-5-oxofuran-2(5H)-ylidène)acétate de méthyle**

M = 325.12 g.mol⁻¹
Formule brute : C₁₃H₉BrO₅
Solide jaune orangé

Selon la procédure représentative de déshydratation décrite pour **117a**, l' α -hydroxyester **110d** (3,54 g, 10,32 mmol, 1 éq.) conduit à l'acide **117d** (2,12 g, 63 %) sous forme d'un solide jaune orangé.

CCM : $R_f = 0.50$ (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)

Point de fusion : 216-218 °C

RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 8.14$ (d, 2H, $J = 8.6$ Hz, H₇), 7.46 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz, H₈), 5.99 (s, 1H, H₁₀), 3.71 (s, 3H, H₁₂)

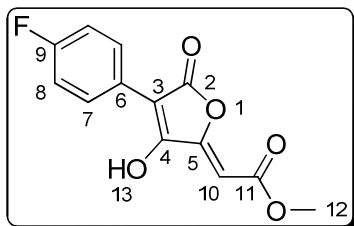
RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 177.7$ (C₄), 170.2 (C₂), 165.2 (C₁₁), 156.6 (C₅), 132.4 (C₆), 131.7 (C₈), 128.8 (C₇), 119.4 (C₉), 96.8 (C₃), 93.5 (C₁₀), 51.6 (C₁₂)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) $\nu = 3430, 3096, 3021, 2954, 1750, 1699, 1665, 1586, 1493, 1437, 1395, 1374, 1288, 1222, 1150, 1034, 961, 903, 823$

MS (ESI) m/z [M - H]⁻ = 322, 324

HRMS (ESI) calculé pour [M - H]⁻ C₁₃H₈O₅⁷⁹Br : 322.9555 ; mesuré : 322.9550
 C₁₃H₈O₅⁸¹Br : 324.9535 ; mesuré : 324.9529

117e (Z)-2-(4-(4-Fluorophényl)-3-hydroxy-5-oxofuran-2(5H)-ylidène)acétate de méthyle



M = 264.21 g.mol⁻¹
Formule brute : C₁₃H₉FO₅
Solide jaune orangé

Selon la procédure représentative de déshydratation décrite pour **117a**, l' α -hydroxyester **110e** (200 mg, 0,71 mmol, 1 éq.) conduit à l'acide **117e** (139 mg, 74 %) sous forme d'un solide jaune orangé.

CCM : $R_f = 0.45$ (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)

Point de fusion : 185-187 °C

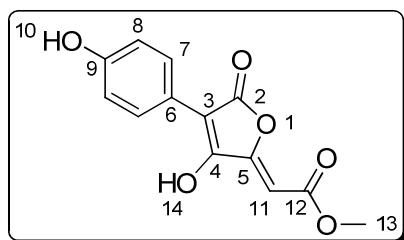
RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 8.08$ (dd, $J = 8.9, 5.6$ Hz, H₇), 7.18 (t, 2H, $J = 8.9$ Hz, H₈), 6.03 (s, 1H, H₁₀), 3.75 (s, 3H, H₁₂)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 168.7$ (C₂), 164.8 (C₄), 164.4 (C₁₁), 162.7 (d, $J = 245.6$ Hz, C₉), 154.2 (C₅), 130.5 (d, $J = 7.7$ Hz, C₇), 127.1, 115.9 (d, $J = 21.4$ Hz, C₈), 102.4 (C₃), 95.6 (C₁₀), 51.9 (C₁₂)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) $\nu = 3441, 3227, 3100, 2959, 1776, 1700, 1647, 1604, 1512, 1438, 1397, 1258, 1212, 1165, 1138, 1025, 959, 902, 839, 770, 569$

MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 287

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 287.0332 ; mesuré : 287.0336

117f**(Z)-2-(3-Hydroxy-4-(4-hydroxyphényl)-5-oxofuran-2(5H)-ylidène)acétate de méthyle****M** = 262.21 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₃H₁₀O₆**Solide rouge foncé**

Selon la procédure représentative de déshydratation décrite pour **117a**, un mélange de l' α -hydroxyester **110n** (140 mg, 0,50 mmol, 1 éq.), de DMAP (3 mg, 0,025 mmol, 5 mol %), de triéthylamine (627 μ L, 4,50 mmol, 9 éq.) et d'anhydride trifluoroacétique (318 μ L, 2,25 mmol, 4,5 éq.) conduit à l'acide **117f** (58 mg, 44 %) sous forme d'un solide rouge foncé.

CCM R_f = 0.25 (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)**Point de fusion** : 202-204 °C

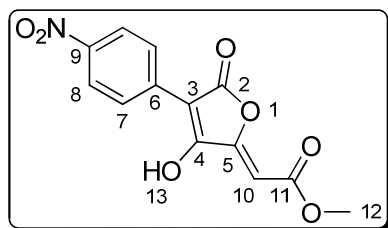
RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 8.04 (d, 2H, J = 8.8 Hz, H₇), 6.85 (d, 2H, J = 8.8 Hz, H₈), 6.13 (s, 1H, H₁₁), 3.72 (s, 3H, H₁₃)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 170.0 (C₂), 166.7 (C₄), 165.1 (C₁₂), 157.0 (C₉), 156.2 (C₅), 129.1 (C₇), 123.5 (C₆), 115.7 (C₈), 100.3 (C₃), 93.8 (C₁₁), 51.6 (C₁₃)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3366, 3096, 2956, 2927, 2854, 1736, 1662, 1609, 1585, 1516, 1438, 1369, 1218, 1138, 1028, 966, 906, 828, 787, 768, 648, 573

MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 285**HRMS (ESI)** calculé pour [M + Na]⁺ : 285.0375 ; mesuré : 285.0380

117g (Z)-2-(3-Hydroxy-4-(4-nitrophényl)-5-oxofuran-2(5H)-ylidène)acétate de méthyle



M = 291.21 g.mol⁻¹
Formule brute : C₁₃H₉NO₇
Solide jaune

Selon la procédure représentative de déshydratation décrite pour **117a**, l' α -hydroxyester **110g** (250 mg, 0,81 mmol, 1 éq.) conduit à l'acide **117g** (172 mg, 73 %) sous forme d'un solide jaune.

CCM : $R_f = 0.50$ (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)

Point de fusion : décomposition à 177 °C

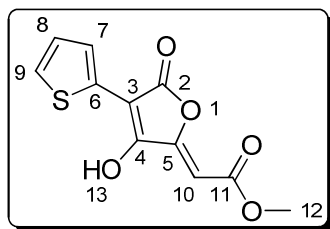
RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 8.53$ (d, 2H, $J = 9.3$ Hz, H₈), 8.14 (d, 2H, $J = 9.3$ Hz, H₇), 5.72 (s, 1H, H₁₀), 3.70 (s, 3H, H₁₂)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) $\delta = 178.7$ (C₄), 171.9 (C₂), 166.1 (C₁₁), 158.8 (C₅), 144.0 (C₆), 143.4 (C₉), 124.1 (C₇), 123.9 (C₈), 89.9 (C₁₀), 89.3 (C₃), 51.3 (C₁₂)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) $\nu = 3457, 3103, 2963, 1753, 1718, 1670, 1603, 1510, 1436, 1339, 1273, 1224, 1149, 1126, 1110, 1024, 957, 905, 851, 779, 668$

MS (ESI) m/z [M - H]⁻ = 289

HRMS (ESI) calculé pour [M - H]⁻ : 290.0301 ; mesuré : 290.0305

117h (Z)-2-(3-Hydroxy-5-oxo-4-(2-thiényl)furan-2(5H)-ylidène)acétate de méthyle

$M = 252.25 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
Formule brute : $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_5\text{S}$
Solide brun orangé

Selon la procédure représentative de déshydratation décrite pour **117a**, l' α -hydroxyester **110i** (200 mg, 0,74 mmol, 1 éq.) conduit à l'acide **117h** (68 mg, 37 %) sous forme d'un solide brun orangé.

CCM : $R_f = 0.30$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} : 8/2$)

Point de fusion : décomposition à $217 \text{ }^\circ\text{C}$

RMN ^1H (400 MHz, acétone- d_6 , δ en ppm) $\delta = 7.61$ (dd, 1H, $J = 3.5, 0.8$ Hz, H_7), 7.01 (dd, 1H, $J = 5.1$ Hz, 0.8 Hz, H_9), 6.88 (dd, 1H, $J = 5.1, 3.5$ Hz, H_8), 5.66 (s, 1H, H_{10}), 3.64 (s, 3H, H_{12})

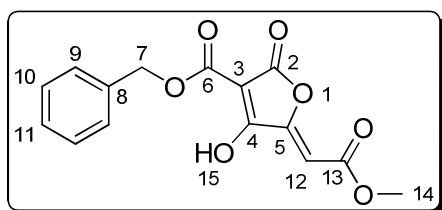
RMN ^{13}C (100 MHz, acétone- d_6 , δ en ppm) $\delta = 173.8$ (C_4), 171.2 (C_2), 166.1 (C_{11}), 159.6 (C_5), 136.9 (C_6), 126.8 (C_8), 120.6 (C_7), 120.5 (C_9), 90.9 (C_3), 90.2 (C_{10}), 51.2 (C_{12})

IR (KBr, ν en cm^{-1}) $\nu = 3422, 3102, 2951, 2851, 1744, 1708, 1668, 1588, 1529, 1458, 1437, 1354, 1286, 1233, 1203, 1183, 1124, 1023, 943, 866, 837, 770, 687$

MS (ESI) m/z $[\text{M} - \text{H}]^- = 250$

HRMS (ESI) calculé pour $[\text{M} + \text{H}]^+$: 251.0014 ; mesuré : 251.0019

117i **(Z)-4-Hydroxy-5-(2-méthoxy-2-oxoéthylidène)-2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-carboxylate de benzyle**



M = 304.25 g.mol⁻¹
Formule brute : C₁₅H₁₂O₇
Huile marron

Selon la procédure représentative de déshydratation décrite pour **117a**, l' α -hydroxyester **110j** (6,3 g, 20 mmol, 1 équ.) conduit à l'acide **117i** (5,1 g, 83 %) sous forme d'une huile marron.

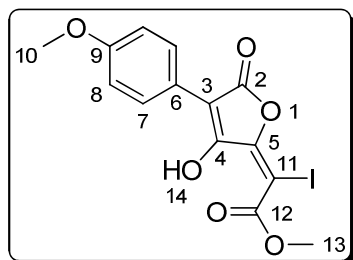
CCM : $R_f = 0.20$ (CH₂Cl₂/MeOH : 9/1)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) $\delta = 7.42-7.30$ (m, 5H, H_{aromatiques}), 5.62 (s, 1H, H₁₂), 5.30 (s, 2H, H₇), 3.73 (s, 3H, H₁₄)

IR (NaCl, ν en cm⁻¹) $\nu = 3194, 3036, 2997, 2954, 1953, 1825, 1741, 1713, 1695, 1680, 1453, 1343, 1179, 977, 860, 800, 743, 697, 618, 583$

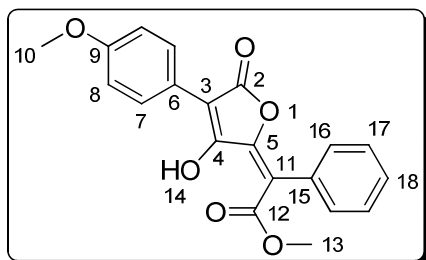
MS (ESI) m/z [M - H]⁻ = 303

HRMS (ESI) calculé pour [M - H]⁻ : 303.0505 ; mesuré : 303.0503

120**(Z)-2-(3-Hydroxy-4-(4-méthoxyphényl)-5-oxofuran-2(5H)-ylidène)-2-iodoacétate de méthyle****M** = 402,14 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₄H₁₁IO₆**Solide orange**

Une solution de **117a** (2 g, 7,24 mmol, 1 éq.) dans de l'acétone (120 mL) et de l'eau (40 mL) est traitée avec une solution de soude à 0,5 M (14,48 mL, 7,24 mmol, 1 éq.). La réaction est agitée pendant 2 h à t.a. avant d'être concentrée sous vide. Le *N*-iodosuccinimide (3,26 g, 14,48 mmol, 2 éq.), du THF fraîchement distillé (72 mL) et de l'acide acétique (1,25 mL, 21,72 mmol, 3 éq.) sont successivement ajoutés, puis la solution est chauffée à 50 °C pendant 16 h. La réaction est laissée refroidir à t.a. puis est traitée avec une solution aqueuse saturée de Na₂S₂O₃ (50 mL) et de l'EtOAc (50 mL). La phase aqueuse est extraite avec de l'EtOAc (2×50 mL) et les phases organiques réunies sont séchées sur MgSO₄ puis concentrées. Le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (cyclohexane/CH₂Cl₂ : 80/20 à 50/50) pour conduire au produit iodé **120** (1,63 g, 50 %) sous forme d'un solide orange.

CCM : *R*_f = 0.45 (cyclohexane/EtOAc : 1/1)**Point de fusion** : 174-175 °C**RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm)** δ = 13.18 (s, 1H, H₁₄), 8.09 (d, 2H, *J* = 9.1 Hz, H₇), 6.95 (d, 2H, *J* = 9.1 Hz, H₈), 3.98 (s, 3H, H₁₃), 3.84 (s, 3H, H₁₀)**RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm)** δ = 168.9 (C₁₂), 165.2 (C₂), 160.2 (C₄), 159.9 (C₉), 156.2 (C₅), 129.5 (C₇), 121.4 (C₆), 114.1 (C₈), 107.0 (C₃), 69.6 (C₁₁), 55.9 (C₁₃), 55.4 (C₁₀)**IR (KBr, ν en cm⁻¹)** ν = 3018, 2952, 2838, 2521, 1773, 1673, 1583, 1512, 1464, 1439, 1367, 1294, 1252, 1184, 1064, 1024, 941, 896, 836, 805, 756, 577**MS (ESI)** *m/z* [M - H]⁻ = 400**HRMS (ESI)** calculé pour [M + Na]⁺ : 424.9498 ; mesuré : 424.9493

122a**(E)-2-(3-Hydroxy-4-(4-méthoxyphényl)-5-oxofuran-2(5H)-ylidène)-2-phénylacétate de méthyle (acide pinastrique)**M = 352,34 g.mol⁻¹Formule brute : C₂₀H₁₆O₆

Solide jaune orangé

Pour cette manipulation, tous les solvants sont dégazés, et à chaque ajout d'un réactif le milieu est mis alternative sous vide et sous argon.

A une solution de **120** (150 mg, 0,373 mmol, 1 éq.) dans du THF (19 mL) sont ajoutés successivement du PdCl₂(PPh₃)₂ (13 mg, 0,019 mmol, 5 mol %), une solution de phénylpinacolborane (114 mg, 0,559 mmol, 1,5 éq.) dans du THF (7 mL) puis une solution aqueuse de Na₂CO₃ 2M (8,2 mL). La réaction est ensuite portée à reflux pendant 2 h. Après retour à t.a., H₂O (5 mL) puis une solution aqueuse de HCl 3N (3 mL) sont ajoutés. La phase aqueuse est extraite avec de l'EtOAc (3×50 mL) et les phases organiques réunies sont séchées sur MgSO₄ puis concentrées. Le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (cyclohexane/EtOAc : 80/20) pour conduire à l'acide **122a** (106 mg, 81 %) sous forme d'un solide jaune orangé.

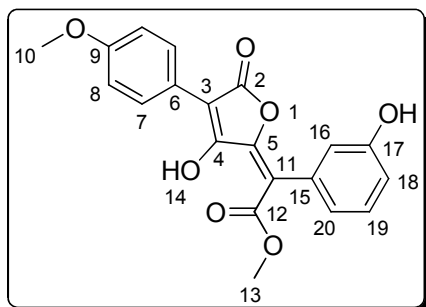
CCM : R_f = 0.40 (cyclohexane/EtOAc : 1/1)Point de fusion : 204-205 °C (Litt.⁶⁴ 207-209 °C, Litt.⁸² 192-192.5 °C)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 8.14 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.45-7.40 (m, 3H), 7.30-7.25 (m, 2H), 6.98 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.86 (s, 3H).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 171.7, 166.1, 159.6, 158.6, 155.0, 132.1, 130.0, 129.4, 128.5, 128.1, 121.6, 115.2, 113.9, 105.3, 55.3, 54.3.

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3745, 3018, 2959, 2841, 2535, 1772, 1674, 1600, 1514, 1493, 1441, 1370, 1308, 1278, 1254, 1189, 1063, 1024, 959, 905, 844, 700

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 353HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 375.0845 ; mesuré : 375.0845

122b**(E)-2-(3-Hydroxy-4-(4-méthoxyphényl)-5-oxofuran-2(5H)-ylidène)-2-(3-hydroxyphényl)acétate de méthyle****M** = 368,34 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₂₀H₁₆O₇**Solide jaune**

Selon la procédure représentative du couplage décrite pour **122a**, **120** (150 mg, 0,373 mmol, 1 équ.) et l'estér pinacolique de l'acide 3-hydroxyphénylboronique (123 mg, 0,559 mmol, 1,5 équ.) conduisent à l'acide **122b** (100 mg, 73 %) sous forme d'un solide jaune.

CCM : $R_f = 0.65$ (EtOAc)**Point de fusion** : 180-181 °C

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 13.56 (s, 1H, H₁₄), 8.12 (d, 2H, $J = 9.1$ Hz, H₇), 7.27 (t, 1H, $J = 7.9$ Hz, H₁₉), 6.97 (d, 2H, $J = 9.1$ Hz, H₈), 6.86 (ddd, 1H, $J = 7.9, 2.4, 0.9$ Hz, H₁₈), 6.81 (ddd, 1H, $J = 7.9, 1.6, 0.9$ Hz, H₂₀), 6.74 (dd, 1H, $J = 2.4, 1.6$ Hz, H₁₆), 3.87 (s, 3H, H₁₃), 3.85 (s, 3H, H₁₀)

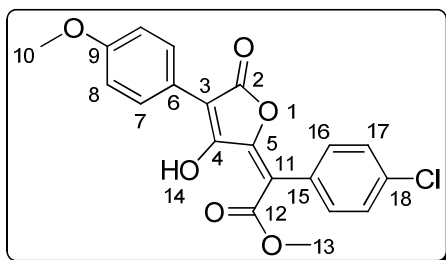
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 171.7 (C₁₂), 166.4 (C₂), 159.7 (C₉), 158.7 (C₄), 155.4 (C₁₇), 155.1 (C₅), 133.5 (C₁₅), 129.5 (C₇, C₁₉), 122.6 (C₂₀), 121.7 (C₆), 117.2 (C₁₆), 115.8 (C₁₈), 115.0 (C₁₁), 114.1 (C₈), 105.5 (C₃), 55.4 (C₁₀), 54.5 (C₁₃)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3366, 2958, 2839, 2408, 1746, 1671, 1600, 1475, 1439, 1374, 1310, 1280, 1254, 1182, 1070, 838

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 369**HRMS (ESI)** calculé pour [M + Na]⁺ : 391.0794 ; mesuré : 391.0793

122c

(E)-2-(4-Chlorophényl)-2-(3-hydroxy-4-(4-méthoxyphényl)-5-oxofuran-2(5H)-ylidène)acétate de méthyle



$M = 386,78 \text{ g.mol}^{-1}$

Formule brute : $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{ClO}_6$

Solide jaune foncé

Selon la procédure représentative du couplage décrite pour **122a**, **120** (200 mg, 0,497 mmol, 1 éq.) et l'ester pinacolique de l'acide 4-chlorophénylboronique (178 mg, 0,746 mmol, 1,5 éq.) conduisent à l'acide **122c** (115 mg, 60 %) sous forme d'un solide jaune orangé.

CCM : $R_f = 0.35$ (cyclohexane/EtOAc : 1/1)

Point de fusion : 155-156 °C

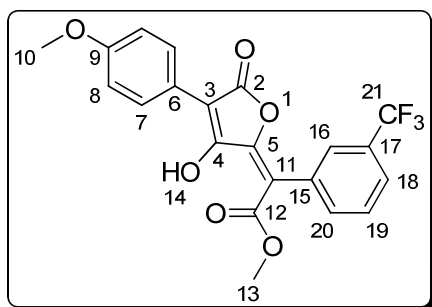
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ en ppm) $\delta = 13.50$ (s, 1H, H_{14}), 8.12 (d, 2H, $J = 9.2$ Hz, H_7), 7.39 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz, H_{17}), 7.20 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz, H_{16}), 6.97 (d, 2H, $J = 9.2$ Hz, H_8), 3.88 (s, 3H, H_{13}), 3.85 (s, 3H, H_{10})

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ en ppm) $\delta = 171.4$ (C_{12}), 166.0 (C_2), 159.8 (C_9), 158.5 (C_4), 155.4 (C_5), 134.8 (C_{18}), 131.5 (C_{16}), 130.6 (C_{15}), 129.5 (C_7), 128.5 (C_{17}), 121.6 (C_6), 114.1 (C_8), 114.0 (C_{11}), 105.7 (C_3), 55.4 (C_{10}), 54.6 (C_{13})

IR (KBr, ν en cm^{-1}) $\nu = 3060, 2961, 2935, 2840, 2510, 1777, 1681, 1600, 1513, 1477, 1435, 1373, 1314, 1297, 1276, 1247, 1183, 1091, 1061, 1028, 956, 901, 838, 580$

MS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{H}]^+ = 387$

HRMS (ESI) calculé pour $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 409.0455 ; mesuré : 409.0454

122d**(E)-2-(3-Hydroxy-4-(4-méthoxyphényl)-5-oxofuran-2(5H)-ylidène)-2-(3-(trifluorométhyl)phényl)acétate de méthyle****M** = 420,34 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₂₁H₁₅F₃O₆**Solide jaune orangé**

Selon la procédure représentative du couplage décrite pour **122a**, **120** (166 mg, 0,414 mmol, 1 éq.) et l'ester pinacolique de l'acide 3-(trifluorométhyl)phénylboronique (169 mg, 0,621 mmol, 1,5 éq.) conduisent à l'acide **342d** (111 mg, 64 %) sous forme d'un solide jaune orangé.

CCM $R_f = 0.35$ (cyclohexane/EtOAc : 1/1)**Point de fusion** : 172-173 °C

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 13.53 (s, 1H, H₁₄), 8.12 (d, 2H, $J = 9.2$ Hz, H₇), 7.65 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H₁₈), 7.54 (t, 1H, $J = 8.0$ Hz, H₁₉), 7.52 (s, 1H, H₁₆), 7.45 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H₂₀), 6.97 (d, 2H, $J = 9.2$ Hz, H₈), 3.88 (s, 3H, H₁₃), 3.85 (s, 3H, H₁₀)

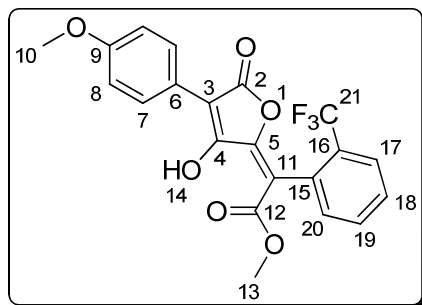
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 171.7 (C₁₂), 165.9 (C₂), 159.9 (C₉), 158.4 (C₄), 155.9 (C₅), 133.6 (C₂₀), 133.0 (C₁₅), 130.8 (q, $J = 32.2$ Hz, C₁₇), 129.6 (C₇), 128.9 (C₁₉), 126.9 (q, $J = 3.8$ Hz, C₁₆), 125.5 (q, $J = 3.8$ Hz, C₁₈), 124.0 (q, $J = 272.2$ Hz, C₂₁), 121.5 (C₆), 114.1 (C₈), 113.6 (C₁₁), 105.8 (C₃), 55.4 (C₁₀), 54.6 (C₁₃)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3084, 3011, 2956, 2840, 2554, 1772, 1678, 1600, 1513, 1445, 1415, 1371, 1336, 1305, 1247, 1184, 1160, 1105, 1068, 913, 833

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 421**HRMS (ESI)** calculé pour [M + Na]⁺ : 443.0718 ; mesuré : 443.0723

122e

(E)-2-(3-Hydroxy-4-(4-méthoxyphényl)-5-oxofuran-2(5H)-ylidène)-2-(2-(trifluorométhyl)phényl)acétate de méthyle



M = 420,34 g.mol⁻¹

Formule brute : C₂₁H₁₅F₃O₆

Solide jaune orangé

Selon la procédure représentative du couplage décrite pour **122a**, **120** (200 mg, 0,497 mmol, 1 éq.) et l'ester pinacolique de l'acide 2-(trifluorométhyl)phénylboronique (203 mg, 0,746 mmol, 1,5 éq.) conduisent à l'acide **122e** (167 mg, 80 %) sous forme d'un solide jaune orangé.

CCM R_f = 0.70 (cyclohexane/EtOAc : 1/1)

Point de fusion : 183-184 °C

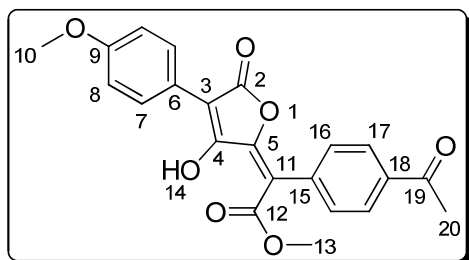
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 13.51 (s, 1H, H₁₄), 8.13 (d, 2H, J = 9.1 Hz, H₇), 7.74 (d, 1H, J = 7.6 Hz, H₁₇), 7.60 (t, 1H, J = 7.6 Hz, H₁₉), 7.53 (t, 1H, J = 7.6 Hz, H₁₈), 7.29 (d, 1H, J = 7.6 Hz, H₂₀), 6.97 (d, 2H, J = 9.1 Hz, H₈), 3.85 (s, 3H, H₁₀), 3.82 (s, 3H, H₁₃)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 171.1 (C₁₂), 165.8 (C₂), 159.8 (C₉), 158.2 (C₄), 155.6 (C₅), 132.0 (C₁₉), 131.7 (C₂₀), 130.7 (C₁₅), 129.5 (C₇), 129.1 (C₁₈ et q, J = 29.9 Hz, C₁₆), 126.5 (q, J = 4.8 Hz, C₁₇), 124.0 (q, J = 273.3 Hz, C₂₁), 121.6 (C₆), 114.1 (C₈), 112.2 (C₁₁), 105.6 (C₃), 55.4 (C₁₀), 54.4 (C₁₃)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3023, 2961, 2842, 2617, 1785, 1680, 1621, 1604, 1514, 1441, 1314, 1280, 1256, 1190, 1159, 1121, 1075, 1057, 941, 836, 770

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 421

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 443.0718 ; mesuré : 443.0711

122f**(E)-2-(4-Acétylphényl)-2-(3-hydroxy-4-(4-méthoxyphényl)-5-oxofuran-2(5H)-ylidène)acétate de méthyle****M** = 394,37 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₂₂H₁₈O₇**Solide jaune**

Selon la procédure représentative du couplage décrite pour **122a**, **120** (200 mg, 0,497 mmol, 1 éq.) et l'ester pinacolique de l'acide 4-acétylphénylboronique (184 mg, 0,746 mmol, 1,5 éq.) conduisent à l'acide **122f** (98 mg, 50 %) sous forme d'un solide jaune.

CCM : $R_f = 0.45$ (EtOAc)**Point de fusion** : 179-180 °C

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 13.49 (s, 1H, H₁₄), 8.12 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz, H₇), 8.00 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, H₁₇), 7.37 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, H₁₆), 6.97 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz, H₈), 3.87 (s, 3H, H₁₃), 3.84 (s, 3H, H₁₀), 2.64 (s, 3H, H₂₀)

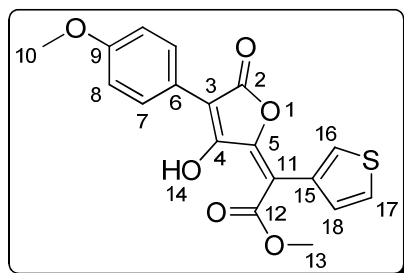
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 197.5 (C₁₉), 171.0 (C₁₂), 165.7 (C₂), 159.6 (C₉), 158.2 (C₄), 155.3 (C₅), 136.8 (C₁₅), 136.7 (C₁₈), 130.3 (C₁₆), 129.3 (C₇), 128.0 (C₁₇), 121.4 (C₆), 113.9 (C₈), 105.6 (C₁₁), 55.2 (C₁₀), 54.4 (C₁₃), 26.6 (C₂₀)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3007, 2954, 2936, 2841, 2552, 1778, 1680, 1602, 1515, 1444, 1362, 1306, 1275, 1250, 1180, 1065, 958, 938, 302, 839, 764

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 395**HRMS (ESI)** calculé pour [M + Na]⁺ : 417.0950 ; mesuré : 417.0953

122g

(E)-2-(3-Hydroxy-4-(4-méthoxyphényl)-5-oxofuran-2(5H)-ylidène)-2-(3-thiényl)acétate de méthyle



M = 358,37 g.mol⁻¹

Formule brute : C₁₈H₁₄O₆S

Solide jaune

Selon la procédure représentative du couplage décrite pour **122a**, **120** (200 mg, 0,497 mmol, 1 éq.) et l'ester pinacolique de l'acide 3-thiénylboronique (157 mg, 0,746 mmol, 1,5 éq.) conduisent à l'acide **122g** (110 mg, 61 %) sous forme d'un solide jaune.

CCM $R_f = 0.50$ (EtOAc)

Point de fusion : 195-196 °C

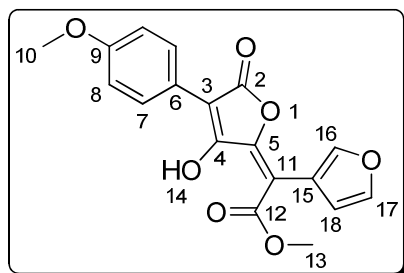
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 13.46 (s, 1H, H₁₄), 8.13 (d, 2H, $J = 9.1$ Hz, H₇), 7.40 (dd, 1H, $J = 3.0, 1.3$ Hz, H₁₆), 7.33 (dd, 1H, $J = 5.0, 3.0$ Hz, H₁₇), 7.11 (dd, 1H, $J = 5.0, 1.3$ Hz, H₁₈), 6.97 (d, 2H, $J = 9.1$ Hz, H₈), 3.92 (s, 3H, H₁₃), 3.84 (s, 3H, H₁₀)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 171.6 (C₁₂), 166.2 (C₂), 159.7 (C₉), 158.8 (C₄), 154.7 (C₅), 131.1 (C₁₅), 129.6 (C₁₈), 129.5 (C₇), 127.5 (C₁₆), 124.6 (C₁₇), 121.8 (C₆), 114.1 (C₈), 110.6 (C₁₁), 105.5 (C₃), 55.4 (C₁₀), 54.5 (C₁₃)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3101, 3013, 2961, 2934, 2837, 2540, 1767, 1673, 1597, 1516, 1439, 1416, 1363, 1309, 1275, 1253, 1189, 1066, 1025, 911, 860, 845, 809, 778

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 359

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 381.0409 ; mesuré : 381.0402

122h**(E)-2-(3-Furanyl)-2-(3-hydroxy-4-(4-méthoxyphényl)-5-oxofuran-2(5H)-ylidène)acétate de méthyle****M** = 342,30 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₈H₁₄O₇**Solide orange**

Selon la procédure représentative du couplage décrite pour **122a**, **120** (200 mg, 0,497 mmol, 1 éq.) et l'ester pinacolique de l'acide 3-furanboronique (145 mg, 0,746 mmol, 1,5 éq.) conduisent à l'acide **122h** (105 mg, 61 %) sous forme d'un solide orange.

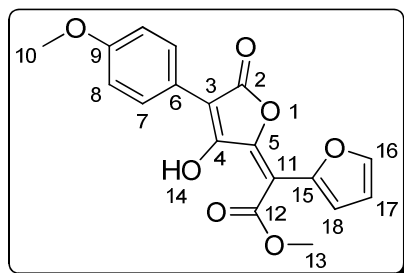
CCM : $R_f = 0.45$ (EtOAc)**Point de fusion** : 178-179 °C

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 13.32 (s, 1H, H₁₄), 8.12 (d, 2H, $J = 9.1$ Hz, H₇), 7.73 (dd, 1H, $J = 1.6, 0.8$ Hz, H₁₆), 7.46 (dd, 1H, $J = 1.9, 1.6$ Hz, H₁₇), 6.96 (d, 2H, $J = 9.1$ Hz, H₈), 6.64 (dd, 1H, $J = 1.9, 0.8$ Hz, H₁₈), 3.98 (s, 3H, H₁₃), 3.84 (s, 3H, H₁₀)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 171.3 (C₁₂), 166.1 (C₂), 159.6 (C₉), 158.8 (C₄), 153.7 (C₅), 144.5 (C₁₆), 142.3 (C₁₇), 129.5 (C₇), 121.8 (C₆), 116.4 (C₁₅), 114.0 (C₈), 112.5 (C₁₈), 107.5 (C₁₁), 105.3 (C₃), 55.4 (C₁₀), 54.5 (C₁₃)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3143, 3018, 2962, 2842, 2557, 1766, 1677, 1597, 1514, 1440, 1314, 1289, 1272, 1254, 1188, 1167, 914, 845, 814, 746

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 343**HRMS (ESI)** calculé pour [M + Na]⁺ : 365.0637 ; mesuré : 365.0639

122i**(E)-2-(2-Furanyl)-2-(3-hydroxy-4-(4-méthoxyphényl)-5-oxofuran-2(5H)-ylidène)acétate de méthyle****M** = 342,30 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₈H₁₄O₇**Solide orange**

Pour cette manipulation, tous les solvants sont dégazés, et à chaque ajout d'un réactif le milieu est mis alternative sous vide et sous argon.

A un mélange de **120** (100 mg, 0,249 mmol, 1 éq.), d'acide 2-furanboronique (34 mg, 0,298 mmol, 1,2 éq.) et de K₃PO₄ (158 mg, 0,746 mmol, 3 éq.) dans du dioxane (1,3 mL) et de l'eau (250 µL) est ajouté du Pd(PPh₃)₄ (12 mg, 0,01 mmol, 4 mol %). La réaction est chauffée à 90 °C pendant 22 h. Après retour à t.a., 3 mL d'eau, 1 mL d'une solution aqueuse de HCl 3N et 5 mL de EtOAc sont ajoutés. La phase organique est séchée sur MgSO₄ puis concentrée. Le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (cyclohexane/EtOAc/CH₂Cl₂ : 30/60/10) pour conduire à l'acide **122i** (30 mg, 35 %) sous forme d'un solide orange.

CCM $R_f = 0.40$ (EtOAc)

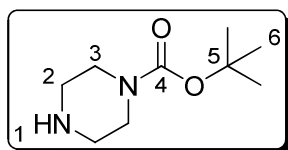
Point de fusion : 152-153 °C

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 13.03 (s, 1H, H₁₄), 8.13 (d, 2H, $J = 9.1$ Hz, H₇), 7.54 (dd, 1H, $J = 1.8, 0.7$ Hz, H₁₆), 6.97 (d, 2H, $J = 9.1$ Hz, H₈), 6.73 (dd, 1H, $J = 3.4, 0.7$ Hz, H₁₈), 6.52 (dd, 1H, $J = 3.4, 1.8$ Hz, H₁₇), 3.97 (s, 3H, H₁₃), 3.85 (s, 3H, H₁₀)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 171.0 (C₁₂), 166.0 (C₂), 159.8 (C₉), 158.6 (C₄), 154.1 (C₅), 144.4 (C₁₅), 143.7 (C₁₆), 129.6 (C₇), 121.7 (C₆), 115.1 (C₁₈), 111,5 (C₁₁), 105.9 (C₃), 55.4 (C₁₀), 54.6 (C₁₃)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3130, 3022, 2960, 2847, 2503, 1767, 1678, 1601, 1563, 1514, 1472, 1439, 1368, 1311, 1280, 1255, 1185, 1065, 1026, 978, 909, 756, 581

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 343**HRMS (ESI)** calculé pour [M + Na]⁺ : 365.0637 ; mesuré : 365.0641

126**Pipérazine-1-carboxylate de *tert*-butyle****M** = 186.25 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₉H₁₈N₂O₂**Solide blanc**

Une solution de pipérazine (2 g, 23,22 mmol, 2 éq.) dans du CH₂Cl₂ (58 mL) à 0 °C sous argon est traitée goutte à goutte avec une solution de dicarbonate de di-*tert*-butyle (2,53 g, 11,61 mmol, 1 éq.) dans du CH₂Cl₂ (23 mL). La réaction est agitée à 0 °C pendant 1 h puis le précipité obtenu est filtré. Le filtrat est alors concentré et le résidu est repris dans H₂O (35 mL). Le solide insoluble est filtré et le filtrat aqueux est saturé avec K₂CO₃ avant d'être extrait avec Et₂O (3×30 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur MgSO₄ puis concentrées sous vide pour conduire au carbonate **126** (1,55 g, 71 %) sous forme d'un solide blanc.

CCM : R_f = 0.65 (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)**Point de fusion** : 44-45 °C (*Litt.*¹⁶⁴ 45-46 °C, *Litt.*¹⁶⁵ 47-49 °C)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.87 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz, H₇), 6.94 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz, H₈), 5.27 (d, 1H, *J* = 1.9 Hz, H₅), 4.79 (d, 1H, *J* = 1.9 Hz, H₁₁), 3.82 (s, 3H, H₁₃), 3.80 (s, 3H, H₁₀)

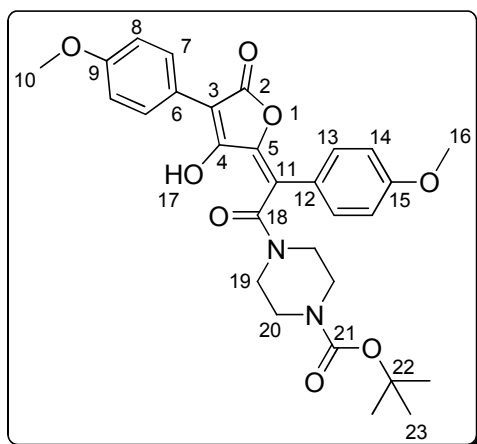
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 154.9 (C₄), 79.6 (C₅), 46.0 (C₂-C₃), 28.5 (C₆)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3325, 3005, 2978, 2945, 2867, 2822, 2803, 2749, 1674, 1474, 1460, 1426, 1341, 1290, 1263, 1245, 1173, 1145, 1127, 1093, 1058, 1004, 859, 845, 811, 771, 567

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 187**HRMS (ESI)** calculé pour [M + H]⁺ : 187.1447 ; mesuré : 187.1448

¹⁶⁴ Bradbury B. J., Baumgold J., Paek R., Kammula U., Zimmet J., Jacobson K. A. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1073-1079.

¹⁶⁵ Meurer L. C., Tolman R. L., Chapin E. W., Saperstein R., Vicario P. P., Zrada M. M., MacCoss M. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3845-3857.

127**(E)-4-(2-(3-Hydroxy-4-(4-méthoxyphényl)-5-oxofuran-2(5H)-ylidène)-2-(4-méthoxyphényl)acétyl)pipérazine-1-carboxylate de *tert*-butyle****M** = 536.57 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₂₉H₃₂N₂O₈**Solide jaune**

La 3,6-bis(4-méthoxyphényl)furo[3,2-b]furan-2,5-dione **125** (1,32 g, 3,76 mmol, 1 équ.) est ajoutée à une solution de carbamate **126** (0,7 g, 3,76 mmol, 1 équ.) dans CHCl₃ (40 mL), puis le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant la nuit. La solution orangée obtenue est refroidie avant d'être filtrée puis concentrée sous vide. L'amide **127** (2.1 g) est obtenu sous forme d'un solide jaune et est engagé dans la réaction suivante sans purification.

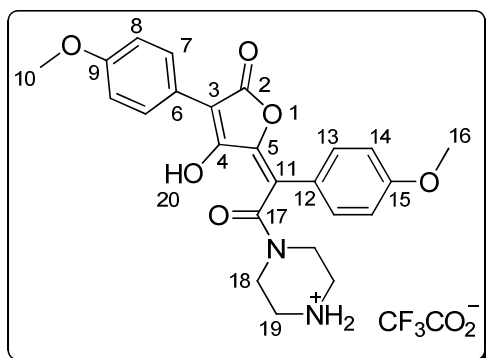
CCM : R_f = 0.15 (EtOAc)**Point de fusion** : 155-157 °C

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 8.00 (d, 2H, J = 8.9 Hz, H₇), 7.44 (d, 2H, J = 8.8 Hz, H₁₃), 6.93 (d, 2H, J = 8.8 Hz, H₁₄), 6.90 (d, 2H, J = 8.9 Hz, H₈), 3.85 (s, 3H, H₁₆), 3.80 (s, 3H, H₁₀), 3.76 (bs, 2H, H₁₉ ou H₂₀), 3.50 (bs, 2H, H₁₉ ou H₂₀), 3.16 (bs, 2H, H₁₉ ou H₂₀), 3.13 (bs, 2H, H₁₉ ou H₂₀), 1.42 (s, 9H, H₂₃)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 170.0 (C₁₈), 167.3 (C₂), 160.1 (C₁₅), 159.4 (C₉), 159.3 (C₄), 154.3 (C₂₁), 145.0 (C₅), 130.8 (C₁₃), 129.3 (C₇), 125.0 (C₁₂), 121.7 (C₆), 116.1 (C₁₁), 114.5 (C₁₄), 113.9 (C₈), 105.1 (C₃), 80.8 (C₂₂), 55.5 (C₁₆), 55.2 (C₁₀), 47.6, 43.4, 43.2 (C₁₉-C₂₀), 28.4 (C₂₃)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3421, 2971, 2937, 2840, 1754, 1696, 1647, 1626, 1601, 1513, 1465, 1438, 1367, 1304, 1288, 1250, 1162, 1142, 1023, 1000, 938, 844, 771, 657, 565, 537

MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 559**HRMS (ESI)** calculé pour [M + Na]⁺ : 559.2056 ; mesuré : 559.2048

128**2,2,2-Trifluoroacétate (*E*)-4-(2-(3-hydroxy-4-(4-méthoxyphényl)-5-oxofuran-2(5*H*)-ylidène)-2-(4-méthoxyphényl)acétyl)pipérazin-1-ium****M** = 550.48 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₂₄H₂₄N₂O₆.C₂HF₃O₂**Solide jaune**

L'amide **127** (brut, 3,76 mmol) est introduit dans du CH₂Cl₂ (30 mL) et de l'acide trifluoroacétique (15 mL) est ajouté. La solution orange foncé obtenue est agitée pendant 1 h à t.a. Ensuite, la solution est concentrée sous vide puis reprise dans un mélange H₂O/dioxane (1/1, 60 mL) et lyophilisée pour conduire au sel **128** (1,71 g, 82 %) sous forme d'un solide jaune.

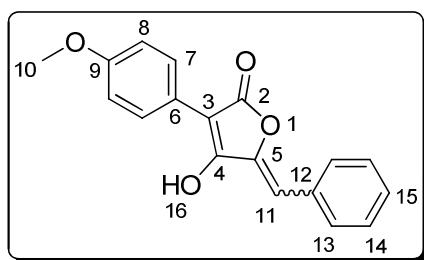
CCM : R_f = 0.50 (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)**Point de fusion** : décomposition à 290 °C

RMN ¹H (400 MHz, MeOD, δ en ppm) δ = 7.69 (d, 2H, *J* = 8.9 Hz, H₇), 7.62 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, H₁₃), 7.02 (d, 2H, *J* = 8.9 Hz, H₈), 6.98 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, H₁₄), 4.00 (t, 2H, *J* = 5.1 Hz, H₁₈), 3.84 (s, 3H, H₁₀), 3.82 (s, 3H, H₁₆), 3.71 (t, 2H, *J* = 5.1 Hz, H_{18'}), 3.32 (t, 2H, *J* = 5.1 Hz, H₁₉), 3.13 (t 2H, *J* = 5.1 Hz, H_{19'})

RMN ¹³C (100 MHz, MeOD, δ en ppm) δ = 170.8 (C₂), 168.3 (C₁₇), 165.0 (C₄), 161.8 (C₉), 160.5 (C₁₅), 142.2 (C₅), 131.8 (C₇), 130.6 (C₁₃), 125.3 (C₆), 123.0 (C₁₂), 115.9 (C₁₁), 115.5 (C₈), 115.0 (C₁₄), 103.5 (C₃), 56.0 (C₁₀), 55.8 (C₁₆), 44.6 (C_{18'}), 44.1 (C_{19'}), 43.8 (C₁₉), 39.5 (C₁₈)

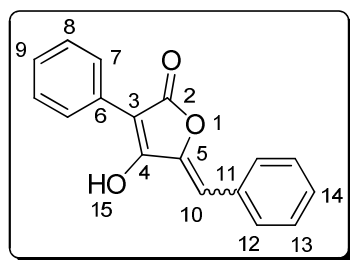
IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3448, 3002, 2840, 2483, 1752, 1676, 1604, 1559, 1512, 1464, 1442, 1285, 1252, 1185, 1147, 1028, 998, 925, 837, 798, 723, 592

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 437**HRMS (ESI)** calculé pour [M + H]⁺ : 437.1713 ; mesuré : 437.1708

137a **5-Benzylidène-4-hydroxy-3-(4-méthoxyphényl)furan-2(5H)-one****M** = 294.30 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₈H₁₄O₄**Solide jaune**

Une solution de l'éther **179c** (200 mg, 0,48 mmol, 1 éq.) dans du THF fraîchement distillé (2 mL) est ajoutée goutte à goutte à une solution refroidie à -78 °C de LiHMDS (1,7 mL, 1M dans du THF, 3,5 éq.) dans du THF fraîchement distillé (5 mL) sous azote. La réaction est agitée pendant 1 h à -78 °C, puis laissée remonter à t.a. pendant 1 h. Le mélange obtenu est refroidi dans un bain de glace et traité avec une solution aqueuse de HCl 3N (15 mL). Les deux phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite avec de l'Et₂O (30 mL), la phase organique est séchée sur MgSO₄ puis concentrée sous vide. Le produit brut obtenu est repris dans une petite quantité d'Et₂O et une filtration sur fritté (porosité 4) conduit à un mélange d'isomères *Z* et *E* de la pulvinone **137a** (86 mg, 62 %) sous forme d'un solide jaune.

CCM : $R_f = 0.35$ (cyclohexane/acétone : 1/1)**Point de fusion** : 230-231 °C (isomère *Z*: *Litt.*¹¹⁶ 219-222 °C, *Litt.*⁹⁶ 223-226 °C)**IR (KBr, ν en cm⁻¹)** $\nu = 3002, 2937, 2833, 2619, 1893, 1704, 1631, 1607, 1573, 1515, 1494, 1449, 1424, 1402, 1346, 1332, 1310, 1291, 1253, 1182, 1157, 1130, 1101, 1037, 998, 920, 872, 831, 747, 690, 655, 613, 571, 532$ **MS (ESI)** $m/z [M + H]^+ = 295$ **Isomère Z :****RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm)** $\delta = 10.97$ (bs, 1H, H₁₆), 7.94 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, H₇), 7.82 (d, 2H, $J = 7.4$ Hz, H₁₃), 7.48-7.32 (m, 3H, H₁₄-H₁₅), 7.01 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, H₈), 6.59 (s, 1H, H₁₁), 3.83 (s, 3H, H₁₀)**Isomère E :****RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm)** $\delta = 10.97$ (bs, 1H, H₁₆), 7.71 (d, 2H, $J = 7.4$ Hz, H₁₃), 7.64 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, H₇), 7.48-7.32 (m, 3H, H₁₄-H₁₅), 7.00 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, H₈), 6.82 (s, 1H, H₁₁), 3.83 (s, 3H, H₁₀)

137b**5-Benzylidène-4-hydroxy-3-phénylfuran-2(5H)-one****M** = 264.28 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₇H₁₂O₃**Solide jaune**

Selon la procédure représentative de formation des pulvinones décrite pour **137a**, l'éther **179d** (300 mg, 0,76 mmol, 1 éq.) conduit à un mélange d'isomères *Z* et *E* de la pulvinone **137b** (70 mg, 35 %) sous forme d'un solide jaune.

CCM : $R_f = 0,20$ (cyclohexane/acétone : 1/1)

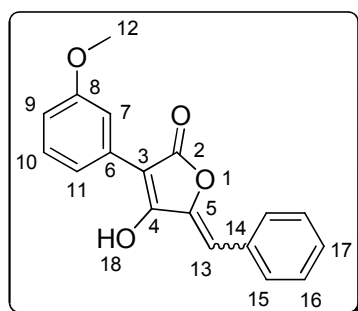
Point de fusion : 251-252 °C (isomère *Z*: *Litt.*¹¹² 250-254 °C, isomère *E*: *Litt.*¹¹² 185-187 °C)

Isomère Z :

RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 7.94 (d, 2H, *J* = 7.3 Hz, H₇), 7.81 (d, 2H, *J* = 7.4 Hz, H₁₂), 7.47-7.30 (m, 6H, H₈-H₉-H₁₃-H₁₄), 6.62 (s, 1H, H₁₀)

Isomère E :

RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 7.70 (d, 2H, *J* = 7.4 Hz, H₇), 7.66 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz, H₁₂), 7.47-7.30 (m, 6H, H₈-H₉-H₁₃-H₁₄), 6.85 (s, 1H, H₁₀)

137c **5-Benzylidène-4-hydroxy-3-(3-méthoxyphényl)furan-2(5H)-one**

M = 294.30 g.mol⁻¹

Formule brute : C₁₈H₁₄O₄

Solide jaune

Selon la procédure représentative de formation des pulvinones décrite pour **137a**, l'éther **179e** (300 mg, 0,70 mmol, 1 éq.) conduit à un mélange d'isomères *Z* et *E* de la pulvinone **137c** (74 mg, 36 %) sous forme d'un solide jaune.

CCM : *R_f* = 0,20 (cyclohexane/acétone : 1/1)

Point de fusion : 223-224 °C (isomère *Z*: *Litt.*¹¹² 225-229 °C, isomère *E*: *Litt.*¹¹² 162-164 °C)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3354, 3071, 3005, 2964, 2941, 2837, 2643, 1703, 1657, 1628, 1577, 1485, 1450, 1417, 1402, 1335, 1311, 1292, 1254, 1233, 1137, 1125, 1095, 1049, 1019, 990, 922, 873, 785, 745, 688, 670, 575

MS (ESI) *m/z* [M + H]⁺ = 295

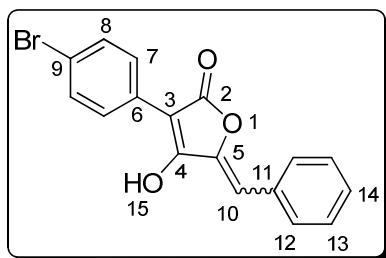
Isomère Z :

RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 7.70 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz, H₁₅), 7.48-7.34 (m, 6H, H₇-H₁₀-H₁₁-H₁₆-H₁₇), 6.90 (d, 1H, *J* = 7.2 Hz, H₉), 6.63 (s, 1H, H₁₃), 3.82 (s, 3H, H₁₆)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 167.3 (C₂), 161.0 (C₄), 159.6 (C₈), 142.3 (C₅), 133.0 (C₁₄), 130.7 (C₆), 130.2 (C₁₅), 129.2 (C₁₇), 128.8 (C₁₆), 120.2 (C₁₁), 113.4 (C₇), 113.1 (C₉), 107.1 (C₁₃), 101.9 (C₃), 54.5 (C₁₂)

Isomère E :

RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 7.53 (d, 2H, *J* = 7.6 Hz, H₁₅), 7.48-7.34 (m, 6H, H₇-H₁₀-H₁₁-H₁₆-H₁₇), 7.23 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, H₉), 6.85 (s, 1H, H₁₃), 3.82 (s, 3H, H₁₆)

137d**5-Benzylidène-3-(4-bromophényl)-4-hydroxyfuran-2(5H)-one** $M = 343.17 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ **Formule brute :** $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{BrO}_3$ **Solide jaune**

Selon la procédure représentative de formation des pulvinones décrite pour **137a**, l'éther **179f** (348 mg, 0,73 mmol, 1 éq.) conduit à un mélange d'isomères *Z* et *E* de la pulvinone **137d** (98 mg, 39 %) sous forme d'un solide jaune.

CCM : $R_f = 0,20$ (cyclohexane/acétone : 1/1)

Point de fusion : 267-269 °C

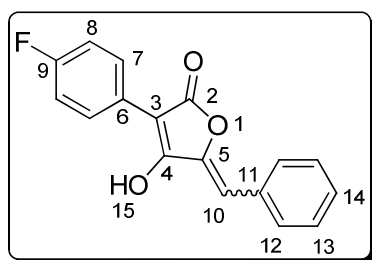
Isomère Z :

RMN ^1H (400 MHz, acétone- d_6 , δ en ppm) $\delta = 7.95$ (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, H_7), 7.81 (d, 2H, $J = 7.4$ Hz, H_{12}), 7.63-7.60 (m, 2H, H_8), 7.48-7.44 (m, 2H, H_{13}), 7.41-7.32 (m, 1H, H_{14}), 6.66 (s, 1H, H_{10})

Isomère E :

RMN ^1H (400 MHz, acétone- d_6 , δ en ppm) $\delta = 7.69$ (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, H_7), 7.66 (d, 2H, $J = 7.4$ Hz, H_{12}), 7.63-7.60 (m, 2H, H_8), 7.48-7.44 (m, 2H, H_{13}), 7.41-7.32 (m, 1H, H_{14}), 6.88 (s, 1H, H_{10})

137e **5-Benzylidène-3-(4-fluorophényl)-4-hydroxyfuran-2(5H)-one**



M = 282.27 g.mol⁻¹
Formule brute : C₁₇H₁₁FO₃
Solide jaune

Selon la procédure représentative de formation des pulvinones décrite pour **137a**, l'éther **179h** (200 mg, 0,48 mmol, 1 éq.) conduit à un mélange d'isomères *Z* et *E* de la pulvinone **137e** (90 mg, 77 %) sous forme d'un solide jaune.

CCM : $R_f = 0,20$ (cyclohexane/acétone : 1/1)

Point de fusion : 266-268 °C

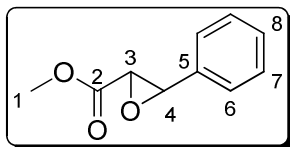
MS (ESI) $m/z [M + H]^+ = 283$

Isomère Z :

RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 8.03 (dd, 2H, *J* = 8.8, 5.6 Hz, H₇), 7.81 (d, 2H, *J* = 7.5 Hz, H₁₂), 7.48-7.44 (m, 2H, H₁₃), 7.39-7.31 (m, 1H, H₁₄), 7.23-7.17 (m, 2H, H₈), 6.64 (s, 1H, H₁₀)

Isomère E :

RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 7.74 (dd, 2H, *J* = 8.7, 5.6 Hz, H₇), 7.69 (d, 2H, *J* = 7.3 Hz, H₁₂), 7.39-7.31 (m, 2H, H₁₃), 7.23-7.17 (m, 3H, H₈-H₁₄), 6.86 (s, 1H, H₁₀)

166a**3-Phényloxirane-2-carboxylate de méthyle****M** = 178.18 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₀H₁₀O₃**Huile incolore**

Du sodium (8,32 g, 362 mmol, 1,5 éq.) est introduit dans un ballon de 250 mL contenant du MeOH (150 mL) sous argon à t.a., sous agitation. Le mélange est ensuite refroidi avec un bain de glace. Puis, lorsque peu de sodium reste en suspension, on laisse remonter à t.a. et l'agitation est poursuivie jusqu'à disparition totale du sodium. La solution est concentrée sous vide. Du THF (80 mL) est ajouté et la solution est refroidie à 0 °C sous argon. Ensuite du benzaldéhyde (24,5 mL, 241 mmol, 1 éq.) et du chloroacétate de méthyle (31,7 mL, 362 mmol, 1,5 éq.) sont ajoutés simultanément et la réaction est agitée pendant 1 h dans le bain de glace. La réaction est partitionnée entre H₂O et Et₂O. La phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée de NaCl, séchée sur MgSO₄ puis concentrée sous vide. Une distillation sous vide (P = 1 mbar, 95 °C) et une purification par chromatographie sur colonne de silice (cyclohexane/EtOAc : 98/2 à 94/6) conduisent à l'époxyde **166a** (25,6 g, 60 %) sous forme d'une huile incolore.

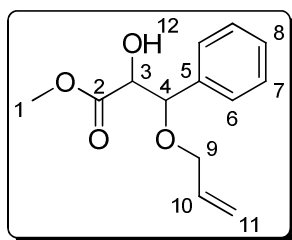
CCM R_f = 0.60 (cyclohexane/EtOAc : 7/3)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.39-7.28 (m, 5H, H_{aromatiques}), 4.10 (d, 1H, J = 1.8 Hz, H₄), 3.83 (s, 3H, H₁), 3.52 (d, 1H, J = 1.8 Hz, H₃)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 168.6 (C₂), 134.9 (C₅), 128.9 (C₆), 128.6 (C₈), 125.8 (C₇), 57.8 (C₄), 56.5 (C₃), 52.4 (C₁)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3652, 3555, 3485, 3066, 3036, 2955, 2904, 2845, 2414, 2135, 1961, 1900, 1753, 1608, 586, 1496, 1460, 1440, 1416, 1345, 1293, 1244, 1210, 1185, 1110, 1084, 1069, 1022, 1002, 930, 895, 850, 816, 760, 727, 697, 600

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 179

176a **3-(Allyloxy)-2-hydroxy-3-phénylpropanoate de méthyle**

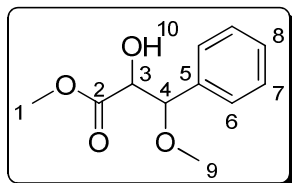
M = 236.26 g.mol⁻¹
Formule brute : C₁₃H₁₆O₄
Huile jaune

A une solution d'époxyde **166a** (500 mg, 2,8 mmol, 1 éq.) dans l'alcool allylique (2.9 mL) placée à 0 °C sous argon est ajouté goutte à goutte du BF₃.Et₂O (70 µL, 0,56 mmol, 0,2 éq.). La solution est ensuite agitée pendant 30 min à 0 °C puis 2 h à t.a. La réaction est diluée avec Et₂O (20 mL), lavée avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ (3×10 mL), séchée sur MgSO₄, puis concentrée sous vide. Le produit brut est purifié par chromatographie sur colonne de silice (cyclohexane/EtOAc : 95/5 à 85/15) pour conduire à l'alcool **176a** (mélange 3/1 d'isomères, 560 mg, 84 %) sous forme d'une huile jaune.

CCM R_f = 0.35 (cyclohexane/EtOAc : 7/3)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.39-7.28 (m, 5H, H_{aromatiques}), 5.94-5.77 (m, 1H, H₁₀), 5.27-5.17 (m, 2H, H₁₁), 4.74 (d, 1H, J = 3.1 Hz, H₄ dia mino.), 4.69 (d, 1H, J = 4.2 Hz, H₄ dia maj.), 4.50 (d, 1H, J = 4.2 Hz, H₃ dia maj.), 4.28 (d, 1H, J = 3.1 Hz, H₃ dia mino.), 4.08-4.01 (m, 2H, H₉), 3.87-3.82 (m, 1H, H₉ dia mino.), 3.79-3.74 (m, 1H, H₉ dia maj.), 3.78, 3.69 (s, 3H, H₁), 3.01, 2.87 (b, 1H, H₁₂)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 172.7, 172.4 (C₂), 137.4, 136.6 (C₅), 134.3, 134.1 (C₁₀), 128.5, 128.4 (C₇-C₈), 127.5, 127.4 (C₆), 117.6, 117.5 (C₁₁), 81.9, 81.1 (C₄), 75.3, 74.6 (C₃), 70.2, 70.0 (C₉), 52.6, 52.3 (C₁)

176c**2-Hydroxy-3-méthoxy-3-phénylpropanoate de méthyle****M** = 210.23 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₁H₁₄O₄**Huile jaune**

Selon la procédure représentative d'ouverture d'époxyde décrite pour **176a**, l'époxyde **166a** (5 g, 28 mmol, 1 éq.) conduit à l'alcool **176c** (mélange 5/1 d'isomères, 4,12 g, 70 %) sous forme d'une huile jaune.

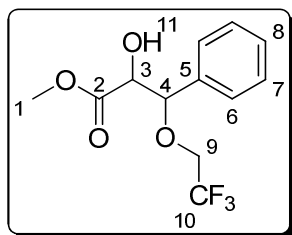
CCM $R_f = 0.50$ (cyclohexane/EtOAc : 7/3)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.39-7.28 (m, 5H, H_{aromatiques}), 4.55 (d, 1H, $J = 3.2$ Hz, H₄ dia mino.), 4.53 (d, 1H, $J = 4.1$ Hz, H₄ dia maj.), 4.50 (d, 1H, $J = 4.1$ Hz, H₃ dia maj.), 4.27 (d, 1H, $J = 3.2$ Hz, H₃ dia mino.), 3.80, 3.69 (s, 3H, H₁), 3.34, 3.29 (s, 3H, H₉), 2.81, 2.80 (b, 1H, H₁₀)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 172.4, 172.8 (C₂), 136.4, 137.2 (C₅), 128.6, 128.6, 128.5, 128.5 (C_{aromatiques}), 84.7, 84.1 (C₄), 74.5, 75.2 (C₃), 57.7, 57.6 (C₉), 52.8, 52.4 (C₁)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3361, 3089, 3066, 3031, 2998, 2962, 2937, 2901, 2877, 2823, 1947, 1745, 1710, 1495, 1455, 1436, 1414, 1360, 1347, 1249, 1217, 1178, 1120, 1091, 1054, 1029, 971, 932, 907, 847, 770, 75, 698, 619, 559

MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 233

176d **2-Hydroxy-3-phényl-3-(2,2,2-trifluoroéthoxy)propanoate de méthyle**

M = 278.22 g.mol⁻¹
Formule brute : C₁₂H₁₃F₃O₄
Huile

Selon la procédure représentative d'ouverture d'époxyde décrite pour **176a**, l'époxyde **166a** (2,5 g, 14 mmol, 1 éq.) conduit à l'alcool *syn* **176d₁** (1,99 g, 51 %) sous forme d'une huile jaune et à l'alcool *anti* **176d₂** (1,00 g, 25 %) sous forme d'une huile incolore.

CCM $R_f = 0.60$ (cyclohexane/EtOAc : 75/25)

176d₁ :

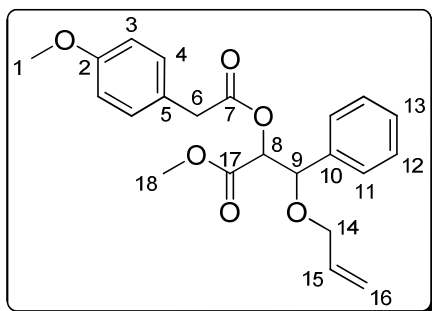
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.42-7.29 (m, 5H, H_{aromatiques}), 4.88 (d, 1H, $J = 2.8$ Hz, H₄), 4.36 (d, 1H, $J = 2.8$ Hz, H₃), 3.84-3.53 (m, 4H, H₉), 3.76 (s, 3H, H₁)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 172.1 (C₂), 135.6 (C₅), 128.7 (C₈), 128.5 (C₇), 127.5 (C₆), 123.9 (q, $J = 279.2$ Hz, C₁₀), 83.5 (C₄), 74.5 (C₃), 66.0 (q, $J = 34.4$ Hz, C₉), 52.4 (C₁)

176d₂ :

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.42-7.29 (m, 5H, H_{aromatiques}), 4.78 (d, 1H, $J = 2.8$ Hz, H₄), 4.54 (d, 1H, $J = 2.8$ Hz, H₃), 3.89-3.65 (m, 4H, H₉), 3.71 (s, 3H, H₁)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3370, 3040, 3011, 2957, 2941, 2903, 1725, 1604, 1497, 1458, 1443, 1365, 1352, 1326, 1276, 1252, 1237, 1212, 1160, 1139, 1064, 1018, 970, 91, 847, 774, 737, 701, 686, 616, 566, 552

179a **3-(Allyloxy)-2-(2-(4-méthoxyphényl)acétoxy)-3-phénylpropanoate de méthyle**

M = 384.42 g.mol⁻¹
Formule brute : C₂₂H₂₄O₆
Huile jaune

La 4-(diméthylamino)pyridine (520 mg, 4,25 mmol, 0,5 éq.) et la dicyclohexylcarbodiimide (2,1 g, 10,2 mmol, 1,2 éq.) sont ajoutés à une solution d'alcool **176a** (2 g, 8,5 mmol, 1 éq.) et d'acide 4-méthoxyphénylacétique (1,7 g, 10,2 mmol, 1,2 éq.) dans du CH₂Cl₂ (25 mL) fraîchement distillé. La solution est agitée à température ambiante pendant 12 h. Le mélange obtenu est concentré sous vide puis du Et₂O (20 mL) est ajouté et le précipité apparu est filtré. Le filtrat est ensuite lavé avec une solution saturée de NH₄Cl (3×15 mL), séché sur MgSO₄ et concentré sous vide. Le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (cyclohexane/EtOAc : 95/5 à 85/15) pour conduire à l'éther **179a** (mélange 3/1 d'isomères, 2,62 g, 90 %) sous forme d'une huile jaune.

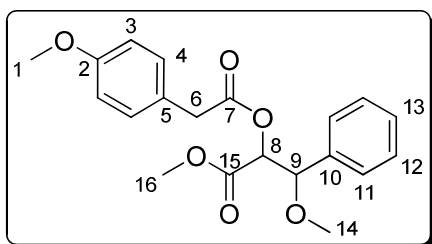
CCM $R_f = 0.50$ (cyclohexane/EtOAc : 7/3)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.33-7.26 (m, 5H, H₁₁-H₁₂-H₁₃), 7.07-7.04 (m, 2H, H₄), 6.87-6.79 (m, 2H, H₃), 5.87-5.77 (m, 1H, H₁₅), 5.27-5.24 (m, 1H, *J* = 6.3, 3.7 Hz, H₈), 5.24-5.15 (m, 2H, H₁₆), 4.95, 4.74 (d, 1H, *J* = 6.3, 3.7 Hz, H₉), 4.06-3.96 (m, 2H, H₁₄), 3.83-3.53 (m, 2H, H_{14'}), 3.79 (s, 3H, H₁₈), 3.71 (s, 3H, H₁), 3.66-3.56 (s, 2H, H₆).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 170.9 (C₇), 168.9, 168.3 (C₁₇), 158.8 (C₂), 136.9, 136.4 (C₁₀), 134.4 (C₁₅), 130.6, 130.5 (C₄), 128.6, 128.4 (C₁₂-C₁₃), 127.5, 127.4 (C₁₁), 123.5 (C₁₀), 117.9, 117.5 (C₁₆), 114.2, 114.0 (C₃), 70.3, 69.9 (C₁₄), 55.3 (C₁), 52.5, 52.4 (C₁₈), 40, 39.9 (C₆).

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3661, 3469, 3065, 3033, 3005, 2953, 2910, 2838, 2058, 1885, 1747, 1646, 1612, 1585, 1514, 1454, 1438, 1359, 1301, 1249, 1213, 1179, 1143, 1105, 1066, 1032, 925, 855, 821, 775, 730, 70, 610, 565

MS (ESI) *m/z* [M + Na]⁺ = 407

179b **3-Méthoxy-2-(2-(4-méthoxyphényl)acétoxy)-3-phénylpropanoate de méthyle**

M = 358.39 g.mol⁻¹
Formule brute : C₂₀H₂₂O₆
Huile jaune

Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **179a**, l'acide 4-méthoxyphénylacétique (3,6 g, 21,6 mmol, 1,2 éq.) et l'alcool **176c** (3,78 g, 18,0 mmol, 1 éq.) conduisent à l'éther **179b** (mélange 5/1 d'isomères, 4,51 g, 70 %) sous forme d'une huile jaune.

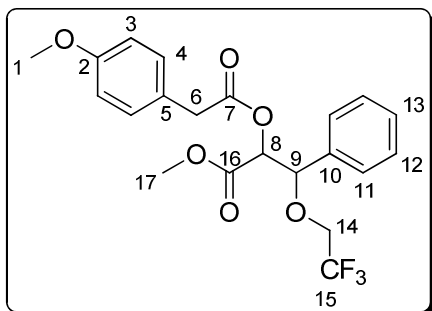
CCM $R_f = 0.40$ (cyclohexane/EtOAc : 8/2)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.33-7.22 (m, 5H, H₁₁-H₁₂-H₁₃), 7.07-7.01 (m, 2H, H₄), 6.87-6.76 (m, 2H, H₃), 5.24 (d, 1H, *J* = 6.1 Hz, H₈), 4.76 (d, *J* = 3.5 Hz, H₉ dia mino.), 4.55 (d, 1H, *J* = 6.1 Hz, H₉ dia maj.), 3.76 (s, 3H, H₁₆), 3.72 (s, 3H, H₁ dia mino.), 3.71 (s, 3H, H₁ dia maj.), 3.54 (s, 2H, H₆), 3.27 (s, 3H, H₁₄ dia mino.), 3.25 (s, 3H, H₁₄ dia maj.)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 170.8 (C₇), 168.9, 168.3 (C₁₅), 158.8 (C₁₁), 136.6, 136.5 (C₁₀), 130.6, 130.4 (C₄), 128.6, 128.5, 128.4, 128.4 (C₁₂-C₁₃), 127.7, 127.4 (C₁₁), 123.5 (C₈), 114.2, 114.0 (C₃), 82.4, 82.3 (C₉), 75.8, 75.1 (C₈), 57.9, 57.3 (C₁₄), 55.3 (C₁), 52.6, 52.4 (C₁₆), 39.9, 39.8 (C₆).

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3650, 3481, 3063, 3032, 2998, 2952, 2835, 2549, 2058, 1888, 1747, 1612, 1585, 1514, 1455, 1439, 1363, 1301, 1249, 1215, 1179, 1145, 1114, 1091, 1072, 1033, 979, 915, 856, 822, 774, 730, 702, 637, 613, 565

MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 381

179c**2-(2-(4-Méthoxyphényl)acétoxy)-3-phényl-3-(2,2,2-trifluoroéthoxy)propanoate de méthyle****M** = 426.38 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₂₁H₂₁F₃O₆**Huile jaune**

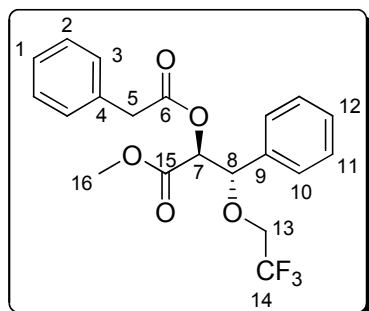
Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **179a**, l'acide 4-méthoxyphénylacétique (562 mg, 3,37 mmol, 1,2 éq.) et l'alcool **176d** (781 mg, 2,8 mmol, 1 éq.) conduisent à l'éther **179c** (mélange 3/2 d'isomères, 882 mg, 61 %) sous forme d'une huile jaune.

CCM $R_f = 0.60$ (cyclohexane/EtOAc : 7/3)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.38-7.26 (m, 5H, H₁₁-H₁₂-H₁₃), 7.09-7.02 (m, 2H, H₄), 6.87-6.78 (m, 2H, H₃), 5.29 (d, 1H, *J* = 6.5 Hz, H₈ dia mino.), 5.28 (d, 1H, *J* = 3.9 Hz, H₈ dia maj.), 5.08 (d, 1H, *J* = 3.8 Hz, H₉ dia maj.), 4.82 (d, 1H, *J* = 6.5 Hz, H₉ dia mino.), 3.90-3.66 (m, 2H, H₁₄), 3.79 (s, 3H, H₁₇), 3.75-3.60 (m, 2H, H₆), 3.71 (s, 3H, H₁)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 171.0, 170.6 (C₇), 168.0, 167.7 (C₁₆), 158.8 (C₂), 135.0, 134.5 (C₁₀), 130.1 (C₄), 129.3, 129.2 (C₁₃), 128.8, 128.7 (C₁₂), 127.8, 127.5 (C₁₁), 125.4, 125.3 (C₅), 123.7, 123.6 (q, *J* = 280.7 Hz, C₁₅), 114.1 (C₃), 82.0, 81.7 (C₉), 75.3, 74.7 (C₈), 66.4, 66.3 (q, *J* = 34.6 Hz, C₁₄), 55.4 (C₁), 52.7, 52.5 (C₁₇)

MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 449

179d **3-Phényl-2-(2-phénylacétoxy)-3-(2,2,2-trifluoroéthoxy)propanoate de méthyle**

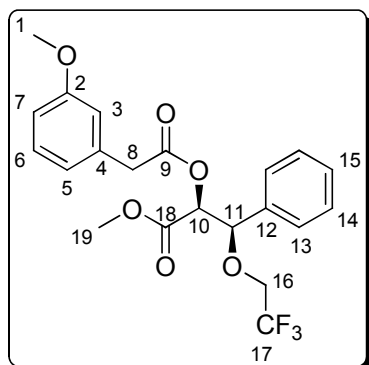
M = 396.36 g.mol⁻¹
Formule brute : C₂₀H₁₉F₃O₅
Huile jaune

Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **179a**, l'acide phénylacétique (177 mg, 1,3 mmol, 1,2 éq.) et l'alcool *anti* **176d₂** (301 mg, 1,08 mmol, 1 éq.) conduisent à l'éther *anti* **179d** (406 mg, 95 %) sous forme d'une huile jaune.

CCM *R_f* = 0,60 (cyclohexane/EtOAc : 7/3)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.39-7.10 (m, 10H, H_{aromatiques}), 5.33 (d, 1H, *J* = 6.2 Hz, H₇), 4.83 (d, 1H, *J* = 6.2 Hz, H₈), 3.90-3.60 (m, 2H, H₁₃), 3.70 (s, 3H, H₁₆), 3.62 (s, 2H, H₅)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 170.3 (C₆), 168.2 (C₁₅), 135.0 (C₉), 133.2 (C₄), 129.4 (C₃), 129.2 (C₁₂), 128.7 (C₂), 128.6 (C₁₀), 127.7 (C₂), 127.2 (C₁), 123.8 (q, *J* = 278.3 Hz, C₁₄), 81.7 (C₈), 74.8 (C₇), 66.2 (q, *J* = 34.6 Hz, C₁₃), 52.4 (C₁₆), 40.8 (C₅)

179e**2-(2-(3-méthoxyphényl)acétoxy)-3-phényl-3-(2,2,2-trifluoroéthoxy)propanoate de méthyle****M** = 426.38 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₂₁H₂₁F₃O₆**Huile incolore**

Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **179a**, l'acide 3-méthoxyphénylacétique (360 mg, 2,16 mmol, 1,2 équ.) et l'alcool *syn* **176d**₁ (500 mg, 1,8 mmol, 1 équ.) conduisent à l'éther *syn* **179e** (562 mg, 73 %) sous forme d'une huile incolore.

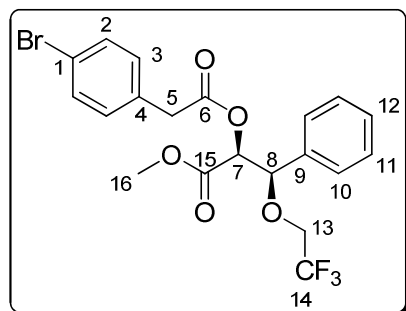
CCM $R_f = 0.60$ (cyclohexane/EtOAc : 7/3)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.32-7.25 (m, 5H, H₁₃-H₁₄-H₁₅), 7.22-7.16 (m, 1H, H₆), 6.81-6.78 (m, 1H, H₇), 6.75-6.72 (m, 2H, H₃-H₅), 5.28 (d, 1H, *J* = 3.8 Hz, H₁₀), 5.07 (d, 1H, *J* = 3.8, H₁₁), 3.86-3.75 (m, 1H, H₁₆), 3.77 (s, 3H, H₁₉), 3.71 (s, 3H, H₁), 3.66 (s, 1H, H₈), 3.65 (s, 1H, H_{8'}), 3.65-3.58 (s, 1H, H_{16'})

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 170.5 (C₉), 167.6 (C₁₈), 159.8 (C₂), 134.6 (C₄), 134.5 (C₁₂), 129.6 (C₆), 129.2 (C₁₅), 128.8 (C₁₄), 127.5 (C₁₃), 123.8 (q, *J* = 279.4 Hz, C₁₇), 121.8 (C₃), 114.9 (C₅), 81.9 (C₁₁), 75.3 (C₁₀), 66.6 (q, *J* = 35.4 Hz, C₁₆), 55.2 (C₁₉), 52.8 (C₁), 40.7 (C₈).

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3519, 3065, 3033, 3008, 2956, 2840, 2256, 1747, 1602, 1587, 1493, 1455, 1438, 1414, 1360, 1279, 1216, 1163, 1099, 1042, 1001, 967, 913, 849, 829, 770, 704, 671, 582

MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 449

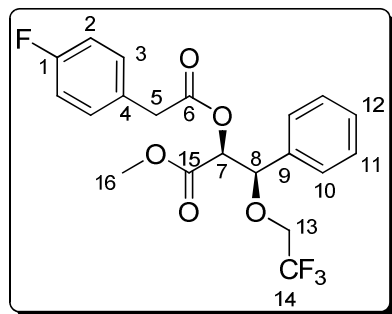
179f**2-(2-(4-bromophényl)acétoxy)-3-phényl-3-(2,2,2-trifluoroéthoxy)propanoate de méthyle****M** = 475.25 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₂₀H₁₈BrF₃O₅**Huile incolore**

Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **179a**, l'acide 4-bromophénylacétique (464 mg, 2,16 mmol, 1,2 équ.) et l'alcool *syn* **176d₁** (500 mg, 1,8 mmol, 1 équ.) conduisent à l'éther *syn* **179f** (348 mg, 41 %) sous forme d'une huile incolore.

CCM R_f = 0.60 (cyclohexane/EtOAc : 7/3)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.39 (d, 2H, J = 8.3 Hz, H₂), 7.35-7.24 (m, 5H, H₁₀-H₁₁-H₁₂), 7.02 (d, 2H, J = 8.3 Hz, H₃), 5.28 (d, 1H, J = 3.8 Hz, H₇), 5.09 (d, 1H, J = 3.8 Hz, H₈), 3.91-3.79 (m, 1H, H₁₃), 3.72 (s, 3H, H₁₆), 3.67-3.57 (m, 1H, H_{16'}), 3.63 (s, 1H, H₅), 3.62 (s, 1H, H_{5'})

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 170.1 (C₆), 167.5 (C₁₅), 134.4 (C₉), 132.3 (C₁₄), 131.7 (C₂), 131.2 (C₃), 129.2 (C₁₂), 128.8 (C₁₁), 127.4 (C₁₀), 123.7 (q, J = 279.3 Hz, C₁₄), 121.3 (C₁), 81.9 (C₈), 75.3 (C₇), 66.4 (q, J = 34.5 Hz, C₁₃), 52.6 (C₁₆), 40.1 (C₅).

179g**2-(2-(4-fluorophényl)acétoxy)-3-phényl-3-(2,2,2-trifluoroéthoxy)propanoate de méthyle****M** = 414.35 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₂₀H₁₈F₄O₅**Huile incolore**

Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **179a**, l'acide 4-fluorophénylacétique (199 mg, 1,29 mmol, 1 éq.) et l'alcool *syn* **176d₁** (300 mg, 1,08 mmol, 1 éq.) conduisent à l'éther *syn* **179g** (399 mg, 90 %) sous forme d'une huile incolore.

CCM R_f = 0.60 (cyclohexane/EtOAc : 7/3)

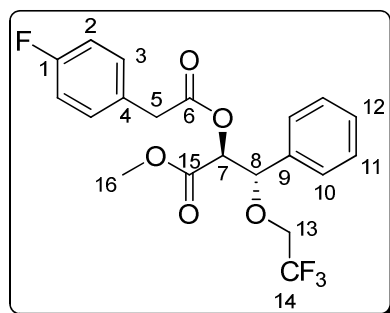
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.39-7.26 (m, 5H, H₁₀-H₁₁-H₁₂), 7.13-7.06 (m, 2H, H₃), 6.98-6.93 (m, 2H, H₂), 5.29 (d, 1H, *J* = 3.9 Hz, H₇), 5.09, (d, 1H, *J* = 3.9 Hz, H₈), 3.90-3.78 (m, 1H, H₁₃), 3.72 (s, 3H, H₁₆), 3.67-3.57 (m 1H, H_{13'}), 3.65 (s, 1H, H₅), 3.64 (s, 1H, H_{5'})

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 170.5 (C₆), 167.5 (C₁₅), 162.0 (d, *J* = 245.5 Hz, C₁), 134.5 (C₉), 131.0 (d, *J* = 8.2 Hz, C₃), 129.2 (C₁₂), 128.8 (d, *J* = 3.3 Hz, C₄), 128.7 (C₁₁), 127.5 (C₁₀), 123.9 (q, *J* = 256.5 Hz, C₁₄), 115.4 (d, *J* = 21.5 Hz, C₂), 81.9 (C₈), 75.3 (C₇), 66.4 (q, *J* = 34.5 Hz, C₁₃), 52.7 (C₁₆), 39.9 (C₅)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3483, 3036, 2956, 2851, 1892, 1749, 1605, 1511, 1454, 1438, 1420, 1361, 1280, 1223, 1151, 1097, 1029, 1003, 969, 920, 827, 800, 775, 735, 710, 671, 635, 582

MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 437

179h **2-(2-(4-fluorophényl)acétoxy)-3-phényl-3-(2,2,2-trifluoroéthoxy)propanoate de méthyle**



M = 414.35 g.mol⁻¹
Formule brute : C₂₀H₁₈F₄O₅
Solide blanc

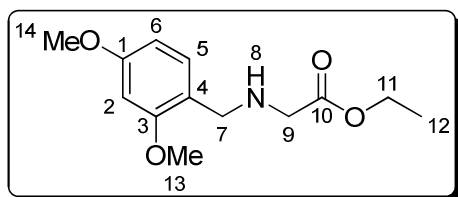
Selon la procédure représentative d'estérification décrite pour **179a**, l'acide 4-fluorophénylacétique (464 mg, 3,01 mmol, 1,7 éq.) et l'alcool *anti* **176d₂** (500 mg, 1,8 mmol, 1 éq.) conduisent à l'éther *anti* **179h** (576 mg, 77 %) sous forme d'un solide blanc.

CCM R_f = 0.60 (cyclohexane/EtOAc : 7/3)

Point de fusion : 53-54 °C

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.38-7.30 (m, 3H, H₁₁-H₁₂), 7.23-7.21 (m, 2H, H₁₀), 7.11-7.07 (m, 2H, H₃), 6.97-6.93 (m, 2H, H₂), 5.36 (d, 1H, J = 3.9 Hz, H₇), 4.82, (d, 1H, J = 3.9 Hz, H₈), 3.75-3.62 (m, 2H, H₁₃), 3.72 (s, 3H, H₁₆), 3.59 (s, 2H, H₅)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 169.9 (C₆), 168.0 (C₁₅), 161.9 (d, J = 245.5 Hz, C₁), 134.7 (C₉), 130.8 (d, J = 8.2 Hz, C₃), 129.2 (C₁₂), 128.7 (d, J = 3.4 Hz, C₄), 128.5 (C₁₁), 127.6 (C₁₀), 123.5 (q, J = 278.8 Hz, C₁₄), 115.3 (d, J = 21.5 Hz, C₂), 81.5 (C₈), 74.6 (C₇), 66.1 (q, J = 34.7 Hz, C₁₃), 52.4 (C₁₆), 39.8 (C₅)

231**2-(2,4-Diméthoxybenzylamino)acétate d'éthyle****M** = 253.29 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₃H₁₉NO₄**Huile incolore**

Une solution de 2,4-diméthoxybenzylamine (10 g, 59,8 mmol, 1 éq.) et de triéthylamine (20,8 mL, 149,5 mmol, 2,5 éq.) dans du THF fraîchement distillé (75 mL) à 0 °C sous atmosphère d'argon est traitée goutte à goutte avec du bromoacétate d'éthyle (6,63 mL, 59,8 mmol, 1 éq.). La réaction est laissée remonter doucement à t.a. pendant la nuit. La réaction est diluée avec une solution aqueuse de NaCl saturée (250 mL) puis la phase aqueuse est extraite avec EtOAc (2×200 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur MgSO₄ puis concentrées sous vide. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (cyclohexane/EtOAc : 80/20 puis 50/50) pour conduire à l'amine **231** (11,5 g, 76 %) sous forme d'une huile incolore.

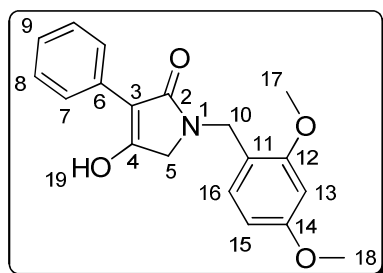
CCM : $R_f = 0.30$ (cyclohexane/EtOAc : 1/1)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 7.08 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz, H₅), 6.41-6.37 (m, 2H, H₂-H₆), 4.11 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz, H₁₁), 3.76 (s, 3H, H₁₃), 3.74 (s, 3H, H₁₄), 3.70 (s, 2H, H₇), 3.33 (s, 2H, H₉), 2.03 (bs, 1H, H₈), 1.21 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz, H₁₂)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ en ppm) δ = 172.4 (C₁₀), 160.2 (C₁), 158.7 (C₃), 130.5 (C₅), 120.1 (C₄), 103.7 (C₆), 98.5 (C₂), 60.5 (C₁₁), 55.3 (C₁₄), 55.2 (C₁₃), 50.1 (C₉), 48.1 (C₇), 14.2 (C₁₂)

IR (NaCl, ν en cm⁻¹) ν = 3342, 2938, 2836, 1737, 1613, 1588, 1507, 1464, 1290, 1261, 1208, 1187, 1156, 1134, 1035, 933, 832, 789

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 254**HRMS (ESI)** calculé pour [M + Na]⁺ : 276.1212 ; mesuré : 276.1215

232a**1-(2,4-Diméthoxybenzyl)-4-hydroxy-3-phényl-1H-pyrrol-2(5H)-one****M** = 325.36 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₉H₁₉NO₄**Solide blanc**

Une solution de phénylacétate de méthyle (150 mg, 1 mmol, 1 éq.) et de l'amine **231** (304 mg, 1,2 mmol, 1,2 éq.) dans du THF fraîchement distillé (7 mL) est traitée avec du *tert*-butylate de potassium (1,2 mL, 1M dans THF, 1,2 éq.). La réaction est chauffée à reflux sous argon pendant une nuit. Le mélange est laissé refroidir puis versé dans un mélange de glace et d'une solution aqueuse de HCl 3N (10 mL). La phase aqueuse est extraite avec EtOAc (3×10 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur MgSO₄ puis concentrées sous vide. Le résidu est trituré dans Et₂O puis filtré pour conduire à l'acide **232a** (205 mg, 63 %) sous forme d'un solide blanc.

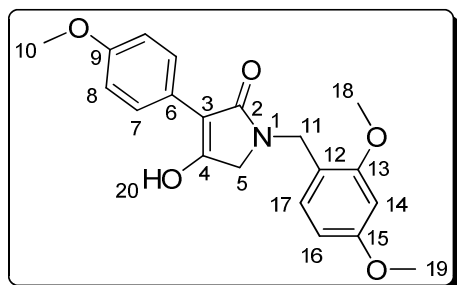
CCM R_f = 0.20 (cyclohexane/EtOAc : 1/1)**Point de fusion** : 169-170 °C

RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 10.20 (bs, 1H, H₁₉), 8.10 (d, 2H, *J* = 7.4 Hz, H₇), 7.32 (t, 2H, *J* = 7.4 Hz, H₈), 7.17 (t, 1H, *J* = 7.4 Hz, H₉), 7.10 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz, H₁₆), 6.56 (d, 1H, *J* = 2.2 Hz, H₁₃), 6.48 (dd, 1H, *J* = 8.3, 2.2 Hz, H₁₅), 4.53 (s, 2H, H₁₀), 3.93 (s, 2H, H₅), 3.85 (s, 3H, H₁₇), 3.78 (s, 3H, H₁₈)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 171.8 (C₂), 166.4 (C₄), 161.4 (C₁₄), 159.3 (C₁₂), 133.4 (C₆), 130.9 (C₁₆), 128.5 (C₈), 128.2 (C₇), 126.7 (C₉), 119.2 (C₁₁), 105.6 (C₃), 105.4 (C₁₅), 99.1 (C₁₃), 55.8 (C₁₇), 55.6 (C₁₈), 50.0 (C₅), 40.0 (C₁₀)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3002, 2971, 2913, 2839, 2618, 1652, 1614, 1504, 1456, 1397, 1358, 1315, 1210, 1181, 1134, 1038, 907, 822, 779, 739, 698

MS (ESI) *m/z* [M + H]⁺ = 326**HRMS (ESI)** calculé pour [M + Na]⁺ : 348.1212 ; mesuré : 348.1204

232b**1-(2,4-Diméthoxybenzyl)-4-hydroxy-3-(4-méthoxyphényl)-1*H*-pyrrol-2(5*H*)-one****M** = 355.38 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₂₀H₂₁NO₅**Solide jaune**

Selon la procédure représentative de formation des acides tétramiques benzylés décrite pour **232a**, le 4-méthoxyphénylacétate de méthyle (180 mg, 1 mmol, 1 éq.) conduit à l'acide **232b** (153 mg, 43 %) sous forme d'un solide jaune.

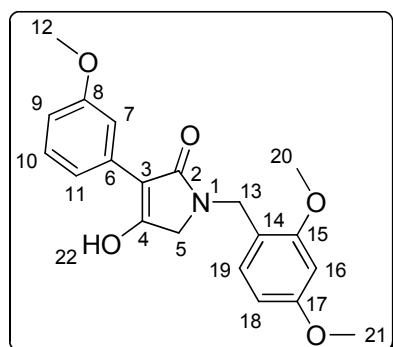
CCM R_f = 0.15 (cyclohexane/EtOAc : 1/1)**Point de fusion** : 170-171 °C

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ en ppm) δ = 11.37 (bs, 1H, H₂₀), 7.94 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz, H₇), 7.00 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz, H₁₇), 6.90 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz, H₈), 6.58 (d, 1H, *J* = 2.3 Hz, H₁₄), 6.49 (dd, 1H, *J* = 8.3, 2.3 Hz, H₁₆), 4.43 (s, 2H, H₁₁), 3.81 (s, 2H, H₅), 3.80 (s, 3H, H₁₈), 3.74 (s, 6H, H₁₀-H₁₉)

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆, δ en ppm) δ = 171.1 (C₂), 165.2 (C₄), 159.9 (C₁₅), 157.9 (C₁₃), 157.1 (C₉), 129.6 (C₁₇), 127.9 (C₇), 125.0 (C₆), 117.9 (C₁₂), 113.19 (C₈), 104.7 (C₁₆), 102.7 (C₃), 98.4 (C₁₅), 55.5 (C₁₈), 55.2 (C₁₉), 54.9 (C₁₀), 49.1 (C₅), 39.2 (C₁₁)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3002, 2958, 2921, 2839, 2536, 1674, 1591, 1514, 1455, 1442, 1392, 1358, 1290, 1246, 1210, 1178, 1117, 1032, 974, 948, 939, 902, 836, 819, 726, 661, 564

MS (ESI) m/z [M + Na]⁺ = 378**HRMS (ESI)** calculé pour [M + Na]⁺ : 378.1317 ; mesuré : 378.1320

232c **1-(2,4-Diméthoxybenzyl)-4-hydroxy-3-(3-méthoxyphényl)-1H-pyrrol-2(5H)-one**

M = 355.38 g.mol⁻¹
Formule brute : C₂₀H₂₁NO₅
Solide jaune

Selon la procédure représentative de formation des acides tétramiques benzylés décrite pour **232a**, le 3-méthoxyphénylacétate de méthyle (180 mg, 1 mmol, 1 éq.) conduit à l'acide **232c** (190 mg, 53 %) sous forme d'un solide jaune.

CCM R_f = 0.15 (cyclohexane/EtOAc : 1/1)

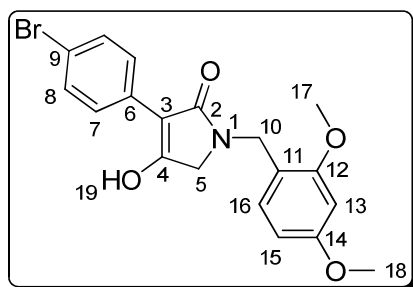
Point de fusion : 150-151 °C

RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 7.81 (dd, 1H, J = 2.6, 1.4 Hz, H₇), 7.70 (ddd, 1H, J = 7.8, 1.4, 1.0 Hz, H₁₁), 7.22 (t, 1H, J = 8.0 Hz, H₁₀), 7.10 (d, 1H, J = 8.3 Hz, H₁₉), 6.75 (ddd, 1H, J = 8.2, 2.6, 1.0 Hz, H₉), 6.56 (d, 1H, J = 2.4 Hz, H₁₆), 6.48 (dd, 1H, J = 8.3, 2.4 Hz, H₁₈), 4.52 (s, 2H, H₁₃), 3.93 (s, 2H, H₅), 3.85 (s, 3H, H₂₀), 3.78 (s, 6H, H₁₂-H₂₁)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 171.7 (C₂), 166.6 (C₄), 161.4 (C₁₇), 160.2 (C₈), 159.3 (C₁₅), 134.7 (C₆), 130.9 (C₁₉), 129.3 (C₁₀), 120.7 (C₁₁), 119.2 (C₁₄), 113.6 (C₇), 112.3 (C₉), 105.4 (C₁₈), 105.3 (C₃), 99.1 (C₁₆), 55.8 (C₂₀), 55.6 (C₂₁), 55.3 (C₁₂), 49.9 (C₅), 40.1 (C₁₃)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3433, 3005, 2956, 2836, 2624, 1609, 1510, 1455, 1382, 1290, 1211, 1160, 1035, 987, 936, 878, 828, 815, 778, 691, 647

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 356

232d**3-(4-Bromophényl)-1-(2,4-diméthoxybenzyl)-4-hydroxy-1H-pyrrol-2(5H)-one****M** = 404.25 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₉H₁₈BrNO₄**Solide blanc cassé**

Selon la procédure représentative de formation des acides tétramiques benzylés décrite pour **232a**, le 4-bromophénylacétate de méthyle (229 mg, 1 mmol, 1 éq.) conduit à l'acide **232d** (226 mg, 55 %) sous forme d'un solide blanc cassé.

CCM R_f = 0.20 (cyclohexane/EtOAc : 1/1)**Point de fusion** : 196-198 °C

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ en ppm) δ = 11.94 (bs, 1H, H₁₉), 8.02 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, H₇), 7.50 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, H₈), 7.01 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz, H₁₆), 6.57 (d, 1H, *J* = 2.3 Hz, H₁₃), 6.48 (dd, 1H, *J* = 8.3, 2.3 Hz, H₁₅), 4.43 (s, 2H, H₁₀), 3.84 (s, 2H, H₅), 3.80 (s, 3H, H₁₇), 3.74 (s, 3H, H₁₈)

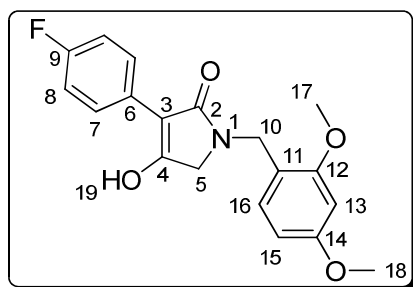
RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆, δ en ppm) δ = 170.6 (C₂), 168.0 (C₄), 159.9 (C₁₄), 157.9 (C₁₂), 131.9 (C₆), 130.7 (C₈), 129.6 (C₁₆), 128.3 (C₇), 118.2 (C₉), 117.7 (C₁₁), 104.7 (C₁₅), 101.5 (C₃), 98.4 (C₁₃), 55.5 (C₁₇), 55.2 (C₁₈), 49.2 (C₅), 39.2 (C₁₀)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3009, 2924, 2834, 2587, 1665, 1608, 1509, 1454, 1409, 1379, 1297, 1209, 1157, 1116, 1030, 826, 746

MS (ESI) *m/z* [M + H]⁺ = 404, 406

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ C₁₉H₁₈NO₄Na⁷⁹Br : 426.0317 ; mesuré : 426.0301
C₁₉H₁₈NO₄Na⁸¹Br : 428.0296 ; mesuré : 428.0285

232e **1-(2,4-Diméthoxybenzyl)-3-(4-fluorophényl)-4-hydroxy-1H-pyrrol-2(5H)-one**



M = 343.35 g.mol⁻¹
Formule brute : C₁₉H₁₈FNO₄
Solide jaune

Selon la procédure représentative de formation des acides tétramiques benzylés décrite pour **232a**, le 4-fluorophénylacétate de méthyle (168 mg, 1 mmol, 1 équ.) conduit à l'acide **232e** (245 mg, 71 %) sous forme d'un solide jaune.

CCM R_f = 0.20 (cyclohexane/EtOAc : 1/1)

Point de fusion : 144-145 °C

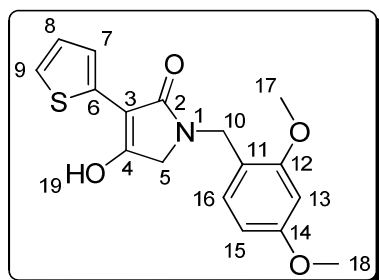
RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 8.17 (dd, 2H, J = 9.1, 5.7 Hz, H₇), 7.11-7.06 (m, 3H, H₈-H₁₆), 6.56 (d, 1H, J = 2.4 Hz, H₁₃), 6.48 (dd, 1H, J = 8.3, 2.4 Hz, H₁₅), 4.52 (s, 2H, H₁₀), 3.94 (s, 2H, H₅), 3.85 (s, 3H, H₁₇), 3.78 (s, 3H, H₁₈)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 171.8 (C₂), 166.2 (C₄), 161.7 (d, J = 243.3 Hz, C₉), 161.5 (C₁₄), 159.4 (C₁₂), 130.9 (C₁₆), 129.9 (d, J = 7.7 Hz, C₇-C₆), 119.1 (C₁₁), 115.1 (d, J = 20.7 Hz, C₈), 105.4 (C₁₅), 104.4 (C₃), 99.1 (C₁₃), 55.8 (C₁₇), 55.6 (C₁₈), 49.9 (C₅), 40.1 (C₁₀)

IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3415, 3008, 2942, 2838, 2620, 1664, 1613, 1510, 1455, 1419, 1385, 1301, 1209, 1158, 1034, 832, 815, 732, 570

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 344

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ : 366.1118 ; mesuré : 366.1123

232f**1-(2,4-Diméthoxybenzyl)-4-hydroxy-3-(2-thiényl)-1H-pyrrol-2(5H)-one****M** = 331.39 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₇H₁₇NO₄S**Solide marron foncé**

Selon la procédure représentative de formation des acides tétramiques benzylés décrite pour **232a**, le 2-(thiényl)acétate de méthyle (156 mg, 1 mmol, 1 équ.) conduit à l'acide **232f** (205 mg, 61 %) sous forme d'un solide marron foncé.

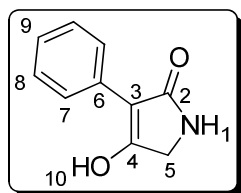
CCM $R_f = 0.15$ (cyclohexane/EtOAc : 1/1)**Point de fusion** : 135-136 °C

RMN ¹H (400 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 7.71 (d, 1H, *J* = 3.6 Hz, H₇), 7.28 (d, 1H, *J* = 5.2 Hz, H₉), 7.10 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, H₁₆), 7.03 (dd, 1H, *J* = 5.2, 3.6 Hz, H₈), 6.55 (d, 1H, *J* = 2.3 Hz, H₁₃), 6.47 (dd, 1H, *J* = 8.5, 2.3 Hz, H₁₅), 4.52 (s, 2H, H₁₀), 3.88 (s, 2H, H₅), 3.84 (s, 3H, H₁₇), 3.78 (s, 3H, H₁₈)

RMN ¹³C (100 MHz, acétone-d₆, δ en ppm) δ = 170.9 (C₂), 163.8 (C₄), 161.5 (C₁₄), 159.4 (C₁₂), 134.3 (C₆), 130.9 (C₁₆), 126.9 (C₈), 124.4 (C₉), 124.0 (C₇), 119.1 (C₁₁), 105.4 (C₁₅), 102.3 (C₃), 99.1 (C₁₃), 55.8 (C₁₇), 55.6 (C₁₈), 50.1 (C₅), 40.3 (C₁₀)

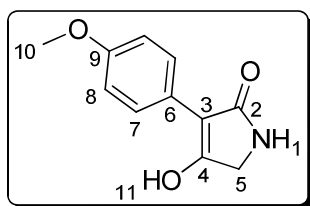
IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3399, 3002, 2939, 2836, 2686, 1667, 1613, 1591, 1509, 1456, 1438, 1401, 1337, 1294, 1266, 1209, 1157, 1131, 1035, 835, 694

MS (ESI) *m/z* [M + H]⁺ = 332**HRMS (ESI)** calculé pour [M + Na]⁺ : 354.0776 ; mesuré : 354.0765

224a **4-Hydroxy-3-phényl-1H-pyrrol-2(5H)-one****M** = 175.18 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₀H₉NO₂**Solide blanc**

L'acide **232a** (100 mg, 0,31 mmol, 1 éq.) est traité avec de l'acide trifluoroacétique (3 mL) puis agité à température ambiante pendant 1 h. La solution est ensuite concentrée sous vide. Le résidu est repris dans du toluène. Après concentration sous vide, l'acide **224a** est obtenu quantitativement sous forme d'un solide blanc.

CCM $R_f = 0.55$ (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)**Point de fusion** : 187-188 °C**RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ en ppm)** δ = 11.55 (bs, 1H, H₁₀), 7.96 (d, 2H, $J = 7.3$ Hz, H₇), 7.42 (bs, 1H, H₁), 7.30 (t, 2H, $J = 7.3$ Hz, H₈), 7.14 (t, 1H, $J = 7.3$ Hz, H₉), 3.86 (s, 2H, H₅)**RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆, δ en ppm)** δ = 173.8 (C₂), 168.8 (C₄), 132.5 (C₆), 127.6 (C₈), 126.7 (C₇), 125.4 (C₉), 103.1 (C₃), 44.8 (C₅)**IR (KBr, ν en cm⁻¹)** ν = 3355, 3277, 3000, 2939, 2834, 2709, 1642, 1615, 1508, 1453, 1391, 1315, 1299, 1223, 1202, 1184, 1116, 1094, 1037, 814, 784, 751, 697, 627**MS (ESI)** m/z [M + H]⁺ = 176**HRMS (ESI)** calculé pour [M + Na]⁺ : 198.0531 ; mesuré : 198.0522

224b**4-Hydroxy-3-(4-méthoxyphényl)-1H-pyrrol-2(5H)-one** $M = 205.21 \text{ g.mol}^{-1}$ Formule brute : $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{NO}_3$

Solide brun

Selon la procédure représentative de déprotection des acides tétramiques benzylés décrite pour **224a**, l'acide **232b** (200 mg, 0,56 mmol, 1 éq.) conduit à l'acide **224b** (quantitatif) sous forme d'un solide brun.

CCM $R_f = 0.60$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} : 8/2$)Point de fusion : décomposition à $225 \text{ }^\circ\text{C}$

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6 , δ en ppm) $\delta = 11.33$ (bs, 1H, H_{11}), 7.91 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, H_7), 7.37 (bs, 1H, H_1), 6.88 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, H_8), 3.82 (s, 2H, H_5), 3.74 (s, 3H, H_{10})

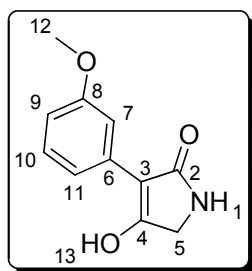
RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6 , δ en ppm) $\delta = 174.0$ (C_2), 167.2 (C_4), 157.0 (C_9), 127.9 (C_7), 125.0 (C_6), 113.1 (C_8), 102.9 (C_3), 54.9 (C_{10}), 44.7 (C_5)

IR (KBr, ν en cm^{-1}) $\nu = 3350, 2916, 2834, 2592, 1671, 1623, 1607, 1510, 1463, 1440, 1383, 1294, 1242, 1223, 1202, 1178, 1116, 1095, 1037, 1018, 835, 814, 800, 750, 609$

MS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+ = 228$ HRMS (ESI) calculé pour $[\text{M} + \text{Na}]^+ : 228.0637$; mesuré : 228.0641

224c

4-Hydroxy-3-(3-méthoxyphényl)-1H-pyrrol-2(5H)-one



$M = 205.21 \text{ g.mol}^{-1}$

Formule brute : $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{NO}_3$

Solide brun

Selon la procédure représentative de déprotection des acides tétramiques benzylés décrite pour **224a**, l'acide **232c** (100 mg, 0,28 mmol, 1 éq.) conduit à l'acide **224c** (quantitatif) sous forme d'un solide brun.

CCM $R_f = 0.55$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} : 8/2$)

Point de fusion : 180-181 °C

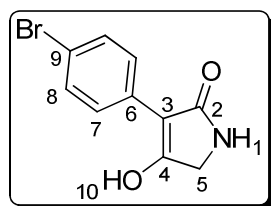
RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6 , δ en ppm) $\delta = 11.57$ (bs, 1H, H_{13}), 7.58 (s, 1H, H_7), 7.53 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz, H_{11}), 7.38, (bs, 1H, H_1), 7.16 (t, 1H, $J = 7.9$ Hz, H_{10}), 6.68 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz, H_9), 3.80 (s, 2H, H_5), 3.68 (s, 3H, H_{12})

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6 , δ en ppm) $\delta = 173.7$ (C_2), 169.1 (C_4), 158.7 (C_8), 133.8 (C_6), 128.6 (C_{10}), 119.3 (C_{11}), 112.4 (C_7), 110.9 (C_9), 102.8 (C_3), 54.8 (C_{12}), 4.8 (C_5)

IR (KBr, ν en cm^{-1}) $\nu = 3305, 2944, 2836, 2627, 1663, 1614, 1508, 1463, 1440, 1371, 1296, 1256, 1204, 1178, 1114, 1095, 1035, 860, 839, 814, 784, 746, 693, 677, 640, 581$

MS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{H}]^+ = 206$

HRMS (ESI) calculé pour $[\text{M} + \text{Na}]^+ : 228.0637$; mesuré : 228.0633

224d**3-(4-Bromophényl)-4-hydroxy-1H-pyrrol-2(5H)-one****M** = 254.08 g.mol⁻¹**Formule brute** : C₁₀H₈BrNO₂**Solide brun**

Selon la procédure représentative de déprotection des acides tétramiques benzylés décrite pour **224a**, l'acide **232d** (100 mg, 0,25 mmol, 1 éq.) conduit à l'acide **224d** (quantitatif) sous forme d'un solide brun.

CCM $R_f = 0.55$ (CH₂Cl₂/MeOH : 8/2)**Point de fusion** : décomposition à 210 °C

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ en ppm) δ = 11.86 (bs, 1H, H₁₀), 7.99 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz, H₇), 7.50 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz, H₈), 7.49 (bs, 1H, H₁), 3.86 (s, 2H, H₅)

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆, δ en ppm) δ = 173.4 (C₂), 169.7 (C₄), 131.9 (C₆), 130.6 (C₈), 128.4 (C₇), 118.2 (C₉), 101.8 (C₃), 44.8 (C₅)

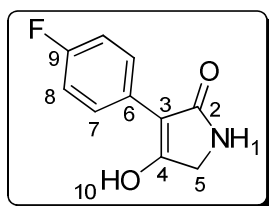
IR (KBr, ν en cm⁻¹) ν = 3424, 3001, 2920, 2834, 2673, 1633, 1589, 1509, 1491, 1441, 1425, 1378, 1300, 1224, 1202, 1038, 828, 756, 711

MS (ESI) m/z [M + H]⁺ = 254, 256

HRMS (ESI) calculé pour [M + Na]⁺ C₁₀H₈NO₂Na⁷⁹Br : 275.9636 ; mesuré : 275.9626
C₁₀H₈NO₂Na⁸¹Br : 277.9616 ; mesuré : 277.9603

224e

3-(4-Fluorophényl)-4-hydroxy-1H-pyrrol-2(5H)-one



$M = 193.17 \text{ g.mol}^{-1}$

Formule brute : $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{FNO}_2$

Solide jaune

Selon la procédure représentative de déprotection des acides tétramiques benzylés décrite pour **224a**, l'acide **232e** (100 mg, 0,29 mmol, 1 éq.) conduit à l'acide **224e** (quantitatif) sous forme d'un solide jaune.

CCM $R_f = 0.55$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} : 8/2$)

Point de fusion : décomposition à $200 \text{ }^\circ\text{C}$

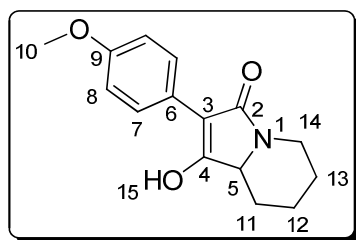
RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6 , δ en ppm) $\delta = 11.66$ (bs, 1H, H_{10}), 8.03 (dd, 2H, $J = 9.0$, 5.9 Hz, H_7), 7.44 (bs, 1H, H_1), 7.13 (t, 2H, $J = 9.0$ Hz, H_8), 3.86 (s, 2H, H_5)

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6 , δ en ppm) $\delta = 173.7$ (C_2), 168.7 (C_4), 160.0 (d, $J = 243.6$ Hz, C_9), 129.0 (d, $J = 3.1$ Hz, C_6), 128.4 (d, $J = 7.8$ Hz, C_7), 114.5 (d, $J = 20.6$ Hz, C_8), 102.1 (C_3), 44.8 (C_5)

IR (KBr, ν en cm^{-1}) $\nu = 3398$, 3002 , 2931 , 2834 , 2355 , 1825 , 1612 , 1591 , 1509 , 1466 , 1442 , 1372 , 1300 , 1203 , 1159 , 1037 , 836 , 814 , 749 , 606 , 593 , 575

MS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{H}]^+ = 194$

HRMS (ESI) calculé pour $[\text{M} + \text{Na}]^+ : 216.0437$; mesuré : 216.0426

234**1-Hydroxy-2-(4-méthoxyphényl)-6,7,8,8a-tétrahydroindolizin-3(5H)-one**

$$M = 259.30 \text{ g.mol}^{-1}$$

Formule brute : $C_{15}H_{17}NO_3$

Solide gris

Une solution de 4-méthoxyphénylacétate de méthyle (180 mg, 1 mmol, 1 éq.) et de pipécolinate de méthyle (172 mg, 1,2 mmol, 1,2 éq.) dans du THF fraîchement distillé (7 mL) est traitée avec du *tert*-butylate de potassium (1,2 mL, 1M dans THF, 1,2 éq.). La réaction est chauffée à reflux sous argon pendant une nuit. Le mélange est laissé refroidir puis versé dans un mélange de glace et d'une solution aqueuse de HCl 3N (10 mL). La phase aqueuse est extraite avec EtOAc (3×10 mL). Les phases organiques réunies sont séchées sur $MgSO_4$ puis concentrées sous vide. Le résidu est trituré dans Et_2O . Le précipité est filtré pour conduire à l'acide **234** (100 mg, 37 %) sous forme d'un solide gris.

CCM $R_f = 0.15$ (cyclohexane/EtOAc : 1/1)

Point de fusion : 212-213 °C

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6 , δ en ppm) $\delta = 11.16$ (bs, 1H, H_{15}), 7.92 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, H_7), 6.89 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, H_8), 4.12 (dd, 1H, $J = 12.8, 4.0$ Hz, H_{14}), 3.81 (dd, 1H, $J = 11.4, 3.5$ Hz, H_5), 3.74 (s, 3H, H_{10}), 2.72 (dt, 1H, $J = 12.8, 2.8$ Hz, $H_{14'}$), 2.34 (m, 1H, H_{11}), 1.83 (m, 1H, H_{12}), 1.64 (m, 1H, H_{13}), 1.47 (m, 1H, $H_{12'}$), 1.15 (m, 1H, $H_{13'}$), 0.97 (m, 1H, $H_{11'}$)

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6 , δ en ppm) $\delta = 168.6$ (C_4), 168.2 (C_2), 157.0 (C_9), 128.0 (C_7), 125.0 (C_6), 113.1 (C_8), 102.0 (C_3), 56.3 (C_5), 54.9 (C_{10}), 37.6 (C_{14}), 30.0 (C_{11}), 25.6 (C_{13}), 22.4 (C_{12})

IR (KBr, ν en cm^{-1}) $\nu = 3007, 2934, 2862, 2836, 2678, 1663, 1610, 1514, 1461, 1427, 1378, 1308, 1290, 1248, 1206, 1184, 1165, 1034, 1016, 1000, 880, 834, 792, 718, 586, 532$

MS (ESI) m/z $[M + H]^+ = 260$

HRMS (ESI) calculé pour $[M + Na]^+ : 282.1106$; mesuré : 282.1098

Partie expérimentale : évaluations biologiques

Protocole du test par capture du radical DPPH

Ce test antioxydant a été réalisé à l'aide du radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH, Sigma Aldrich). Les mesures ont été réalisées dans de l'éthanol pur sur des plaques 96 puits à l'aide d'un spectrophotomètre SpectraMax Plus³⁸⁴ (Molecular Devices). Pour chaque composé, une gamme de concentrations a été préparée directement sur la plaque, allant de 1.10^{-3} M à $1,95.10^{-6}$ M et avec un volume de 100 μ L. Des témoins d'éthanol pur et de DPPH à 100 μ M sont disposés respectivement dans les colonnes 1 et 12. Ensuite 100 μ L d'une solution de DPPH à 200 μ M est ajoutée dans chaque puits (sauf colonnes 1 et 12). L'absorbance est alors mesurée à 515 nm.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
A	EtOH	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	DPPH			
B	EtOH											DPPH			
C	EtOH				Antioxydants de concentration C1 à C10							DPPH			
D	EtOH														DPPH
E	EtOH														DPPH
F	EtOH														DPPH
G	EtOH											DPPH			
H	EtOH											DPPH			

EtOH: éthanol pur. **DPPH:** témoin en l'absence d'antioxydant. **Colonnes 2 à 10:** études des agents antioxydants. Quatre antioxydants étudiés par plaque.

Préparation de la plaque :

Ligne A-B : Antioxydant 1. **Ligne C-D :** Antioxydant 2. **Ligne E-F :** Antioxydant 3. **Ligne G-H :** Antioxydant 4.

Colonne 1 : EtOH : 200 μ L d'éthanol pur. **Colonne 2 :** 100 μ L d'éthanol pur, 100 μ L d'agent antioxydant à 2 mM dans éthanol pur. **Colonnes 3 à 11 :** 100 μ L d'éthanol pur, 100 μ L du mélange de la colonne précédente. **Colonne 12 :** DPPH : 100 μ L d'éthanol pur.

Retirer 100 μ L du mélange de la colonne 11 puis ajouter, dans les colonnes 2 à 12, 100 μ L d'une solution de DPPH à 200 μ M dans éthanol pur. Lecture immédiate de l'absorbance à 515 nm avec un spectrophotomètre, puis toutes les 5 min pendant 1 heure.

Protocole des tests de protection de la thymidine

Composition du tampon EIA : $[K_2PO_4] = 0,08 \text{ M}$, $[KH_2PO_4] = 0,02 \text{ M}$, $[NaCl] = 0,15 \text{ M}$, $[BSA] = 145 \mu\text{M}$, $[NaN_3] = 1,5 \text{ mM}$

Solution de lavage : [tween 20] = 0,05 % de tween 20 (v/v), tampon phosphate à 10 mM (pH = 7,4) dans l'eau.

Réactif d'Ellman : $[DTNB] = 250 \mu\text{M}$, [acétylthiocholine] = 76 mM, $[NaCl] = 1,45 \text{ M}$, tampon phosphate 10 mM (pH 7,4). L'absorbance à 414 nm est lue par un lecteur de plaque Labsystem Miltiskan Biochromatique.

Préparation des plaques CAS :

Cette étape consiste à adsorber sur la surface des puits des anticorps polyclonaux de chèvre dirigés contre les immunoglobulines de souris. Dans chaque puits sont disposés 200 μL d'une solution d'anticorps (AFFinipure, Goat Anti-mouse IgG+IgM, H+L) à 5 $\mu\text{g/mL}$ dans le tampon phosphate 50 mM (pH 7,4). Après 16 heures à température ambiante, la plaque est lavée avec la solution de lavage. Dans chaque puits sont introduits 300 μL de tampon EIA. Ensuite la plaque est recouverte d'un film adhésif.

Dosage par compétition de la thymidine :

Dans une plaque CAS sont introduits 50 μL de la solution de thymidine à doser dans le tampon EIA et 50 μL d'une solution d'anticorps mAb72 contre l'AMT à 9,6 ng/mL dans le tampon EIA, 50 μL d'une solution de traceur enzymatique AMT-AChE à 2 UEll/mL dans le tampon EIA. Le témoin LNS (liaison non spécifique) est déterminé par la mesure de l'absorbance d'un mélange de 50 μL de la solution du traceur enzymatique et de 100 μL de tampon EIA. Le signal B_0 (obtenu en l'absence de thymidine) par le mélange de 50 μL de la solution d'anticorps, de 50 μL de la solution du traceur enzymatique et de 50 μL de tampon EIA. La plaque est agitée pendant 2 heures à température ambiante, lavée 3 fois avec une solution de lavage, puis 200 μL du réactif d'Ellman sont additionnés. Après une heure d'agitation, l'absorbance à 414 nm est lue dans chaque puits.

Protocole général par irradiation γ :

Plaque I : plaque en quartz

Plaque 96 puits de 300 μL (irradiation Institut Curie d'Orsay)

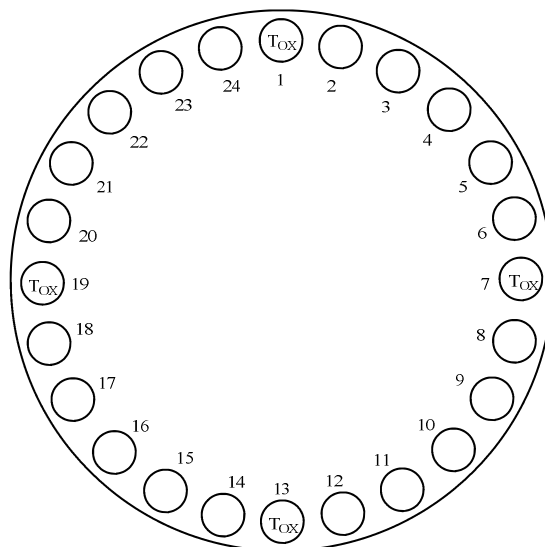
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		T _{OX}				T _{OX}	T _{OX}				T _{OX}	
B		T _{OX}				T _{OX}	T _{OX}				T _{OX}	
C		T _{OX}	Antioxydants			T _{OX}	T _{OX}	Antioxydants			T _{OX}	
D		T _{OX}				T _{OX}	T _{OX}				T _{OX}	
E		T _{OX}				T _{OX}	T _{OX}				T _{OX}	
F		T _{OX}				T _{OX}	T _{OX}				T _{OX}	
G		T _{OX}				T _{OX}	T _{OX}				T _{OX}	
H		T _{OX}				T _{OX}	T _{OX}				T _{OX}	

Témoins Tox : expérience en l'absence d'agent protecteur (calibrage du test),
Colonnes 3 à 5 et 8 à 10 : étude des agents protecteurs (2 puits par molécule testée).

Colonnes 1 et 12 : vide. **Colonnes 2, 6, 7 et 11** : Tox : 75 µL de thymidine à 30 µM dans le tampon phosphate pH 7,4, à 50 mM, 75 µL d'eau. **Colonnes 3 à 5 et 8 à 10** : 75 µL de thymidine à 30 µM dans le tampon phosphate pH 7,4 à 50 mM, 3,75 µL d'agent protecteur à 2 mM dans l'eau, 71,25 µL d'eau.

Irradiation gamma pendant 135 minutes (340 Gy) avec deux ouvertures de l'irradiateur après 45 et 90 minutes, à l'aide d'un irradiateur IBL-637 (¹³⁷Cs), Institut Curie d'Orsay.

Plaque cylindrique (irradiation CEA/SIS2M)



Puits 1, 7, 13 et 19 : Tox : 75 µL de thymidine à 30 µM dans le tampon phosphate pH 7,4, à 50 mM, 75 µL d'eau. **Autres puits** : 75 µL de thymidine à 30 µM dans le tampon phosphate pH 7,4 à 50 mM, 3,75 µL d'agent protecteur à 2 mM dans l'eau, 71,25 µL d'eau.

Irradiation gamma pendant 30 minutes (180 Gy) à l'aide d'irradiateur GammaCell 3000 Elan (¹³⁷Cs, CEA/SIS2M).

Plaque II : plaque CAS

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		LNS	28	28	Tox							Tox
B		LNS	14	14	Tox							Tox
C		LNS	7	7	Tox	Antioxydants						Tox
D		LNS	3,5	3,5	Tox							Tox
E		B ₀	1,75	1,75	Tox							Tox
F		B ₀	0,87	0,87	Tox							Tox
G		B ₀	0,44	0,44	Tox							Tox
H		B ₀	0,22	0,22	Tox							Tox

Témoins LNS, B₀, et colonnes 3 et 4 : dosage par compétition de la thymidine (calibrage du test, concentration en µM), **Témoins Tox** : expérience en l'absence d'agent protecteur (calibrage du test), **Colonnes 5 à 12** : étude des agents protecteurs (2 puits par molécule testée).

Colonne 1 : vide. **Colonne 2** : 50 µL de tampon EIA dilué 2 fois. **Colonnes 3 et 4** : 50 µL de thymidine (à concentration variable) dans le tampon EIA dilué 2 fois. **Colonnes 5 à 12** : 25 µL de tampon EIA, addition de 25 µL des solutions des puits de la *plaque I*.

Colonnes 2 à 12 : 50 µL de mAb72 à 9,6 ng/mL dans tampon EIA (sauf LNS, 50 µL de tampon EIA), 50 µL d'AMT-AChE à 2 UEll/mL dans le tampon EIA.

Agitation pendant 2 h à 20 °C. Lavage trois fois par du tampon de lavage. Addition de 200 µL du réactif d'Ellman. Lecture de la densité optique à 414 nm après 1 h.

Protocole général du test par UV/H₂O₂ :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		LNS	560	560								
B		LNS	280	280								
C		B ₀	140	140			Antioxydants					
D		B ₀	70	70								
E		B ₀	35	35								
F		B ₀	17,5	17,5								
G		T _{OX}	8,75	8,75								
H		T _{OX}	4,4	4,4								

Témoins LNS, B₀, et colonnes 3 et 4 : dosage par compétition de la thymidine (calibrage du test, concentration en µM), **Témoins Tox** : expérience en l'absence d'agent protecteur (calibrage du test), **Colonnes 5 à 12** : étude des agents protecteurs (2 puits par molécule testée).

Plaque I : 96 puits de 300 µL.

Colonne 1 : vide. **Colonne 2** : LNS et B₀ : 100 µL d'eau. **Tox** : 50 µL de thymidine à 140 µM dans le tampon phosphate pH = 7,4 à 50 mM, 25 µL d'eau, 25 µL de H₂O₂ à 20 mM dans l'eau. **Colonnes 3 et 4** : 50 µL de thymidine (concentration variable) dans le tampon phosphate pH 7,4 à 50 mM, 50 µL d'eau. **Colonnes 5 à 12** : 50 µL de thymidine à 140 µM dans le tampon phosphate pH 7,4 à 50 mM, 25 µL d'agent protecteur dans l'eau, 25 µL de H₂O₂ à 20 mM dans l'eau.

Irradiation à 254 nm, 1,75 J/cm². Irradiateur Bio-Sun 3W, Vilbert Lourmat (Marne la Vallée).

Plaque II : plaque CAS

Colonne 1 : vide. **Colonnes 2 à 12** : 50 µL de tampon EIA, addition de 5 µL des solutions des puits de la *plaque I*, 50 µL de mAb72 à 9,6 ng/mL dans le tampon EIA (sauf LNS, 50 µL de tampon EIA), 50 µL d'AMT-AChE à 2 UEll/mL dans le tampon EIA.

Agitation pendant 2 h à 20 °C. Lavage trois fois par du tampon de lavage. Addition de 200 µL du réactif d'Ellman. Lecture de la densité optique à 414 nm après 1 h.

Protocole général du test par stress Fenton :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		LNS	560	560								
B		LNS	280	280								
C		B ₀	140	140			Antioxydants					
D		B ₀	70	70								
E		B ₀	35	35								
F		B ₀	17,5	17,5								
G		T _{OX}	8,75	8,75								
H		T _{OX}	4,4	4,4								

Témoins LNS, B₀, et colonnes 3 et 4 : dosage par compétition de la thymidine (calibrage du test, concentration μM), **Témoins Tox :** expérience en l'absence d'agent protecteur (calibrage du test), **Colonnes 5 à 12 :** étude des agents protecteurs (2 puits par molécule testée).

Plaque I : 96 puits de 300 μL .

Colonne 1 : vide. **Colonne 2 :** LNS et B₀ : 110 μL d'eau. Tox : 50 μL de thymidine à 140 μM dans le tampon phosphate pH 7,4 à 50 mM, 25 μL d'eau, 25 μL de Fe/EDTA à 2,8 mM dans l'eau, 10 μL de H₂O₂ à 770 mM dans l'eau. **Colonnes 3 et 4 :** 50 μL de thymidine (concentration variable) dans le tampon phosphate pH 7,4 à 50 mM, 60 μL d'eau. **Colonnes 5 à 12 :** 25 μL d'agent protecteur dans l'eau, 25 μL de Fe/EDTA à 2,8 mM dans l'eau, 50 μL de thymidine à 140 μM dans le tampon phosphate pH 7,4 à 50 mM, 10 μL de H₂O₂ à 770 mM dans l'eau.

Agitation pendant 30 minutes à 20 °C.

Plaque II : plaque CAS

Colonne 1 : vide. **Colonnes 2 à 12 :** 50 μL de tampon EIA, addition de 5 μL des solutions des puits de la *plaque I*, 50 μL de mAb72 à 9,6 ng/mL dans le tampon EIA (sauf LNS, 50 μL de tampon EIA), 50 μL d'AMT-AChE à 2 UEll/mL dans le tampon EIA.

Agitation pendant 2 h à 20 °C. Lavage trois fois par du tampon de lavage. Addition de 200 μL du réactif d'Ellman. Lecture de la densité optique à 414 nm après 1 h.

Références bibliographiques

1. Cherry Jr. R. N. *Les Rayonnements Ionisants, Encyclopédie de Sécurité et de Santé au Travail*, 3ème édition, 2000, chapitre 48.
2. Spothem-Maurizot M., Begusova M., Charlier M. *L'Actualité Chimique* **2003**, 269-270, 97-102.
3. Breen A. P., Murphy J. A. *Free Rad. Biol. Med.* **1995**, 18, 1033-1077.
4. Buxton G. V. In *L'actualité chimique (livre), Radiation chemistry, from basics to applications in material and life sciences*, Spothem-Maurizot M., Mostafavi M., Douki T., Belloni J., EDP sciences: Les Ulis, 2008, 3-16.
5. Fontecave M., Pierre J.-L. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1991**, 128, 505-520.
6. Favier A. *L'Actualité Chimique*, **2003**, 269-270, 108-115.
7. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Third edition, Oxford University Press, 1985.
8. Devasagayam T. P. A., Tilak J. C., Boloor K. K., Sane K. S., Ghaskadbi S. S., Lele R. *D. J. Assoc. Physicians India* **2004**, 52, 794-804.
9. Nénot J.-C. *Effets biologiques des rayonnements ionisants*, Techniques de l'ingénieur, BN3902, 1999.
10. Developmental effects of irradiation on the brain of the embryo and fetus, International commission on radiological protection (ICRP), publication 49, 17, Pergamon Press: Oxford, New York, 1986.
11. Lee L., Koo N., Min D. B. *Comp. Rev. Food Sci. Saf.* **2004**, 3, 21-33.
12. Bravo L. *Nutr. Rev.* **1998**, 56, 317-333.
13. German J. B., Walzem R. L. *Annu. Rev. Nutr.* **2000**, 20, 561-593.
14. Hosseinimehr S. J. *Drug Discovery Today* **2007**, 12, 794-805.
15. Greenberger J. S. *in vivo* **2009**, 23, 323-336.
16. Patt H. M., Tyree E. B., Straube R. L., Smith D. E. *Science* **1949**, 110, 213-214.
17. Bacq Z. M., Herve A., Lecomte J., Fischer P., Blavier J., Dechamps G., Le Bihan H., Rayet P. *Arch. Int. Physiol.* **1951**, 59, 442-447.
18. Piper J. R., Stringfellow Jr. C. R., Elliott R. D., Johnston T. P. *J. Med. Chem.* **1969**, 2, 236-243; Piper J. R., Stringfellow Jr. C. R., Johnston T. P. *J. Med. Chem.* **1969**, 2, 244-253.
19. Yuhas J. M., Storer J. B. *J. Nat. Cancer Inst.* **1969**, 42, 331-335; Yuhas J. M. *Radiat. Res.* **1970**, 44, 621-628; Yuhas J. M., Proctor J. O., Smith L. H. *Radiat. Res.* **1973**, 54, 222-233.
20. Seed T. M. *Health Phys.* **2005**, 89, 531-545.
21. Hahn S. M., Krishna M. C., DeLuca A. M., Coffin D., Mitchell J. B. *Free Radic. Biol. Med.* **2000**, 28, 953-958.
22. Martin R. F., Broadhurst S., Reum M. E., Squire C. J., Clark G. R., Lobachevsky P. N., White J. M., Clark C., Sy D., Spothem-Maurizot M., Kelly D. K. *Cancer Res.* **2004**, 64, 1067-1070.
23. Epperly M. W., Gretton J. A., DeFilippi S. J., Sikora C. A., Liggitt D., Koe G., Greenberger J. S. *Radiat. Res.* **2001**, 155, 2-14; Epperly M. W., Kagan V. E., Sikora C. A., Gretton J. E., Defilippi S. J., Bar-Sagi D., Greenberger J. S. *Int. J. Cancer* **2001**, 96, 221-231; Guo H., Seixas-Silva Jr. J. A., Epperly M. W., Gretton J. E., Shin D. M., Bar-Sagi D., Archer H., Greenberger J. S. *Radiat. Res.* **2003**, 159, 361-370.

24. Epperly M. W., Carpenter M., Agarwal A., Mitra P., Nie S., Greenberger J. S. *in vivo* **2004**, *18*, 401-410; Epperly M. W., Wegner R., Kanai A. J., Kagan V., Greenberger E. E., Nie S., Greenberger J. S. *Radiat. Res.* **2007**, *167*, 289-297.
25. Vajragupta O., Boonchoong P., Sumanont Y., Watanabe H., Wongkrajang Y., Kammasud N. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 2329-2337.
26. Emami S., Hosseinimehr S. J., Taghdisi S. M., Akhlaghpour S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 45-48.
27. Legué F., Guitton N., Brouazin-Jousseume V., Collet-Durel S., Nourgalieva K., Chenal C. *Cytokine* **2001**, *16*, 232-238.
28. Streeter P. R., Dudley L. Z., Fleming W. H. *Exp. Hematol.* **2003**, *31*, 1119-1123.
29. Maisin J. R., Albert C., Henry A. *Radiat. Res.* **1993**, *135*, 332-337; Song J.-Y., Han S.-K., Bae K.-G., Lim D.-S., Son S.-J., Jung I.-S., Yi S.-Y., Yun, Y.-S. *Radiat. Res.* **2003**, *159*, 768-774.
30. Hosseinimehr S. J., Zakaryae V., Froughizadeh M. *Mol. Cell. Biochem.* **2006**, *287*, 193-199.
31. Stickney D. R., Dowding C., Garsd A., Ahlem C., Whitnall M., McKeon M., Reading C., Frincke J. *Int. Immunopharmacol.* **2006**, *6*, 1706-1713; Stickney D. R., Dowding C., Authier S., Garsd A., Onizuka-Handa N., Reading C., Frincke J. M. *Int. Immunopharmacol.* **2007**, *7*, 500-505.
32. Burdelya L. G., Krivokrysenko V. I., Tallant T. C., Strom E., Gleiberman A. S., Gupta D., Kurnasov O. V., Fort F. L., Osterman A. L., DiDonato J. A., Feinstein E., Gudkov A. V. *Science* **2008**, *320*, 226-230.
33. Potten C. S. *Cancer Metastasis Rev.* **1992**, *11*, 179-195; Gudkov A. V., Komarova E. A. *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 117-129; Kolesnick R., Fuks Z. *Oncogene* **2003**, *22*, 5897-5906.
34. Karin M. *Nature* **2006**, *441*, 431-436.
35. Rima G., Satgé J., Dagiral R., Lion C., Fatôme M., Roman V., Laval J. D. *Appl. Organomet. Chem.* **1999**, *13*, 583-594.
36. Weiss J. F., Landauer M. R. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2000**, *899*, 44-60.
37. Venkatachalam S. R., Chattopadhyay S. *Curr. Org. Chem.* **2005**, *9*, 389-404.
38. Gill M., Steglich W. *Progr. Chem. Org. Nat. Prod.* **1987**, *51*, 1-317.
39. Huneck S. *Progr. Chem. Org. Nat. Prod.* **2001**, *81*, 1-276.
40. Bebert J. *Journal de Pharmacie et des Sciences Accessoires* **1831**, *17*, 696-700.
41. Spiegel A. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1883**, *219*, 1-56.
42. Beaumont P. C., Edwards R. L., Elsworthy G. C. *J. Chem. Soc. C* **1968**, 2968-2974.
43. Steglich W., Furtner W., Porx A. *Z. Naturforsch. B: Chem. Sci.* **1968**, *23*, 1044-1050.
44. Steffan B., Steglich W. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 445-447.
45. Winner M., Gimenez A., Schmidt H., Sontag B., Steffan B., Steglich W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1883-1886.
46. Read G., Vining L. C., Haskins H. *Can. J. Chem.* **1962**, *40*, 2357-2361; Mosbach K. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1964**, *17*, 363-367; Mosbach K. *Acta Chem. Scand.* **1967**, *21*, 2331-2334; Maass W. S. G., Neish A. C. *Can. J. Bot.* **1967**, *45*, 59-72; Mosbach K. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1969**, *8*, 240-250.
47. Volhard J. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1894**, *282*, 1-21.
48. Rao Y. S. *Chem. Rev.* **1976**, *76*, 625-694; Pattenden G. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* **1978**, *35*, 133-198; Zografos A. L., Georgiadis D. *Synthesis* **2006**, 3157-3188.
49. Brückner R. *Curr. Org. Chem.* **2001**, *5*, 679-718.
50. Asano M., Kameda Y. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1934**, 1522-1526.
51. Åkermark, B. *Acta Chem. Scand.* **1961**, *15*, 1695-1700.
52. Mittal O. P., Seshadri T. R. *J. Chem. Soc.* **1956**, 1734-1735.

53. Foden F. R., J. McCormick J., O'Mant D. M. *J. Med. Chem.* **1975**, *18*, 199-203.
54. Habrant D., Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg 1, 2008.
55. Habrant D., Le Roux A., Poigny S., Meunier S., Wagner A., Mioskowski C. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 9490-9493.
56. Kögl F., Becker H. *Liebigs Ann. Chem.* **1928**, *465*, 211-242.
57. Frank R. L., Clark G. R., Coker J. N. *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 1824-1826.
58. Moore H. W., Wikholm R. J. *Tetrahedron Lett.* **1968**, *9*, 5049-5052; Wikholm R. J., Moore H. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6152-6158; Lohrisch H.-J., Schmidt H., Steglich W. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1986**, 195-204; Pattenden G., Pegg N. A., Kenyon R. W. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 4749-4752; Pattenden G., Pegg N. A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1991**, 2363-2372; Besl H., Bresinsky A., Kilpert C., Marschner W., Schmidt H. M., Steglich W. *Z. Naturforsch.* **2008**, *63b*, 887-893.
59. Moore H. W., Shelden H. R., Deters D. W., Wikholm R. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 1675-1681.
60. Knight D. W., Pattenden G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1979**, 62-69.
61. Knight D. W., Pattenden G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1979**, 84-88.
62. Gedge D. R., Pattenden G., Smith A. G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1986**, 2127-2131.
63. Pattenden G., Pegg N., Smith A. G. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 403-406.
64. Pattenden G., Turvill M. W., Chorlton A. P. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1991**, 2357-2361.
65. Weinstock J., Blank J. E., Oh H.-J., Sutton B. M. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 673-676.
66. Haynes L. J., Stanners A. H. *J. Chem. Soc.* **1956**, 4103-4107.
67. Ramage R., Griffiths G. J., Sweeney J. N. A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1984**, 1547-1553.
68. Langer P., Stoll M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1803-1805; Langer P., Schneider T., Stoll M. *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 3204-3214; Langer P., Eckardt T. *Synlett* **2000**, 844-846; Langer P., Eckardt T., Schneider T., Gobel C., Herbst-Irmer R. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2222-2226.
69. Ahmed Z., Langer P. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3753-3757.
70. Ahmed Z., Langer P. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 2055-2063; Ahmed Z., Albrecht U., Langer P. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 3469-3474.
71. Desage-El Murr M., Nowaczyk S., Le Gall T., Mioskowski C., Amekraz B., Moulin C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1289-1293; Desage-El Murr M., Nowaczyk S., Le Gall T., Mioskowski C. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 1489-1498; Bourdreux Y., Nowaczyk S., Billaud C., Mallinger A., Willis C., Desage-El Murr M., Toupet L., Lion C., Le Gall T., Mioskowski C. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 22-26.
72. Heurtaux B., Thèse de Doctorat, Université de Paris XI, Orsay, 2006.
73. Heurtaux B., Lion C., Le Gall T., Mioskowski C. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1474-1477.
74. Willis C., Bodio E., Bourdreux Y., Billaud C., Le Gall T., Mioskowski C. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 6421-6424; Bourdreux Y., Bodio E., Willis C., Billaud C., Le Gall T., Mioskowski C. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 8930-8937.
75. Mallinger A., Le Gall T., Mioskowski C. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 1124-1129.
76. Mallinger A., Le Gall T., Mioskowski C. *Synlett* **2008**, 386-388.
77. Söderberg U. *Acta Physiol. Scand.* **1953**, *27*, 97-98.
78. Newbould B. B. *Brit. J. Pharmacol. Chemother.* **1963**, *21*, 127-136.
79. Benedict R. G., Brady L. R. *J. Pharm. Sci.* **1972**, *61*, 1820-1822.
80. Duncan C. J. G., Cuendet M., Fronczek F. R., Pezzuto J. M., Mehta R. G., Hamann M. T., Ross S. A. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 103-107.

81. van der Sar S. A., Blunt J. W., Cole A. L. J., Din L. B., Munro M. H. G. *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 1799-1801.
82. Dias D., White J. M., Urban S. *Nat. Prod. Res.* **2007**, *21*, 366-376.
83. Rashan L. J., Ayoub M. T., Al-Omar L., Al-Khayatt R. W. *J. Microbiol. Biotechnol.* **1990**, *6*, 155-158.
84. Kasuga A., Aoyagi Y., Sugahara T. *J. Food Sci.* **1995**, *60*, 1113-1115.
85. Meunier S., Desage-El Murr M., Nowaczyk S., Le Gall T., Pin S., Renault J.-P., Boquet D., Créminon C., Saint-Aman E., Valleix A., Taran F., Mioskowski C. *ChemBioChem* **2004**, *5*, 832-840; Meunier S., Hanédanian M., Desage-El Murr M., Nowaczyk S., Le Gall T., Pin S., Renault J.-P., Boquet D., Créminon C., Mioskowski C., Taran, F. *ChemBioChem* **2005**, *6*, 1234-1241.
86. Habrant D., Poigny S., Ségur-Derai M., Brunel Y., Heurtaux B., Le Gall T., Strehle A., Saladin R., Meunier S., Mioskowski C., Wagner A. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 2454-2464.
87. Gill M., Kiefel M. J., Lally D. A., Ten A. *Aust. J. Chem.* **1990**, *43*, 1497-1518.
88. Pelter A., Al-Bayati R. I. H., Ayoub M. T., Lewis W., Pardasani P., Hansel R. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1987**, 717-742.
89. Honda T., Satoh A., Yamada T., Hayakawa T., Kanai K. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 397-406; Paintner F. F., Bauschke G., Kestel M. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9977-9980.
90. Dieckmann W. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, *27*, 102-103.
91. Davis B. R., Garrett P. J. In *Comprehensive Organic Synthesis* Vol. 2, Trost B. M., Fleming I. Eds. Pergamon: Oxford **1991**, 806-829; Schaefer J. P., Bloomfield J. J. *Org. React.* **1967**, *15*, 1-203.
92. Lacey R. N. *J. Chem. Soc.* **1954**, 832-839.
93. Booth P. M., Fox C. M. J., Ley S. V. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1* **1987**, 121-129.
94. Bloomer J. L., Kappler F. E. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1* **1976**, 1485-1491.
95. Bernier D., Moser F., Brückner R. *Synthesis* **2007**, 2240-2248.
96. Bernier D., Brückner R. *Synthesis* **2007**, 2249-2272.
97. a) Retipolide E, ornatipolide: Ingerl A., Justus K., Hellwig V., Steglich W. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 6548-6557; b) Abyssomicine C, atropabyssomicine C, and abyssomicine D: Nicolaou K. C., Harrison S. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 429-440; c) (+)-Tetronolide: Boeckman R. K. Jr., Shao P., Wroblewski S. T., Boehmler D. J., Heintzelman G. R., Barbosa A. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 10572-10588; d) Quartromicines: Trullinger T. K., Qi, J., Roush W. R. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6915-6922; e) Inhibiteurs de β -secretase : Larbig G., Schmidt B. *J. Comb. Chem.* **2006**, *8*, 480-490.
98. Brandänge S., Flodman L., Norberg A. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 927-928.
99. Wang J., Pagenkopf B. L. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3703-3706.
100. Brogginia G., Garantib L., Moltenib G., Zecchia G. *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 487-492.
101. Nadal B., Thuéry P., Le Gall T. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 2430-2433.
102. Kowalski C. J., Weber A. E., Fields K. W. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 5088-5093; Sha C.-K., Shen C.-Y., Jean T.-S., Chiu R.-T., Tseng W.-T. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 7641-7644.
103. Adinolfi M., Parrilli M., Barone G., Laonigro G., Mangoni L. *Tetrahedron Lett.* **1976**, *17*, 3661-3662; Iwaoka T., Murohashi T., Katagiri N., Sato M., Kaneko C. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1992**, 1393-1397; Hodgson D. M., Witherington, J., Moloney B. A., Richards I. C., Brayer J.-L. *Synlett* **1995**, 32-34; Das B., Venkateswarlu K., Majhi A., Siddaiah V., Reddy K. R. *J. Mol. Cat. A: Chem.* **2007**, *267*, 30-33.

104. La substitution d'un atome d'hydrogène par un atome d'iode conduit à un changement d'ordre de priorité des substituants de la double liaison lorsque l'on passe de l'alcène **117a** à l'iodoalcène **120**.
105. Occhiato E. G., Trabocchi A., Guarna A. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2459-2465.
106. Kim H. H., Lee C. H., Song Y. S., Park N. K., Kim B. T., Heo J.-N. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2006**, *27*, 191-192.
107. Edwards R. L., Gill M. J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1973**, 1921-1929.
108. Ojima N., Takenaka S., Seto S. *Phytochemistry* **1973**, *12*, 2527-2529.
109. Rehse K., Lehmke J. *Arch. Pharm.* **1985**, *318*, 11-14.
110. Antane S., Caufield C. E., Hu W., Keeney D., Labthavikul P., Morris K., Naughton S. M., Petersen P. J., Rasmussen B. A., Singh G., Yang Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 176-180.
111. Claisen L., Ewan T. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1895**, *284*, 245-299.
112. Campbell A. C., Maidment M. S., Pick J. H., Stevenson D. F. M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1985**, 1567-1576.
113. Knight D. W., Pattenden G. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1975**, 876-877.
114. Knight D. W., Pattenden G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1979**, 70-76.
115. Ramage R., Griffiths G. J., Shutt F. E. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1984**, 1539-1545.
116. Kaczybura N., Brückner R. *Synthesis* **2007**, 118-130.
117. Darzens G. *Compt. Rend.* **1904**, *139*, 1214-1217; Darzens G. *Compt. Rend.* **1905**, *141*, 766-768; Darzens G. *Compt. Rend.* **1906**, *142*, 214-215.
118. Kraus G. A., Landgrebe K. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 4039-4046.
119. Greene T. W., Wuts P. G. M. *Protective Groups In Organic Synthesis*, 3rd ed., John Wiley & Sons: New York, 1991, pp 67-72.
120. Li A., Kong F. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 839-853.
121. Royles B. J. L. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 1981-2001.
122. Schobert R., Schlenk A. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 4203-4221.
123. Rosset T., Sankhala R. H., Stickings C. E., Taylor M. E. U., Thomas R. *Biochem J.* **1957**, *67*, 390-400.
124. Holzapfel C. W. *Tetrahedron* **1968**, *24*, 2101-2119.
125. Kato M., Yamada Y., Sato A., Takahashi A. In JP 2001072661, 2001.
126. Fischer R., Brueck E., Waetermeulen X. A. V. In DE 102006022821, 2007.
127. Ito M., Okui H., Nakagawa H., Mio S., Kinoshita A., Obayashi T., Miura T., Nagai J., Yokoi S., Ichinose R., Tanaka K., Kodama S., Iwasaki T., Miyake T., Takashio M., Iwabuchi J. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2002**, *66*, 2406-2414.
128. Ito M., Okui H., Nakagawa H., Mio S., Kinoshita A., Obayashi T., Miura T., Nagai J., Yokoi S., Ichinose R., Tanaka K., Kodama S., Iwasaki T., Miyake T., Takashio M., Iwabuchi J. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 761-768.
129. Fischer R., Krebs A., Marhold A., Santel H. J., Schmidt R. R., Luerssen K., Hagemann H., Becker B., Schaller K., Stendel W. In EP 355599, 1990.
130. Andersch W., Fischer R., Hungenberg H., Marczuk P., Pontzen R., Reckmann U., Van Waetermeulen X. A. M., Kuehnhold J., Bell J., Krueger S., Hinz J. In WO 2008017388, 2008.
131. Gabriel S. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1914**, *47*, 3033-3039.
132. Hening H.-G., Gelbin A. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1993**, *57*, 139-185.
133. King J. A., McMillan F. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 1236-1240.
134. Dorward M., Guthrie N. J., Pelkey E. T. *Synthesis* **2007**, 2317-2322.
135. Storgaard M., Dörwald F. Z., Peschke B., Tanner D. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5032-5040.
136. Mallinger A., Thèse de Doctorat, Université de Paris XI, Orsay, 2008.

137. Baker S. R., Parsons A. F., Wilson M. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 331-332.
138. Kuang L., Zhou J., Chen S., Ding K. *Synthesis* **2007**, 3129-3134.
139. Schlessinger R. H., Beberitz G. R. *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 1344-1346.
140. Antolovich M., Prenzler P. D., Patsalides E., McDonald S., Robards K. *Analyst* **2002**, 127, 183-198; Prior R. L., Wu X., Schaich K. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 4290-4302; Magalhães L. M., Segundo M. A., Reis S., Lima J. L. F. C. *Anal. Chim. Acta* **2008**, 613, 1-19.
141. Wayner D. D. M., Burton G. W., Ingold K. U., Locke S. *FEBS Lett.* **1985**, 187, 33-37.
142. Luukkainen R., Aejmelaeus R., Alho H., Metsa-Ketela T., Ikonen S. R., Salo M. K. *Free Rad. Res.* **1999**, 30, 189-197.
143. Cao G. H., Alessio H. M., Cutler R. G. *Free Radical Biol. Med.* **1993**, 14, 303-311.
144. Cao G., Prior R. L. *Methods Enzymol.* **1999**, 299, 50-62.
145. Ou B., Hampsch-Woodill M., Prior R. L. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, 49, 4619-4626.
146. Valkonen M., Kuusi T. *J. Lipid Res.* **1997**, 38, 823-833.
147. Winston G. W., Regoli F., Dugas A. J. Jr., Fong J. H., Blanchard K. A. *Free Radical Biol. Med.* **1998**, 24, 480-493.
148. Benzie I. F. F., Strain J. J. *Anal. Biochem.* **1996**, 239, 70-76.
149. Apak R., Güçlü K. G., Özyürek M., Karademir S. E. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 7970-7981.
150. Folin O., Ciocalteu V. *J. Biol. Chem.* **1927**, 73, 627-650.
151. Singleton V. L., Rossi J. A. *Am. J. Enol. Vitic.* **1965**, 16, 144-158.
152. Du Z., Bramlage W. J. *J. Agric. Food Chem.* **1992**, 40, 1566-1570.
153. Salles B., Provost C., Calsou P., Hennebelle I., Gosset I., Fournié G. J. *Anal. Biochem.* **1995**, 232, 37-42; Saint-Cricq de Gaulejac N., Provost C., Vivas N. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, 47, 425-431.
154. Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* **1995**, 28, 25-30.
155. Ellman G. L., Courtney K. D., Andres V., Featherstone R. M. *Biochem. Pharmacol.* **1961**, 7, 88-95.
156. Rice-Evans C., Miller N. J. *Methods Enzymol.* **1994**, 234, 279-293; Rice-Evans C., Miller N. J., Bowell P. G., Bramley P. M., Pridham J. B. *Free Radical Res.* **1995**, 22, 375-383.
157. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. *Free Rad. Biol. Med.* **1999**, 26, 1231-1237.
158. Henriquez C., Aliaga C., Lissi E. *Int. J. Chem. Kinetics* **2002**, 34, 659-665.
159. Privat C., Telo J. P., Bernardes-Genisson V., Vieira A., Souchard J.-P., Nepveu F. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, 1213-1217.
160. O'Brien J., Wilson I., Orton T., Pognan F. *Eur. J. Biochem.* **2000**, 267, 5421-5426.
161. Ogura K., Ito Y., Tsugihashi G-I. *B.Chem. Soc. Jpn.* **1979**, 52, 2013-2022.
162. Kidd D. A. A., Walker J. *J. Chem. Soc.* **1954**, 669-677.
163. Costa M., Dalcanale E., Santos Dias F., Graiff C., Tiripicchio A., Bigliardia L. *J. Organomet. Chem.* **2001**, 619, 179-193.
164. Bradbury B. J., Baumgold J., Paek R., Kammula U., Zimmet J., Jacobson K. A. *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 1073-1079.
165. Meurer L. C., Tolman R. L., Chapin E. W., Saperstein R., Vicario P. P., Zrada M. M., MacCoss M. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 3845-3857.

Nom : NADAL

Prénom : Brice

Titre : Synthèse et évaluation de nouveaux agents de protection contre les rayonnements ionisants.

Résumé :

Ce travail de thèse est consacré à la synthèse de nouveaux dérivés d'acides pulviniques et à l'évaluation de leurs propriétés antioxydante et radioprotectrice. Cette étude a été réalisée dans le but de développer de nouveaux agents de protection contre les rayonnements ionisants.

Une nouvelle voie d'accès à des dérivés d'acides pulviniques a été mise au point en partant du L-tartrate de diméthyle. Elle est basée notamment sur une étape de cyclisation de Dieckmann, une déshydratation et un couplage de Suzuki-Miyaura. Elle permet une préparation efficace et concise de différents dérivés d'acides pulviniques : des dérivés tétroniques comportant un α -hydroxyester, des dérivés pulviniques monosubstitués et des pulvinate de méthyle.

Une modification de cette méthode a été réalisée afin de préparer des pulvinones. Cette stratégie conduit en quatre étapes aux pulvinones souhaitées. La rapidité de cette méthode est apportée par un processus tandem, réalisé en dernière étape, mettant en jeu une cyclisation de Dieckmann et une β -élimination.

Une synthèse d'acides 3-aryltétramiques a également été mise au point afin de préparer des dérivés azotés d'acides pulviniques.

L'activité antioxydante des composés préparés a ensuite été évaluée à l'aide de différents tests : DPPH, ABTS, protection de la thymidine et de l'ADN et étude de la peroxydation lipidique. Ces évaluations ont permis de définir des relations structure-activité intéressantes des dérivés pulviniques. Elles ont montré que plusieurs dérivés possédaient de très bonnes activités antioxydantes. Enfin, des tests de radioprotection sur des cellules TK6 et des souris ont pu être réalisés sur une sélection de composés.

Mots clés :

Acide pulvinique	Pulvinone
Antioxydant	Radioprotecteur chimique
Cyclisation de Dieckmann	Couplage de Suzuki-Miyaura
Relation structure-activité	Radicaux libres