



HAL
open science

Synthèse d'alcaloïdes de Vinca et nouvelle approche de la synthèse de la (D)-méquitazine

Sébastien Leroux

► **To cite this version:**

Sébastien Leroux. Synthèse d'alcaloïdes de Vinca et nouvelle approche de la synthèse de la (D)-méquitazine. Autre. Université Paris Sud - Paris XI, 2011. Français. NNT : 2011PA112113 . tel-00605094

HAL Id: tel-00605094

<https://theses.hal.science/tel-00605094>

Submitted on 30 Jun 2011

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.

ORSAY

N° D'ORDRE :

UNIVERSITE DE PARIS SUD

U.F.R. SCIENTIFIQUE D'ORSAY

THESE DE DOCTORAT

présentée par

Sébastien LEROUX

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN SCIENCES DE L'UNIVERSITE PARIS XI ORSAY

Spécialité Chimie Organique

**Synthèse d'alcaloïdes de *Vinca* et nouvelle approche de la synthèse
de la (D)-méquitazine.**

Soutenance le 13 Janvier 2011 devant la commission d'examen composée de

MM.	Dr Rachid Baati	Rapporteur
	Dr Luc Dechoux	Rapporteur
	Pr Vincent Gandon	Examineur
	Dr Marc Nicolas	Examineur
	Dr Eric Doris	Directeur de thèse

ORSAY

N° D'ORDRE :

UNIVERSITE DE PARIS SUD

U.F.R. SCIENTIFIQUE D'ORSAY

THESE DE DOCTORAT

présentée par

Sébastien LEROUX

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN SCIENCES DE L'UNIVERSITE PARIS XI ORSAY

Spécialité Chimie Organique

**Synthèse d'alcaloïdes de *Vinca* et nouvelle approche de la synthèse
de la (D)-méquitazine.**

Soutenance le 13 Janvier 2011 devant la commission d'examen composée de

MM.	Dr Rachid Baati	Rapporteur
	Dr Luc Dechoux	Rapporteur
	Pr Vincent Gandon	Examineur
	Dr Marc Nicolas	Examineur
	Dr Eric Doris	Directeur de thèse

A mes parents,

A mes sœurs,

A mon oncle Guy, disparu à ce jour

Remerciements

Avant d'exposer les travaux qui ont conduit à ce mémoire, je tiens à remercier celles et ceux qui en m'ont permis d'accomplir ce travail.

Je voudrais remercier en premier lieu Eric Doris pour avoir encadré mes travaux de thèse dans le laboratoire de marquage au tritium. Je lui suis très reconnaissant pour sa confiance, son écoute, sa disponibilité et ses conseils judicieux qu'il m'a apportés tout au long de ces trois années. Je n'oublierai pas nos longues discussions « mécanistiques » à l'aide de modèles moléculaires et surtout toute l'attention qu'il a apportée à la fin de ma période de rédaction... Je voudrais remercier par la même occasion Bernard Rousseau pour m'avoir accueilli au sein du SCBM sous le signe de sa bonne humeur légendaire. J'ai essayé tant bien que mal de l'aider lors de ses soucis en informatique, et je suis sûr qu'il n'aura aucun mal à trouver un successeur pour ce genre de tracas.

Je tiens également à saluer Marc Nicolas ainsi que Laurent Larquetoux des laboratoires Pierre Fabre pour leur attention et leur confiance qu'ils m'ont témoignées lors de nos rencontres à Saclay ou à Gaillac. La collaboration scientifique sur le projet alcaloïde de *Vinca* est maintenant terminée et je leur souhaite une collaboration aussi fructueuse avec le laboratoire sur les nouveaux projets mis en place.

Je remercie le Professeur Vincent Gandon, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de thèse ainsi que les Dr. Rachid Baati et Luc Dechoux pour avoir consacré de leur temps pour juger mon travail ainsi que pour leurs remarques constructives et pertinentes.

Mes remerciements à Chantal Faux pour sa bonne humeur et surtout pour toute la partie administrative inhérente à la thèse ; aux agents SPR, notamment Sébastien Côme, troisième du « prénom » et Arnaud Peltier pour leur sympathie.

Ces travaux de thèse n'auraient pas pu se dérouler dans d'aussi bonnes conditions sans la présence et la bonne ambiance régnant dans l'ensemble des laboratoires du service : laboratoire ^{14}C avec Frédéric Taran, Sophie Dezard, Olivier Loreau, Dominique Georgin, Sandra Gabillet et plus récemment Manon Chaumontet ; laboratoire combinatoire avec Jean-Christophe Cintrat, fan des fraises tagada, de plongée et des bons jeux de mots, Goulven

Merer ; laboratoire recherche avec Thierry le Gall, Marie-Pierre Heck, Yves Ambroise et au laboratoire d'analyse, et plus particulièrement David Buisson pour la RMN du deutérium, la LC-MS et tous les coups de main pour la RMN...

Un coucou plus particulièrement aux différents thésards et post-doc qui s'y sont succédés : Mélanie, Julia alias « Cheeky Monkey », Kahina spécialiste du couscous, Valentina et Sergei pour avoir apporté une partie d'Italie et d'Ukraine dans le service, Brice, Aurélie, Delphine, Véronique, Julien, Romain, photographe « officiel » et Fanny pour son accompagnement à quatre mains au piano. Merci à tous pour votre sympathie et votre bonne humeur lors de mes visites dans vos laboratoires !

Je voudrais maintenant plus particulièrement remercier l'ensemble des membres du laboratoire Tritium.

Un grand merci à Florence pour son écoute, sa disponibilité, les échanges musicaux pour sa fille et ses succulents gâteaux avant les conférences ainsi qu'à Sébastien, alias « sergent » pour sa gentillesse, sa disponibilité au laboratoire et son sens de l'organisation ! Je remercie aussi Brigitte pour son écoute et son aide précieuse au laboratoire.

Un petit clin d'œil aux « *Donettes* » représentées par Chloé, Christine et Kathalyn que je remercie pour m'avoir trouvé mon premier surnom au labo : Donetto. Leur accueil et leur disponibilité lors de mon arrivée m'ont permis de me sentir très rapidement à l'aise à la paillasse. Un remerciement particulier à Emerson pour m'avoir familiarisé avec la manipulation de la catharanthine et de ses analogues et pour ses conseils avisés sur la chimie des alcaloïdes de *Vinca*. J'en profite pour remercier Chloé Hoffman qui m'a bien secondé sur ce projet pendant mes derniers mois de manip'. Je me considère chanceux d'avoir eu comme première stagiaire une personne très investie dans son travail avec qui le courant est très bien passé.

Une mention spéciale pour la « cryptoteam » : Ténin, félicitations pour ta récente soutenance, tu as finalement retrouvé Coco... Merci pour ton soutien, ton écoute, et ta bonne humeur qui m'ont bien aidé tout au long de ces trois années ; je souhaite bonne continuation et bon courage à Léa et Naoko pour la suite du projet « cryptophane ».

Merci Stéphanie pour m'avoir attendu quelques soirs tardivement avant de quitter le labo et toujours avec le sourire ainsi qu'à Edmond, alias Dr Carcajou pour ses bonnes blagues et ses conseils pertinents. Je suis sûr que ton sens de la pédagogie et ta bonne humeur permettront à Julien et Fabien de mener à bien ces trois années de thèse qui les attendent. Je souhaite de plus une bonne fin de séjour à Taoran et Jubi qui m'ont permis de pratiquer quotidiennement l'anglais de façon ludique. Bravo à Taoran pour sa bonne maîtrise du français et je lui souhaite bonne chance pour la fin de sa thèse.

Je voudrais remercier trois personnes en particulier que j'ai eu le plaisir de rencontrer au cours de ses trois années de thèse. Je les remercie pour leur amitié et pour avoir joué un grand rôle dans ma vie au labo mais aussi en dehors. Merci à Barbara pour m'avoir trouvé mon deuxième surnom, pour toutes ces parties de badminton jouées souvent en mode « craquage ». A Myriam, dit « Mymy ». Je ne te remercierai jamais assez pour tous tes conseils et ton savoir-faire en chimie qui m'ont aidé plus d'une fois ! Miss pKa du calendrier de l'avent, et souvent la première à comprendre ma façon de penser. Je lui souhaite une bonne continuation sur Marseille. Quant à Julien, je n'énumérerai pas les samedis passés ensemble au CEA ni la galette des rois de 2009 passée à Gif-sur-Yvette. Je te souhaite une bonne préparation pour cet évènement particulier qui t'arrivera d'ici quelques semaines.

Enfin, je tenais par-dessus tout à remercier tous les membres de ma famille. Plus particulièrement mes parents et mes deux sœurs qui m'ont toujours épaulé et soutenu depuis le début, et qui ont toujours su me remonter le moral quand la chimie me le faisait perdre.

Abréviations et symboles

Ac	acétyle
AcOEt	acétate d'éthyle
AcOH	acide acétique
ADN	acide désoxyribonucléique
AIBN	azobis(isobutyronitrile)
aq	aqueux
AVLB	anhydrovinblastine
AVLBF ₂	20',20'-difluoroanhydrovinblastine
cat.	quantité catalytique
CCM	chromatographie sur couche mince
CI ₅₀	concentration requise pour inhiber un phénomène de 50%
DAST	diéthylaminosulfur trifluorure, trifluorure de diéthylaminosoufre
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène
DMDO	diméthylldioxirane
DNs	2,4-dinitrobenzènesulfonyle
ee	excès énantiomérique
éq	équivalent
Et	éthyle
ESI	<i>Electrospray ionization</i> , ionisation par électrospray
FAD	flavine adénine dinucléotide
FMN	flavine mononucléotide
GTP	guanosine triphosphate
HHV8	<i>Human herpes virus 8</i> , virus herpès humain 8
HPLC	<i>High Performance liquid Chromatography</i> , chromatographie liquide haute performance
Hz	Hertz
IAA	index d'activité antitumorale
IR	infra-rouge
m-CPBA	<i>meta-chloroperbenzoïc acid</i> , acide méta-chloroperbenzoïque
MAPs	<i>microtubule-associated proteins</i> , protéines associées au microtubule.
Me	méthyle
Ms	mésyle
NADPH	nicotidamide adénine dinucléotide phosphate
NBS	N-bromosuccinimide
NMO	<i>N-methylmorpholine N-oxide</i> , N-oxyde de N-méthylmorpholine
Ns	2-nitrobenzènesulfonyle
Nu	nucléophile
PDA	<i>Photo Diode Array</i> , barrette de photodiodes
Pd/C	palladium sur charbon
F	point de fusion
PBS	<i>Phosphate Buffer Solution</i> , tampon phosphate
Ph	phényle
ppm	partie par million
quant.	quantitatif
R, R', R''	groupement alkyle ou aryle
R _f	rapport frontal / facteur de rétention
RCM	<i>Ring close metathesis</i> , métathèse par fermeture de cycle

RMN	résonance magnétique nucléaire
SM	spectrométrie de masse
SMHR	spectrométrie de masse haute résolution
S _N 1	substitution nucléophile d'ordre 1
S _N 2	substitution nucléophile d'ordre 2
S _N 2'	substitution nucléophile d'ordre 2, selon un mécanisme 1,4
sp ²	carbone trivalent
TBDPS	<i>tert</i> -butyldiphénylsilyle
<i>t</i> Bu	<i>tert</i> -butyle
TES	triéthylsilyle
Tf	trifluorométhanesulfonyle ou trifyle
TFA	acide trifluoroacétique
THF	tétrahydrofurane
THP	tétrahydropyranyle
TMS	triméthylsilyle
TPAP	perruthénate de tétrapropylammonium
Tris	tris(hydroxyméthyl)aminométhane
Ts	tosyle
Vind	vindolin-15-yle
[α] _D	pouvoir rotatoire spécifique

TABLE DES MATIERES

PREAMBULE.....	1
-----------------------	----------

CHAPITRE I

INTRODUCTON GENERALE : LES ALCALOÏDES DE VINCA	5
---	----------

A – Le cancer	7
A.1 - Définition.....	7
A.2 - Les traitements anticancéreux	7
A.3 - Mode d'action des agents antimittotiques.....	9
<i>A.3.a - Le cycle cellulaire.....</i>	<i>9</i>
<i>A.3.b - Les microtubules et la tubuline.....</i>	<i>11</i>
<i>A.3.c - Les composés antimittotiques</i>	<i>12</i>
A.3.c.1 - Les inhibiteurs de la dépolymérisation des microtubules	12
A.3.c.2 - Les inhibiteurs de la polymérisation des microtubules	13
<i>A.3.d - Mode d'action des alcaloïdes de Vinca.....</i>	<i>13</i>
B – Les alcaloïdes de <i>Vinca</i>	14
B.1 - La pervenche de Madagascar.....	14
B.2 - Les alcaloïdes de <i>Vinca</i>	15
<i>B.2.a - Les alcaloïdes mono-indoliques</i>	<i>16</i>
<i>B.2.b - Les alcaloïdes bis-indoliques.</i>	<i>17</i>
C – Synthèse d'alcaloïdes de <i>Vinca</i> de première génération	19
C.1 - Synthèses énantiosélectives d'alcaloïdes monomères.....	20
<i>C.1.a - Synthèse de la (+)-catharanthine</i>	<i>20</i>
<i>C.1.b - Synthèse de la vindoline</i>	<i>23</i>
C.1.b.1 - Synthèse totale par Fukuyama.....	23
C.1.b.2 - Synthèse totale par Boger.....	24

C.2 - Synthèse de l'anhydrovinblastine	25
<i>C.2.a - Approche de Kutney</i>	25
<i>C.2.b - Approche biomimétique de Potier</i>	26
C.2.b.1 - La réaction de Polonovski	26
C.2.b.2 - La réaction de Polonovski-Potier	27
C.2.b.3 - Application à la synthèse de l'anhydrovinblastine.....	28
<i>C.2.c - Réactions d'oxydation radicalaires</i>	30
C.2.c.1 - Couplage photochimique	30
C.2.c.2 - Couplage ferrique	31
C.3 - Synthèse de la vinblastine	32
<i>C.3.a - Hémissynthèse à partir de l'anhydrovinblastine</i>	32
<i>C.3.b - Hémissynthèses par couplage entre un précurseur du fragment Nord et la vindoline</i>	33
C.3.b.1 - Approche de Magnus	33
C.3.b.2 - Approche de Kuehne	34
C.3.b.3 - Synthèse totale par Fukuyama.....	35
C.3.b.3.1 - Synthèse du fragment Nord.....	35
C.3.b.3.2 - Couplage des deux fragments	36
C.4 - Synthèses de la vincristine et de la vindésine	37
<i>C.4.a - Synthèses de la vincristine</i>	37
C.4.a.1 - Par hémissynthèse	37
C.4.a.2 - Par synthèse totale	38
<i>C.4.b - Synthèse de la vindésine</i>	39
D - Synthèses d'alcaloïdes de <i>Vinca</i> de deuxième et troisième générations	40
D.1 - Synthèse de la vinorelbine	40
<i>D.1.a - Méthode initiale</i>	40
<i>D.1.b - Préparation industrielle de la Navelbine[®]</i>	41
D.2 - Synthèse de la vinflunine en milieu superacide	42
<i>D.2.a - La vinflunine</i>	42
<i>D.2.b - Propriétés pharmacologiques de la vinflunine : une exception ?</i>	43
E – Utilisation thérapeutique des alcaloïdes de <i>Vinca</i>	45
F – Conclusion	46
Bibliographie du chapitre IV	47

CHAPITRE II

VERS LA SYNTHÈSE D'ALCALOÏDES DIMERES

FLUORES DE VINCA..... 51

A – La synthèse industrielle de la Vinflunine: 53

A.1 - Synthèse industrielle de la vinflunine : 53

A.2 - Alternative synthétique de la vinflunine 54

B – Couplage de la 20,20-difluorocatharanthine avec la vindoline 55

B.1 - Synthèse de la 20,20-difluorocatharanthine..... 55

B.1.a - Protection des fonctions indole et amine tertiaire : 55

B.1.b - Introduction des deux atomes de fluor sur la position C₂₀..... 56

B.1.c - Déprotections des fonctions azotées..... 57

B.2 - Couplage de la 20, 20-difluorocatharanthine avec la vindoline 58

B.3 - Couplage de la 20,20-difluoro-3,4-dihydrocatharanthine avec la vindoline.... 60

B.4 - Conclusion..... 62

C – Synthèse d'analogues oxygénés sur la position C₄ de la 20,20-difluorocatharanthine : 63

C.1 - Blocage de la position C₄ par une fonction époxyde 63

C.1.a - Stratégie de synthèse 63

C.1.b - Epoxydation sur la 20,20-difluorocatharanthine..... 64

C.1.b.1 - Réaction avec le diméthylidioxirane (DMDO) 64

C.1.b.2 - Réaction avec les hypohalogènes ou le couple H₂O₂/NaOH 67

C.1.b.3 - Réaction d'époxydation électrophile..... 68

C.1.b.4 - Bilan 69

C.1.c - Nouvelle approche de la synthèse du difluoroépoxyde 69

C.1.d.1 - Epoxydation de l'énone **116**..... 70

C.1.d.2 - Réaction de fluoration 70

C.1.e - Conclusion..... 71

C.2 - Blocage de la position C₄ par une fonction alcool 72

C.2.a - Stratégie de synthèse 72

C.2.b - Synthèse de la 20,20-difluoro-3,4-dihydro-4-hydroxycatharanthine..... 72

C.2.b.1 - Isomérisation de la double liaison C₃-C₄ de la catharanthine 72

C.2.b.2 - Protections de l'isocatharanthine	74
C.2.b.3 - Réaction de dihydroxylation de l'oléfine	75
C.2.b.4 - Oxydation de la position C ₂₀ en cétone	76
C.2.b.5 - Fluoration de la position C ₂₀	77
C.2.b.6 - Réactions de déprotection sur le difluoroalcool	79
C.2.b.7 - Réactions de déprotection sur la lactone 160	82
C.2.c - <i>Stratégies alternatives de synthèse</i> :	82
C.2.c.1 - Hydroboration	83
C.2.c.2 - Oxydation directe de l'insaturation C ₃ -C ₄	83
C.2.d - <i>Bilan</i>	84
D – Conclusion	85
Bibliographie du chapitre II	87

CHAPITRE III

ETUDE MECANISTIQUE DE LA REACTION DE FLUORATION DE DIMERES DE VINCA EN MILIEU SUPERACIDE 89

A – Les milieux superacides et leur utilisation sur les alcaloïdes de Vinca	91
A.1 - Les milieux superacides	91
A.1.a - <i>De la notion d'acidité vers la notion de superacidité</i>	91
A.1.b - <i>Présentation du système superacide HF/SbF₅</i>	93
A.1.c - <i>Les chlorométhanes en milieu superacides comme superélectrophiles</i>	93
A.2 - Réactivité des alcaloïdes de Vinca en milieu superacide	95
A.2.a - <i>Les alcaloïdes monomériques</i>	95
A.2.a.1 - La catharanthine	95
A.2.a.2 - La vindoline	95
A.2.b - <i>Alcaloïdes dimériques (AVLB, vinorelbine)</i>	96
B – Considérations mécanistiques sur la réaction de fluoration des dimères de Vinca en milieu superacide	98

B.1 - Expériences de fluoration en milieu superacide	98
<i>B.1.a - Réaction classique de fluoration en milieu HF/SbF₅</i>	98
<i>B.1.b - Réaction de fluoration sans chlorométhane</i>	98
<i>B.1.c - Réaction en présence d'un équivalent de chlorométhane à basse température</i>	99
<i>B.1.d - Hydrogénation des alcaloïdes dimères</i>	100
B.2 - Mécanisme postulé de fluoration	101
C – Vers l'élucidation du mécanisme de fluoration en milieu superacide	103
C.1 - Présentation de la stratégie employée	103
<i>C.1.a - Recours au marquage isotopique</i>	103
<i>C.1.b - Schéma rétrosynthétique du dimère dideutééré 188</i>	104
C.2 - Synthèse de la catharanthine-20,20-<i>d</i>₂ 189	106
<i>C.2.a - Deutération de l'énone 116</i>	106
<i>C.2.b - Deutération des alcools allyliques deutérés 193</i>	107
C.2.b.1 - Désoxygénation de Barton-McCombie	107
C.2.b.2 - Méthode ionique en présence de silanes	109
C.2.b.3 - Méthode ionique en présence de NaBD ₄	110
<i>C.2.c - Etapes de déprotection des fonctions azotées</i>	111
C.3 - Synthèse de la 3',4'-anhydrovinblastine-20',20'-<i>d</i>₂	113
C.4 - Fluoration de la 3',4'-anhydrovinblastine-20',20'-<i>d</i>₂	114
<i>C.4.1 - Etape de fluoration</i>	114
<i>C.4.2 - Etude du mécanisme de fluoration</i>	116
C.4.2.a - Analyses de l'incorporation isotopique	116
C.4.2.b - Dilution isotopique	118
D – Conclusion	119
Bibliographie du chapitre III	121

PARTIE EXPERIMENTALE

THEMATIQUE « ALCALOÏDES DE VINCA »	123
---	------------

CHAPITRE IV

NOUVELLE APPROCHE DE LA SYNTHÈSE DE LA (D)-MÉQUITAZINE 171

A – Introduction sur la méquitazine	173
A.1 - Les antihistaminiques	173
<i>A.1.a - La réaction allergique</i>	<i>173</i>
<i>A.1.b - Les traitements de la réaction allergique</i>	<i>174</i>
A.1.b.1 - Les corticoïdes	174
A.1.a.2 - Les antihistaminiques	175
A.2 - La méquitazine	176
<i>A.2.a - Présentation de la méquitazine</i>	<i>176</i>
<i>A.2.b - Synthèses de la méquitazine racémique</i>	<i>177</i>
<i>A.2.c - Approches asymétriques pour la synthèse de la méquitazine.....</i>	<i>180</i>
B – Exploration de nouvelles voies de synthèses énantiosélectives de la méquitazine.....	182
B.1 - Cyanation du quinuclidin-3-ol	182
<i>B.1.a - Stratégie de synthèse de la méquitazine</i>	<i>182</i>
<i>B.1.b - Réaction de cyanation d'alcool.....</i>	<i>183</i>
<i>B.1.c - Bilan.....</i>	<i>185</i>
B.2 - Ouverture de l'époxyde	186
<i>B.2.a - Stratégie de synthèse</i>	<i>186</i>
<i>B.2.b - Résultats expérimentaux.....</i>	<i>187</i>
B.3 - Bilan.....	188
C – Synthèse de la (D)-méquitazine à partir d'alcaloïdes de <i>cinchona</i> ..	189
C.1 - Stratégie de synthèse.....	189
<i>C.1.a - Généralités sur les alcaloïdes de cinchona :</i>	<i>189</i>
<i>C.1.b - Stratégie de synthèse de la méquitazine.....</i>	<i>190</i>
C.2 - Synthèse de la (D)-méquitazine à partir de la quinine	190
<i>C.2.a - Stratégie passant par la coupure oxydante puis par la fragmentation.....</i>	<i>190</i>
<i>C.2.b - Stratégie passant par la fragmentation puis par la coupure oxydante.....</i>	<i>192</i>
C.2.b.1 - Etape de fragmentation de la quinine.....	192

C.2.b.2 - Synthèse de la quinuclidine 49 à partir de la pipéridine 53.	194
C.2.b.3 - Réaction de coupure oxydante	195
C.2.b.4 - Synthèse de la méquitazine	196
D – Conclusion.....	197
Bibliographie du chapitre IV	199

PARTIE EXPERIMENTALE

THEMATIQUE «MEQUITAZINE»	201
---------------------------------------	------------

CONCLUSION GENERALE	221
----------------------------------	------------

PREAMBULE

Le travail décrit dans ce mémoire s'inscrit dans le cadre d'une collaboration entre le Service de Chimie Bioorganique et de Marquage (SCBM) du CEA de Saclay et les Laboratoires Pierre Fabre. Ce manuscrit est divisé en quatre chapitres.

Les trois premiers chapitres s'inscrivent dans la thématique « alcaloïdes de *Vinca* ». Le quatrième et dernier chapitre est totalement indépendant des trois premiers et abordera la thématique « méquitazine ».

Le premier chapitre est une introduction générale sur les alcaloïdes de *Vinca*. Il a pour but de présenter ces molécules depuis leur isolement de la pervenche de Madagascar dans les années 50 jusqu'à leur utilisation actuelle en chimiothérapie anticancéreuse. Leur biosynthèse ainsi que les principaux travaux d'hémisynthèse et de synthèses totales seront présentées. Ces travaux ont conduit à la découverte et à la mise sur le marché de nouveaux analogues anticancéreux.

Le deuxième chapitre s'intéresse à la synthèse de deux analogues oxygénés de la 20,20-difluorocatharanthine, comme précurseur d'alcaloïdes dimères originaux de *Vinca*. Dans un premier temps, les stratégies permettant l'introduction d'une fonction époxyde sur le squelette fluoré de l'alcaloïde seront abordées. Dans un second temps, l'hémisynthèse d'un analogue hydroxylé difluoré sera présenté au départ de la catharanthine.

Le troisième chapitre aborde l'étude mécanistique de la réaction de fluoration des alcaloïdes dimères en milieu superacide. Ce travail s'est appuyé sur l'hémisynthèse de la catharanthine deutérée qui, par une réaction de couplage biomimétique, conduit à l'anhydrovinblastine deutérée. Cette dernière nous servira de substrat d'étude à la réaction de fluoration en milieu superacide pour la mise en évidence d'intermédiaires réactionnels impliqués dans le processus de fluoration.

Enfin, le quatrième et dernier chapitre s'inscrit dans la thématique « méquitazine ». Il sera abordé au cours de ce chapitre différentes stratégies de synthèse transposables en version asymétrique. Une nouvelle approche de la (*R*)-méquitazine sera également développée en partant d'alcaloïdes de *cinchona*.

CHAPITRE I

INTRODUCTON GENERALE : LES ALCALOÏDES DE VINCA

A – Le cancer

A.1 - Définition

Le cancer est une maladie définie comme une prolifération anarchique de cellules au sein d'un tissu normal de l'organisme. Ces cellules, dites malignes se regroupent pour former une tumeur bénigne, mais peuvent, au cours du temps, migrer et envahir les tissus environnants. On parle alors de tumeur maligne. Elles peuvent aussi se répandre dans l'organisme par diffusion dans le sang ou les vaisseaux lymphatiques pour former des tumeurs secondaires, les métastases.

La tumeur primitive est formée à partir d'une cellule initiatrice ayant acquis certaines caractéristiques lui permettant de se diviser de manière incontrôlée. L'origine de cette division anarchique provient d'une modification au niveau de la séquence d'ADN de la cellule maligne, suite à des mutations génétiques induites par des facteurs internes (maladies génétiques) ou externes tels qu'un agent infectieux (virus, bactéries), le tabac, la pollution, les radiations...¹ Cependant, le cancer n'apparaît pas suite à une seule mutation, mais à l'accumulation d'évènements ayant des effets néfastes sur l'organisme.²

Le cancer est devenu l'une des premières causes de mortalité ce qui en fait un problème majeur de santé publique. En 2008, cette maladie a causé la mort de 7,6 millions de personnes dans le monde, touchant les pays occidentaux notamment à cause du vieillissement de la population, mais aussi les pays en voie de développement. C'est la première cause de mortalité en France, juste devant les maladies cardio-vasculaires. Le nombre total des décès par cancer en France en 2004 était de 153000. Les cancers les plus fréquents sont ceux du colon-rectum, du poumon, de la prostate chez l'homme et du sein chez la femme.

A.2 - Les traitements anticancéreux

Depuis les dernières décennies, les types de traitements pour soigner le cancer ont augmenté significativement. De plus en plus de techniques ont vu le jour pour soigner d'une part, une plus grande variété de cancers, et d'autre part, augmenter les chances de survie du patient. Actuellement, plus d'un cancer sur deux peut être guéri, notamment grâce aux efforts de prévention permettant de détecter de plus en plus tôt la formation de tumeurs.

Il existe quatre grands types de traitements spécifiques employés seuls ou en combinaison. Les deux premières méthodes ont une action locale, alors que les deux dernières ont un impact plus global sur l'organisme, les rendant plus efficaces lors de diagnostics de métastases.

- La chirurgie permet l'ablation directe de la tumeur.
- La radiothérapie a pour but de détruire la tumeur en ayant recours aux rayonnements ionisants (rayons X, rayons γ) qui altèrent l'ADN des cellules, inhibant ainsi leur division. Cette méthode n'est pas sélective des cellules cancéreuses et touche les cellules saines. Cependant, ces dernières ont généralement la capacité de se reconstituer par la suite.
- Les biothérapies ont pour action de modifier ou stimuler les réponses biologiques de l'organisme. Parmi ces traitements, l'immunothérapie est très utilisée. Cette technique engendre une stimulation des défenses immunitaires en augmentant la quantité d'anticorps dirigés contre les cellules cancéreuses sans endommager les tissus sains.
- La chimiothérapie, enfin, permet l'élimination des cellules cancéreuses par l'utilisation d'agents chimiques. Lors de leur administration, le dosage est extrêmement important et le rapport efficacité / toxicité est un équilibre souvent difficile à trouver. Le caractère toxique entraîne souvent des effets secondaires sur le patient qui peuvent parfois se transformer en maladies chroniques. Le dosage est ajusté en fonction de la « surface du corps » du patient, calculée à partir de sa taille et de son poids. Des centaines de molécules sont actuellement en cours de tests avant leur éventuelle mise sur le marché. Si tel est le cas, elles viendront compléter la centaine d'agents anticancéreux actuellement utilisés en chimiothérapie. Ces substances anticancéreuses peuvent être divisées en différentes familles suivant leur mode d'action, résumé dans le schéma 1.

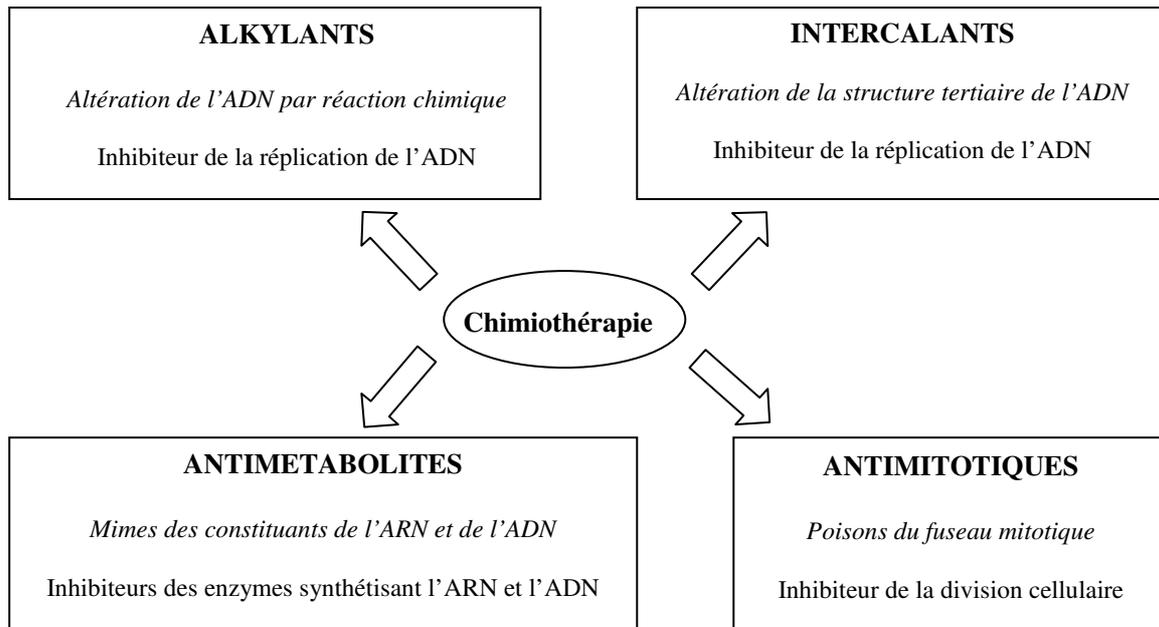


Schéma 1

Nous nous sommes intéressés au cours de ces travaux de thèse à la famille des agents antimitotiques qui agissent en inhibant la division cellulaire. Pour comprendre le mode d'action de ces molécules, il est nécessaire de préciser le mécanisme du cycle de la division cellulaire, la mitose.

A.3 - Mode d'action des agents antimitotiques

A.3.a - Le cycle cellulaire

Le cycle cellulaire est composé plusieurs phases distinctes (Figure 1).³ Ces phases successives que traverse la cellule au cours de sa vie vont être spécifiquement ciblées par les différents agents chimiothérapeutiques. La cellule est en phase de quiescence (G₀) ou phase de repos lorsque qu'elle ne se divise pas.

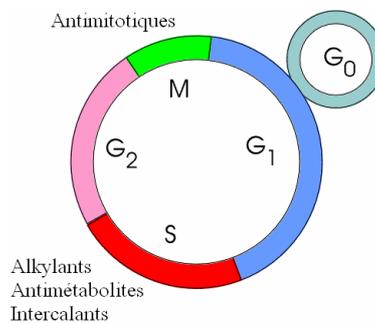


Figure 1 : Le cycle cellulaire et les différents agents chimiothérapeutiques

La phase la plus longue est l'interphase, au cours de laquelle la cellule duplique ses chromosomes (phase S) et double sa taille (phases G1 et G2). La mitose est la phase la plus courte pendant laquelle la division cellulaire va avoir lieu et conduire à l'apparition de deux cellules filles.

La mitose peut être décomposée en cinq étapes distinctes (Figure 2).⁴ La division cellulaire commence réellement lors de la prophase (étape 1) pendant laquelle le matériel génétique se condense pour former les chromosomes. C'est à ce stade qu'apparaissent les fuseaux mitotiques, structures essentielles à la division cellulaire et composées de filaments protéiques, les microtubules. Les fuseaux vont se former entre les centrosomes, les deux centres organisateurs de microtubules situés à l'extérieur du noyau cellulaire. La rupture de la membrane cellulaire permettant aux microtubules de se lier aux chromosomes constitue la prométaphase (étape 2).

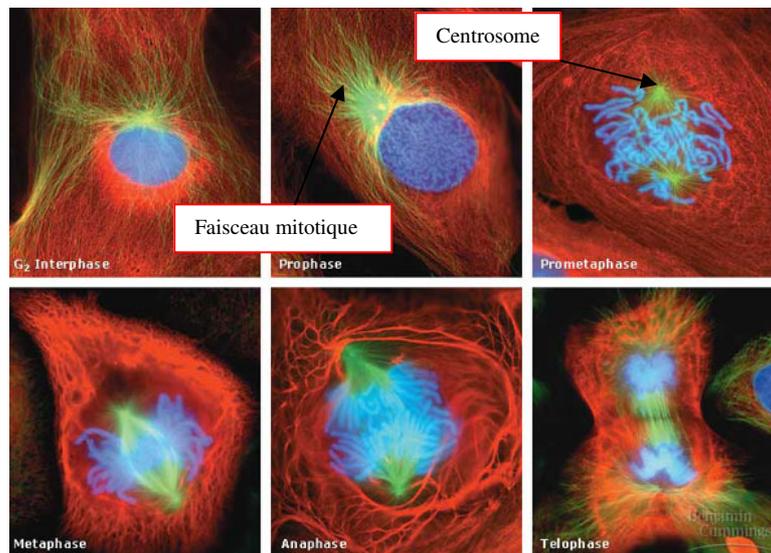


Figure 2 : les différentes étapes de la division cellulaire^a

Sous l'action dynamique des microtubules, les chromosomes vont s'aligner par paire dans le plan équatorial de la cellule (métaphase, étape 3). Ces derniers se divisent en deux chromatides et migrent vers les deux pôles en lots égaux, grâce au raccourcissement des microtubules (anaphase, étape 4). Lorsque les chromatides atteignent les extrémités de la cellule, elles se décondensent, les microtubules disparaissent et une enveloppe nucléaire se reconstitue autour d'elles. La cellule originelle se scinde en deux pour donner naissance à deux cellules filles identiques (télophase, étape 5).

^a <http://www.bio.miami.edu/~cmallery/150/mitosis/c12x5mitosis-collage.jpg>

Cette brève description montre le rôle central des microtubules lors du cycle cellulaire, faisant d'eux des cibles privilégiées pour empêcher la prolifération anarchique des cellules cancéreuses. Celles-ci sont particulièrement sensibles aux poisons du fuseau mitotique car elles se divisent plus fréquemment que les cellules normales.

A.3.b - Les microtubules et la tubuline

Les microtubules ont la forme de filaments de quelques μm de longueur à base cylindrique (24 nm de diamètre) et résultent de la polymérisation d'une protéine, la tubuline.⁵ Cette dernière est un hétérodimère constitué de deux sous-unités α et β pesant chacune 50 kDa. L'autoassemblage est effectué par la formation initiale de protofilaments qui, associés par des interactions latérales, conduisent à la structuration du microtubule.⁶ Les deux extrémités du microtubule, notées (-) et (+) possèdent un comportement dynamique soutenu mais distinct (Figure 3).⁷

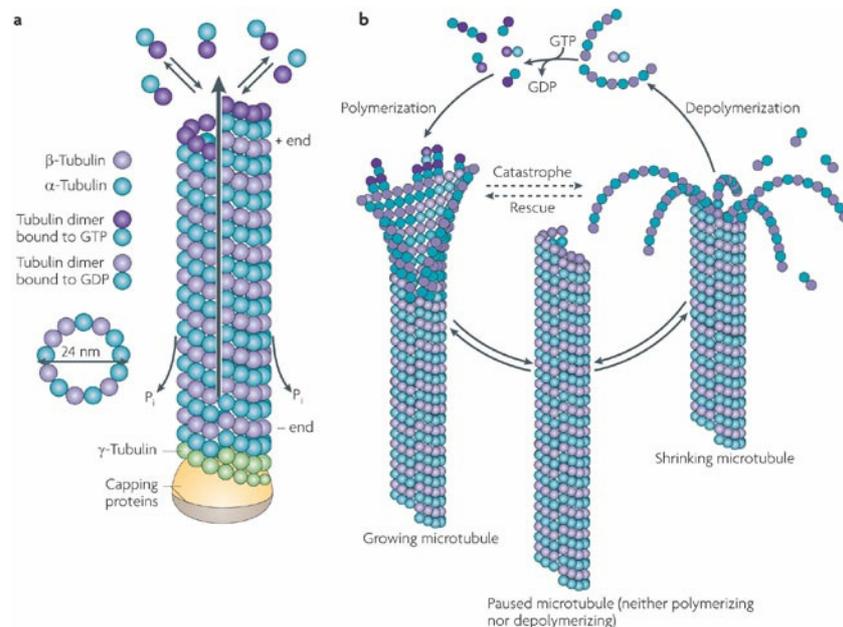


Figure 3 : Description des microtubules⁸

L'extrémité (-) perd des sous-unités de tubuline si elle n'est pas stabilisée. Néanmoins, elle acquiert de la stabilité par enchâssement dans le centrosome, centre organisateur avec lequel l'extrémité (-) est liée. L'extrémité (+) est au contraire disponible pour croître rapidement par l'addition de tubuline. Le comportement dynamique des microtubules est relié directement à des processus de polymérisation et de dépolymérisation.^{9, 10} Ce phénomène, appelé « *threadmilling* », régule la longueur du microtubule. La polymérisation d'un côté,

nécessitant la présence de protéines régulatrices associées aux microtubules (MAPs) et de GTP compense parfaitement la dépolymérisation de l'autre côté qui peut être induite artificiellement par des ions Ca^{2+} ou par le refroidissement du milieu.

Les microtubules possèdent un rôle primordial lors de la mitose grâce à la dynamique liée à la polymérisation de la tubuline. Si une substance interagit avec la tubuline ou les microtubules, la division cellulaire sera fortement perturbée voire bloquée.

A.3.c - Les composés antimitotiques

Il existe deux grandes classes de composés antimitotiques (poison du fuseau mitotique¹¹) qui possèdent des modes d'action différents.

A.3.c.1 - Les inhibiteurs de la dépolymérisation des microtubules

Ces molécules stabilisent les microtubules. Elles déplacent l'équilibre tubuline libre / microtubules vers la formation de ces derniers. Deux familles possèdent ces propriétés (Schéma 2):

- Les taxanes,^{5, 12} dont les deux plus connus sont le paclitaxel **1** (Taxol[®]) extrait de l'écorce de l'if *Taxus brevifolia* et son analogue hémisynthétique, le doxetaxel **2** (Taxotere[®]).
- Les épithilones telles que l'épithilone A (**3**), isolées de la bactérie *Sorangium cellulosum*.¹³

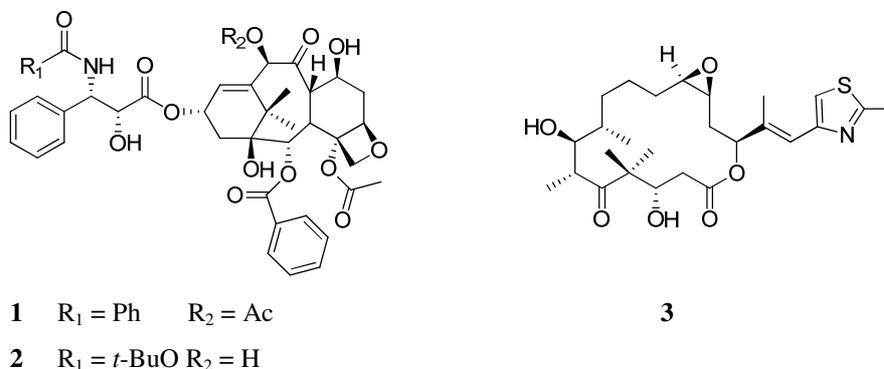


Schéma 2

Le Taxol[®] et le Taxotère[®] se sont imposés largement pour le traitement par chimiothérapie du cancer du sein et des ovaires. En présence de ces substances, les microtubules deviennent résistants à la dépolymérisation même en présence de CaCl₂ ou à basse température. En outre, il a été montré que le taxol agit sur les microtubules quelle que soit la phase du cycle cellulaire.

A.3.c.2 - Les inhibiteurs de la polymérisation des microtubules

Contrairement aux taxanes, il existe des agents antimittotiques qui ont la capacité d'interférer avec les microtubules en inhibant leur polymérisation. C'est le cas des colchicinoïdes, (colchicine **4** ou podophyllotoxine **5**) ou des alcaloïdes de *Vinca*, tels que la vinblastine **6** ou la vincristine **7** (Schéma 3).

Bien que les effets de ces deux familles soient similaires, leur mode d'action est différent. Les colchicinoïdes se lient à la tubuline libre formant un complexe qui peut être incorporé lors de la polymérisation en microtubules.⁷ Cette incorporation a pour effet de changer la conformation du polymère supprimant ainsi les interactions latérales à l'intérieur du microtubule. La dépolymérisation est alors inévitable.^{6, 14}

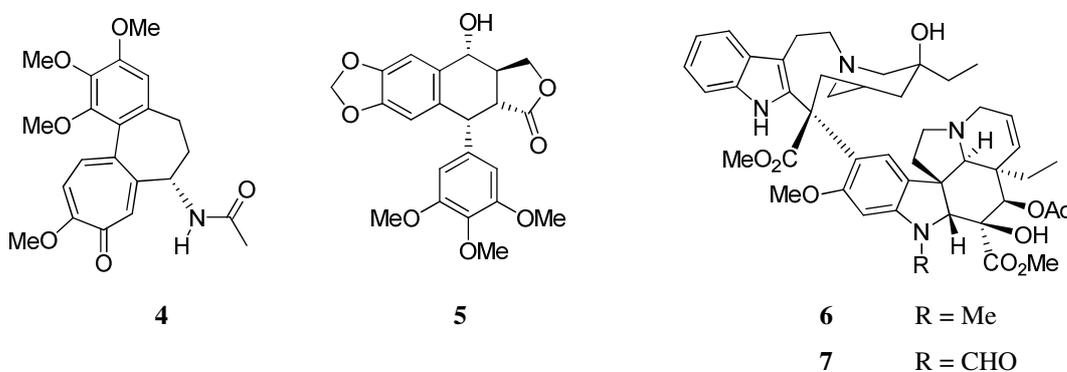


Schéma 3

Les alcaloïdes de *Vinca* constituent une classe d'agents antimittotique à part entière et possèdent un site d'interaction avec la tubuline qui leur est propre.^{15, 16}

A.3.d - Mode d'action des alcaloïdes de Vinca

Des expériences de fluorescence en 1996 ont permis de montrer que les alcaloïdes de *Vinca* interagissent directement avec la tubuline en se fixant sur la partie β du dimère.^{17, 18}

Cependant, l'architecture très fluctuante des microtubules a posé des difficultés pour identifier le site de fixation de ces agents qui a été confirmé par Knossow en 2005.¹⁹ Une caractérisation aux rayons X a permis de mettre en évidence le site de liaison de l'alcaloïde (Figure 4). Pour réaliser cette étude, l'ajout de colchicine (en jaune) a été nécessaire pour lier les deux dimères de tubuline qui, en présence de vinblastine (en turquoise), forment un complexe stabilisé dans un domaine protéique (RB3-SLD).

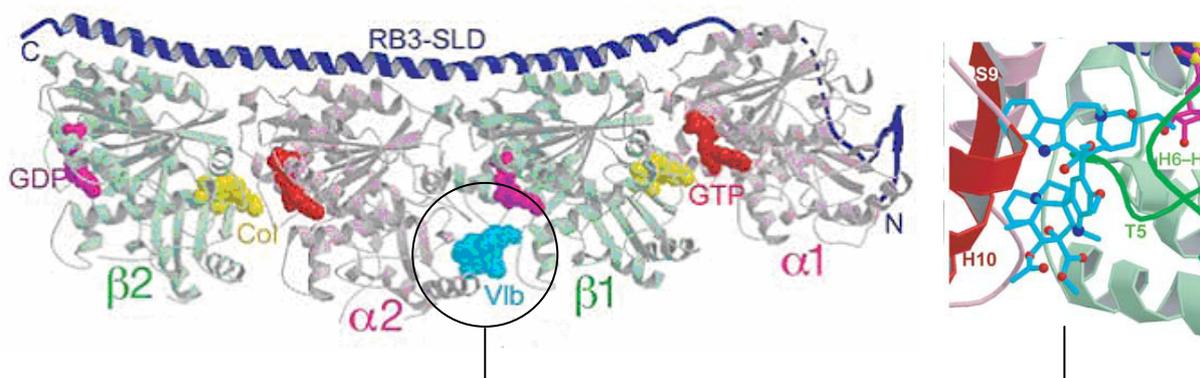


Figure 4 : Site de fixation des alcaloïdes de Vinca sur la tubuline¹⁹

Le complexe vinblastine-tubuline est stabilisé grâce à l'interaction de chacun des fragments dits « Nord » et « Sud » de l'alcaloïde avec la sous-unité $\alpha 2$ de tubuline et la sous-unité $\beta 1$ de l'autre. L'interaction entre la vinblastine et la tubuline entraîne de profonds changements conformationnels au sein de la protéine qui forme ainsi des agrégats sous forme de paracrystaux et de spirales, empêchant sa polymérisation en microtubules.

Les alcaloïdes de *Vinca* font partie des agents anticancéreux les plus utilisés de nos jours. Depuis leur découverte dans les années 50, cette famille a été l'une des plus étudiées. La prochaine partie s'intéressera plus précisément à l'origine de ces molécules et à leur biosynthèse.

B – Les alcaloïdes de *Vinca*

B.1 - La pervenche de Madagascar

Les alcaloïdes de *Vinca* sont des substances produites dans les feuilles de la pervenche de Madagascar qui est classée dans la famille des Apocynacées. Le nom de *Vinca* provient de son ancien nom : *Vinca rosea*, mais l'étude de ses caractéristiques morphologiques en 1966

ont abouti à sa reclassification alors incorrecte et à un nouveau nom : *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (*catharos* : pure et *anthos* : fleur). Cependant, le nom commun de *Vinca* est resté pour dénommer cette famille d'alcaloïdes.

La pervenche de Madagascar pousse en général en port buissonnant d'une hauteur de 20 cm à 2 m. Ses fleurs, situées sur la partie terminale, sont simples avec cinq pétales de 3 à 4 cm qui peuvent être blanches, roses, ou mauves (Figure 5).



Figure 5 : Pervenche de Madagascar

Largement disséminée dans le monde (Afrique, Inde, Océanie, Mexique...) grâce à une bonne acclimatation, *C. roseus* est une plante pantropicale très répandue et souvent ornementale. Elle se développe sur de nombreux types de sols et fleurit toute l'année dans un endroit ensoleillé.²⁰ Ses feuilles sont simples, opposées, de forme ovale et sont le siège d'une intense activité biologique conduisant à la synthèse d'une centaine d'alcaloïdes qui peuvent être classés en deux catégories distinctes : les alcaloïdes mono-indoliques et les alcaloïdes bis-indoliques.²¹

B.2 - Les alcaloïdes de *Vinca*

La pervenche a été utilisée empiriquement pendant des siècles par les malgaches pour ses propriétés «coupe faim» et curatives en tant que vermifuge, antipaludique, antidiabétique. Pour comprendre les propriétés antidiabétiques de cette plante, une équipe canadienne menée par Noble administra des extraits de pervenche à des rats rendus diabétiques dans les années 50.²² Aucune diminution du taux de sucre sanguin ne fut détectée, mais le décès systématique des animaux intrigua les chercheurs qui mirent en évidence une baisse importante du nombre de globules blancs. Cette leucopénie fut rapidement attribuée à l'action des alcaloïdes présents dans la plante. Les efforts pour comprendre ces résultats leur permirent d'isoler en 1958 la vinblastine **6**. En parallèle, des chercheurs du laboratoire Eli Lilly, effectuant un criblage d'extraits végétaux pour rechercher d'éventuelles propriétés antitumorales, découvrirent la

vincristine **7** dont la structure et l'activité biologique étaient similaires à celle de la vinblastine (Schéma 4).²³

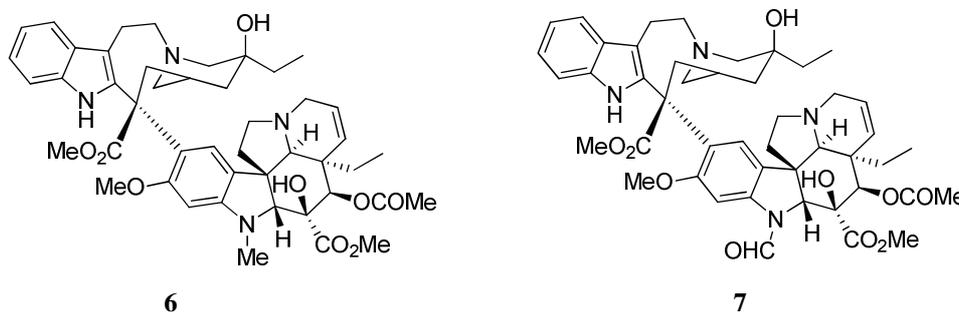


Schéma 4

La biosynthèse de ces molécules anticancéreuses a suscité l'intérêt de nombreuses équipes. Au cours de leurs travaux, elles ont rapidement montré l'importance de précurseurs biosynthétiques présents dans les feuilles de la pervenche et qui appartiennent à la famille des alcaloïdes mono-indoliques de *Vinca*.

B.2.a - Les alcaloïdes mono-indoliques

Les alcaloïdes mono-indoliques, appelés aussi monomères, sont les plus nombreux parmi les molécules extraites de pervenche, leur concentration dans les feuilles de la pervenche avoisinant 1000 ppm. Structuralement, ces substances sont composées de deux parties distinctes, une partie indolique ou dihydroindolique et une partie monoterpénique. Cependant, le fragment monoterpénique peut différer d'un alcaloïde à un autre, permettant de distinguer trois types d'alcaloïdes monomères (Schéma 5).

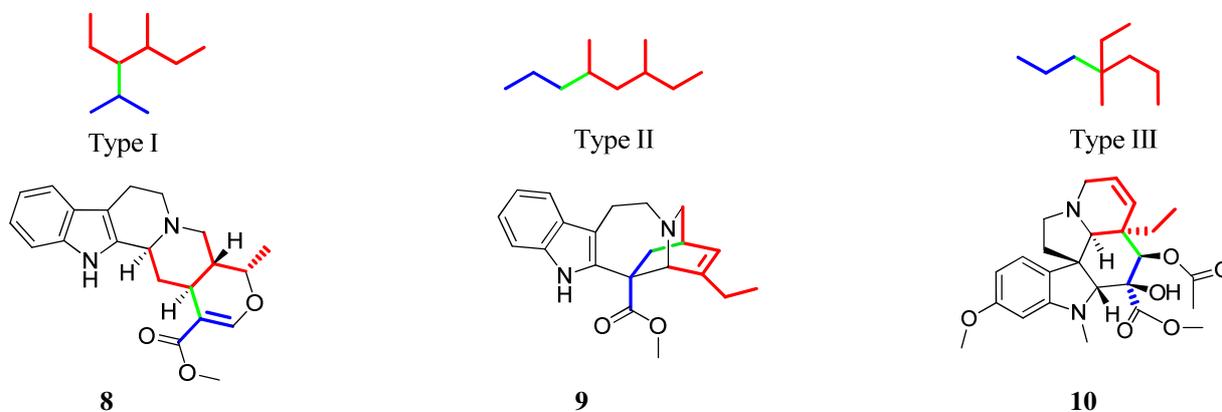


Schéma 5

- Les alcaloïdes de type I (*Corynanthe Strychnos*) dont fait partie la raubasine **8**.

- Les alcaloïdes de type II (*Iboga*) tels que la catharanthine **9**.
- Les alcaloïdes de type III (*Aspidosperma*) comme la vindoline **10**.

Les études menées pour comprendre la biosynthèse de ces trois types d'alcaloïdes ont conclu que **8**, **9** et **10** provenaient de la strictosidine **13** (Schéma 6).^{24, 25} Ce précurseur biosynthétique commun est issu d'un couplage entre la tryptamine **11** et la sécologanine **12**, base de la partie monoterpénique des trois alcaloïdes.²⁶

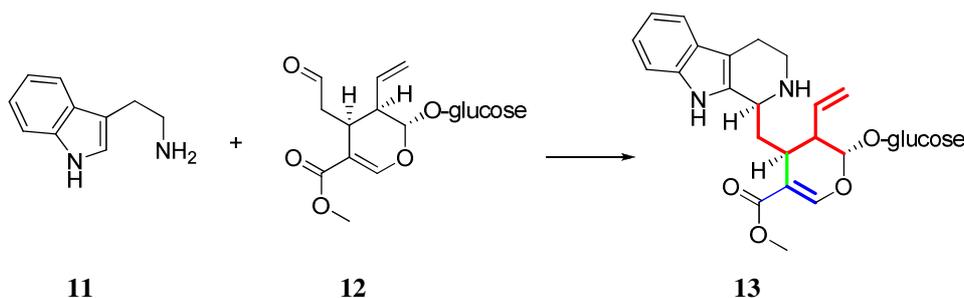


Schéma 6

Deux numérotations sont acceptées pour les alcaloïdes monomères, nous utiliserons la numérotation ainsi que la désignation des cycles recommandées par l'*IUPAC* (Schéma 7).

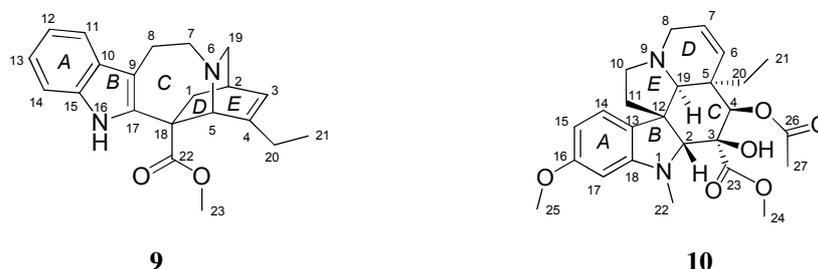


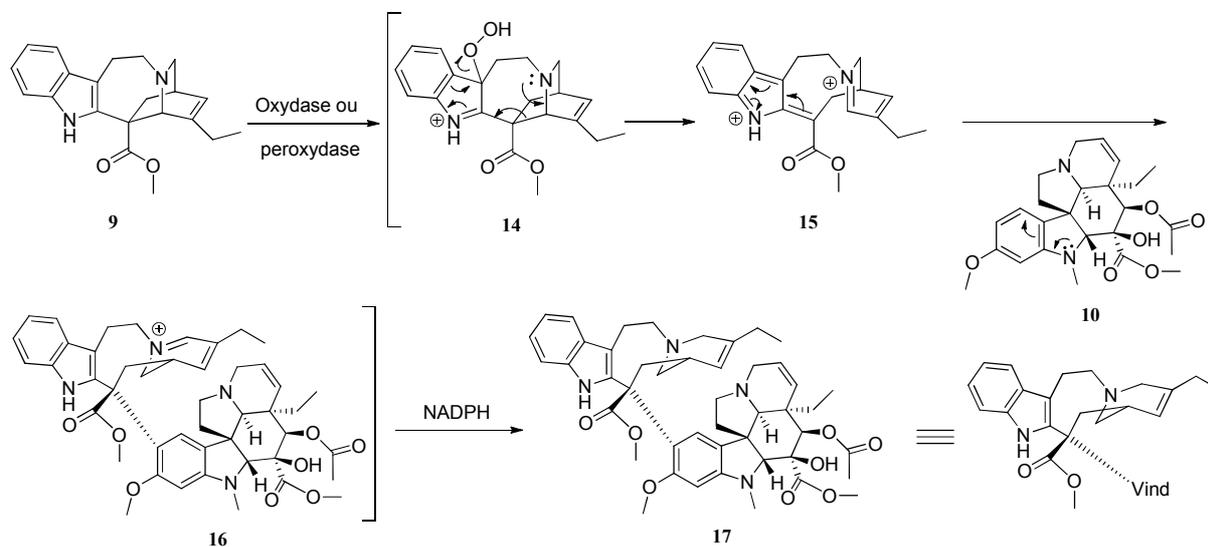
Schéma 7

Les alcaloïdes mono-indoliques ne possèdent pas une activité antimittotique notable, à contrario des alcaloïdes bis-indoliques qui constituent la seconde famille d'alcaloïdes de *Vinca*.

B.2.b - Les alcaloïdes bis-indoliques.

La biosynthèse des alcaloïdes bis-indoliques ou dimériques a été étudiée grâce à l'utilisation de traceurs radioactifs. Scott et coll. ont montré que la catharanthine et la vindoline sont les deux précurseurs qui sont couplés *in planta* au cours de la biosynthèse des alcaloïdes dimériques.^{27, 28} En effet, après 6 jours de culture de plants de *C. roseus* en

présence d'une source de **9** et **10** radiomarquées, trois alcaloïdes dimériques (anhydrovinblastine, vinblastine et leurosine) ont été isolés. Le mécanisme du couplage de nature enzymatique a quant à lui été élucidé par des travaux de Kutney and coll. (Schéma 8).^{29, 30}



Sous l'action d'oxydases, la catharanthine est convertie intermédiairement en hydroxyperoxyindolénine **14**. L'effet donneur de l'amine tertiaire initie la fragmentation conduisant à l'iminium conjugué **15**. L'addition nucléophile de la vindoline sur **15** entraîne la formation du dimère **16** qui est réduit par une enzyme à NADPH pour donner l'anhydrovinblastine (AVLB) **17**.

Bien que l'anhydrovinblastine soit le produit direct de couplage entre la catharanthine et la vindoline, des études complémentaires ont montré que ce n'était pas le précurseur direct de la biosynthèse des autres alcaloïdes dimériques produits dans la pervenche.²⁸ En mettant **17** en incubation avec des extraits cellulaires de *C. roseus*, Kutney a montré que l'iminium **16** possédait un rôle prépondérant dans la biosynthèse de la vinblastine **6**, la leurosine **18** et de la catharine **19** (Schéma 9).³¹⁻³³

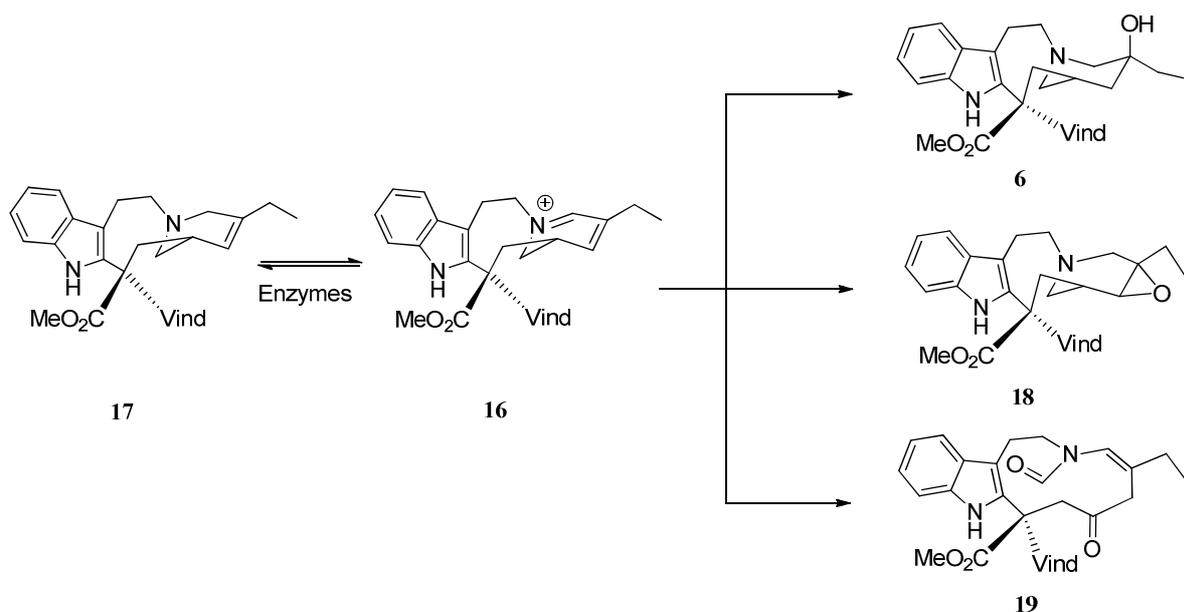


Schéma 9

Dans la suite de ce mémoire, la partie du dimère résultant du squelette de la catharanthine fragmentée (appelée cléavamine) sera nommée « fragment Nord », la partie résultant de la vindoline, « fragment Sud ». En outre, la numérotation sera identique à celle des monomères, à la différence du signe « ' » attribuée aux positions et cycles du fragment Nord (Schéma 10).

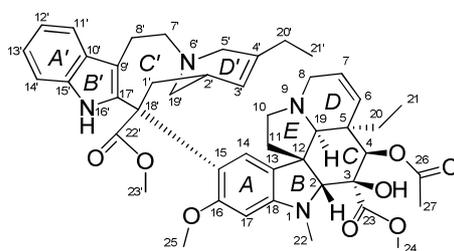


Schéma 10

C – Synthèse d'alcaloïdes de *Vinca* de première génération

La découverte de la vinblastine **6** et de la vincristine **7** à la fin des années 50 a stimulé de nombreux efforts de synthèse. Deux raisons peuvent expliquer cet engouement de la part des chimistes pour cette famille de molécules :

- La faible abondance naturelle de ces substances : les quantités récoltées à partir de la pervenche sont infimes (environ 2,5 ppm en poids de feuilles sèches).

- Le nombre important d'alcaloïdes dans les feuilles de la pervenche rend leur séparation sélective délicate.

Cette partie s'intéressera aux synthèses énantiosélectives décrites dans la littérature des alcaloïdes monomères catharanthine **9** et vindoline **10** qui interviennent dans la synthèse de l'AVLB (cf §C.2) puis d'alcaloïdes dimériques tels que l'anhydrovinblastine, et enfin des agents anticancéreux de première génération : la vinblastine, la vincristine et de la vindésine.

C.1 - Synthèses énantiosélectives d'alcaloïdes monomères

Nous détaillerons dans cette partie quelques synthèses remarquables d'alcaloïdes monomères de Vinca, tels que la (+)-catharanthine **9** et la (-)-vindoline **10** dont les quantités extraites de la pervenche sont respectivement de 200 ppm et 400 ppm.

C.1.a - Synthèse de la (+)-catharanthine

Une dizaine de synthèses totales de la catharanthine avaient déjà été décrites de 1968 à 1999³⁴⁻⁴² (dont les intermédiaires-clés sont présentés dans le Schéma 11) mais aucune ne permettait d'obtenir ce composé énantiomériquement pur, hormis une approche de Szantay qui procède par dédoublement en 1990.⁴³ Les stratégies développées passent soit par la construction du motif isoquinclidique indépendamment du noyau indolique, soit par la construction de la partie monoterpénique en présence de l'indole. Une des stratégies développées par Büchi a permis notamment de créer un intermédiaire-clé commun à plusieurs synthèses de la catharanthine, nommé communément intermédiaire de Büchi **20**.

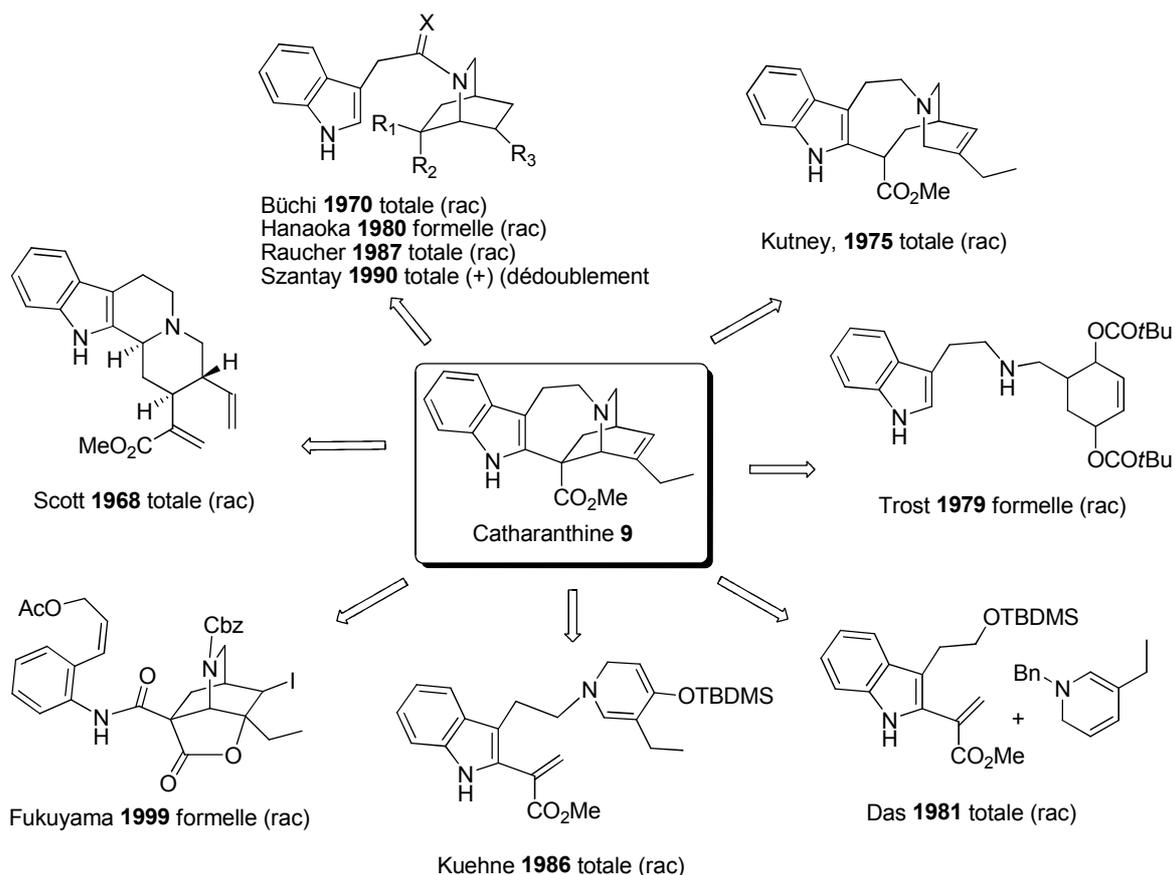


Schéma 11

Le laboratoire a décrit la première synthèse formelle de la (+)-catharanthine **9** dans le cadre d'une thèse effectuée par Lionel Moisan.⁴⁴ La stratégie développée au laboratoire s'est appuyée sur la synthèse énantiosélective du cycle isoquinuclidique indépendamment du noyau indole pour conduire au composé **20** en partant d'un acide aminé commun, la L-sérine **21** (Schéma 12).

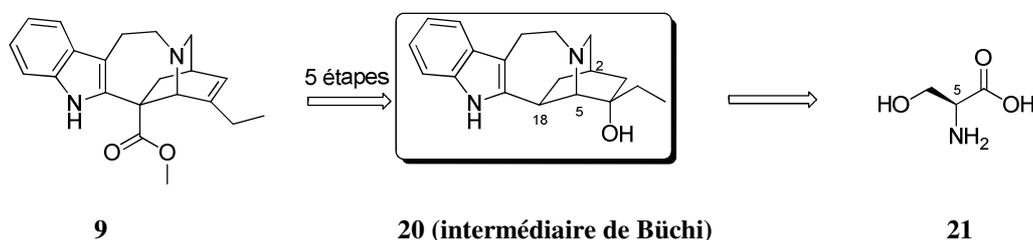


Schéma 12

Le centre chiral de l'acide aminé **21** (futur centre C₅ sur la catharanthine **9**) a permis notamment de contrôler stéréosélectivement la construction des centres chiraux C₂ et C₁₈ de la partie isoquinuclidique (Schéma 13).

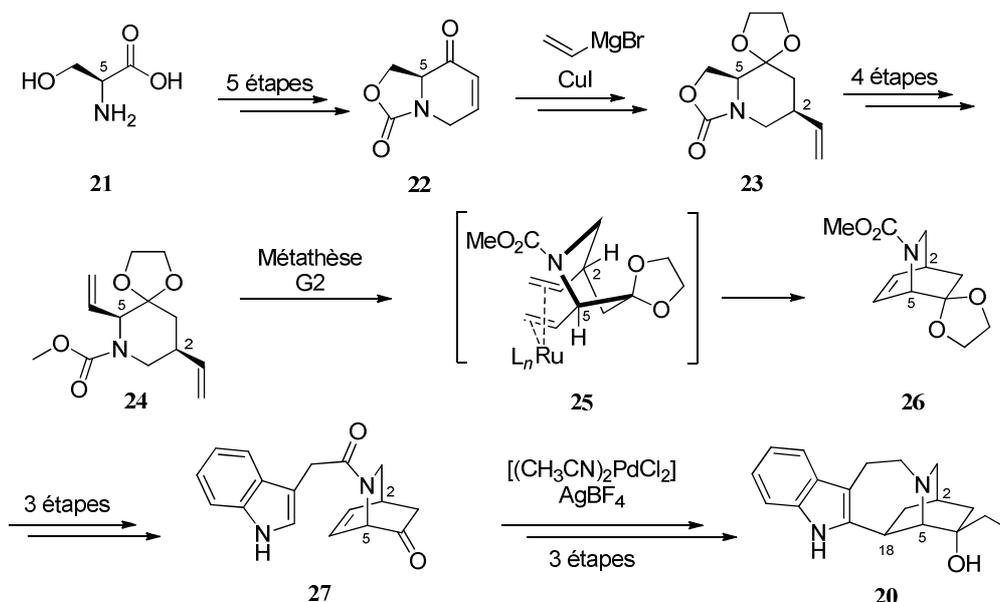


Schéma 13

La L-sérine **21** est convertie en 5 étapes en énone **22** qui subit une addition diastérosélective de Michael du bromure de vinylmagnésium en présence d'iodure de cuivre. Le stéréocentre C₂ est ainsi formé en faveur de l'isomère *cis*. Cette stéréosélectivité provient probablement du rôle joué par le doublet non-liant de l'azote qui peut diriger l'attaque *syn* du groupement vinylicuprate lors de l'addition 1,4. Le composé **23**, obtenu après la protection de la cétone en cétal, est converti en 4 étapes en diène **24**. A cette étape, tout est mis en place pour effectuer une réaction de métathèse RCM à l'aide du catalyseur de Grubbs de seconde génération. La formation de l'azabicycle passe par l'état de transition **25** durant laquelle le cycle adopte une conformation bateau afin d'amener les substituants en position C₂ et C₅ en position axiale. Cette réaction de métathèse a permis d'obtenir le composé **26** avec un ee > 99%.

Trois étapes permettent d'installer la partie indolique par couplage avec l'acide 3-indoleacétique après déprotection de l'azote. Une réaction de cyclisation métallo-assistée par le couple Pd^{II} / Ag^I sur l'intermédiaire **27** a permis de former le cycle C et de créer stéréosélectivement le centre C₁₈. Enfin, trois dernières étapes sont nécessaires pour arriver à l'intermédiaire de Büchi **20** dont on sait qu'il peut être transformé en (+)-catharanthine en 5 étapes. 19 étapes ont permis d'obtenir l'intermédiaire de Büchi optiquement actif (ee > 99%) avec un rendement global de 1,1 %.

C.1.b - Synthèse de la vindoline

De nombreuses synthèses totales en voie racémiques⁴⁵⁻⁵² ou énantiosélectives⁵³⁻⁵⁵ ont été décrites pour la synthèse de la vindoline **10**. Cette partie s'intéressera en particulier à deux synthèses totales remarquables décrites par les équipes de Fukuyama et de Boger.

C.1.b.1 - Synthèse totale par Fukuyama

La synthèse de la (-)-vindoline **10** a été décrite par Fukuyama en 2000 en partant de la 7-mesyloxyquinoléine **28** (Schéma 14).⁵⁶

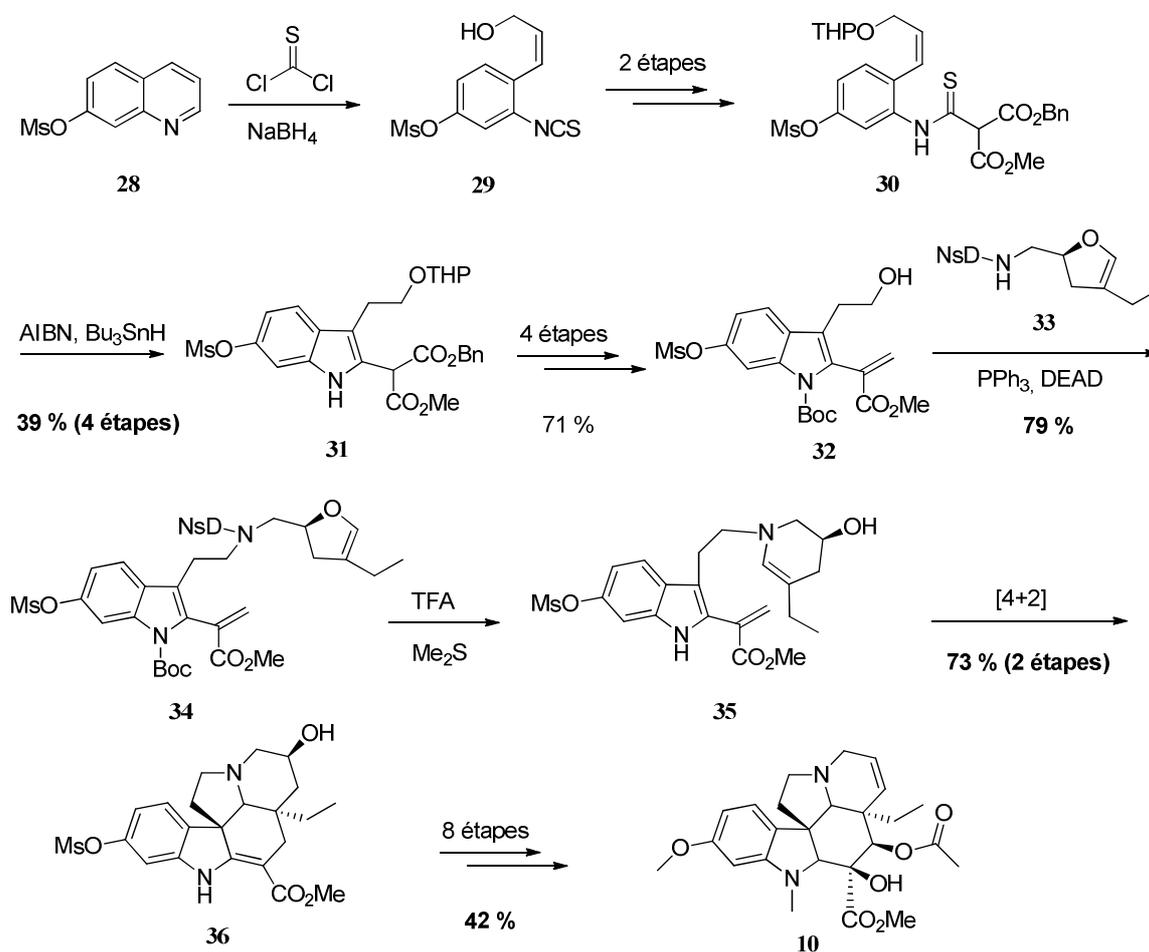


Schéma 14

Le traitement de cette dernière par du thiophosgène suivi d'un traitement réducteur donne accès à l'isothiocyanate **29**, qui est transformé en deux étapes en thioamide **30**, par addition nucléophile du malonate de benzyle et de méthyle sur l'isothiocyanate. Une étape de cyclisation intramoléculaire par un processus radicalaire développé précédemment par

l'équipe de Fukuyama fournit l'indole **31**.⁵⁷ Quatre étapes sont nécessaires pour conduire au composé **32** qui est couplé avec l'amine **33** par une réaction de Mitsunobu. Le groupement N-DNs de **34** est ensuite déprotégé. Au cours de cette étape, les conditions acides et réductrices du milieu induisent un réarrangement remarquable de **34** conduisant à l'énamine cyclique **35**. Le composé pentacyclique **36** est obtenu par une cycloaddition intramoléculaire [4+2] puis est converti en 8 étapes de fonctionnalisation en (-)-vindoline **10**. Le rendement global de la synthèse de la vindoline est de 6% après 17 étapes en partant de la quinoléine **28**.

C.1.b.2 - Synthèse totale par Boger

La synthèse de la vindoline a été effectuée par l'équipe de Boger en 2005 en partant de la *N*-méthyl-méthoxytryptamine **37** (Schéma 15).⁵⁸

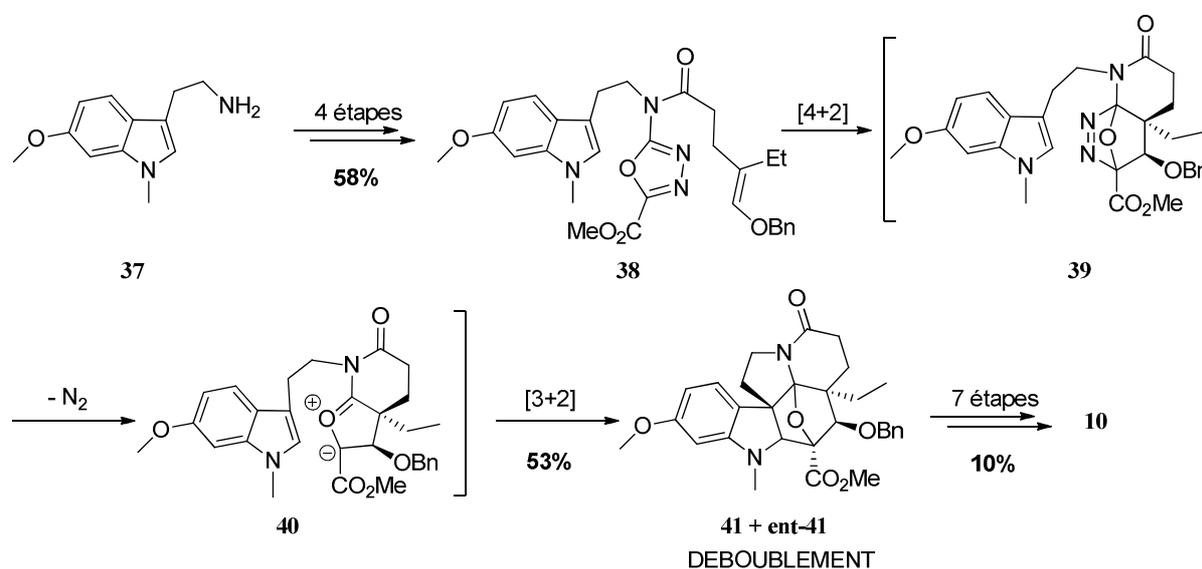


Schéma 15

La tryptamine **37** est transformée en quatre étapes en 1,3,4-diazole **38** avec un rendement de 58%. L'étape-clé de la synthèse consiste à engager **38** dans une cascade de réactions de cycloadditions [4+2] puis [3+2] pour donner le produit pentacyclique **41**. La réaction est tout d'abord initiée par une cycloaddition intramoléculaire de Diels-Alder à demande inverse d'électron. La réaction mène à l'intermédiaire bicyclique **39** de configuration *syn* (le diénophile de départ est de configuration (*Z*)). L'extrusion de N₂ du cycloadduit **39** produit l'ylure **40**, stabilisé par ses substituants. Ce dernier subit une cycloaddition 1,3-dipolaire avec la partie indolique. Cette étape n'est pas stéréosélectivement contrôlée et conduit au mélange racémique qui est purifié par HPLC chirale pour isoler le composé énantiopur **41**.

Boger a montré que la configuration relative instaurée par cette cascade de réactions était contrôlée par une combinaison de deux facteurs : la géométrie du diènophile mais aussi la position *endo* que l'indole adopte par rapport au δ -lactame lors de la seconde cycloaddition. Sept étapes supplémentaires sont nécessaires par la suite pour conduire à la (-)-vindoline **10**.

La synthèse de Boger est extrêmement efficace puisqu'elle permet de mettre en place le squelette de la vindoline en une seule étape, en créant quatre liaisons C-C, les trois cycles de la partie monoterpénique, ainsi que la stéréochimie relative de six centres stéréogènes. La (-)-vindoline **10** est obtenue après douze étapes avec un rendement global de 8,1 %.

C.2 - Synthèse de l'anhydrovinblastine

De nombreuses approches pour la synthèse d'alcaloïdes dimères ont été envisagées, mais l'hémisynthèse est apparue comme étant la voie la plus adaptée. En effet, de nombreuses études consacrées à la synthèse de l'AVLB se sont basées sur la même réaction-clé faisant intervenir un couplage biomimétique entre la vindoline et la catharanthine fragmentée **15** (Schéma 16). Cette dernière est obtenue par activation de son azote tertiaire afin de faciliter la fragmentation au niveau de la liaison C₅-C₁₈.

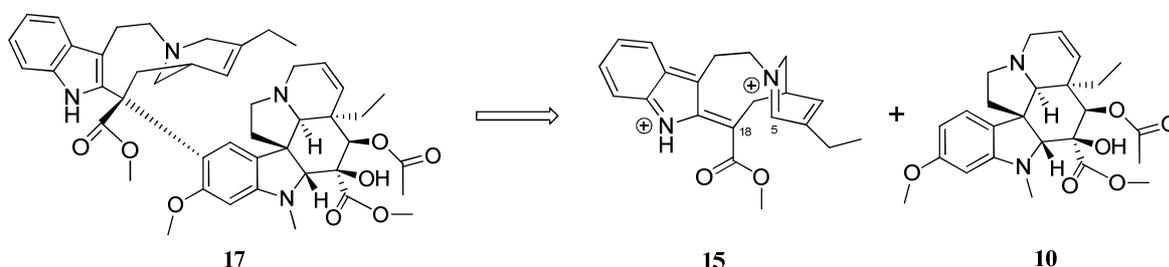


Schéma 16

C.2.a - Approche de Kutney

Kutney a montré que les chloroindolénines pouvaient être de bons synthons donnant accès aux alcaloïdes bisindoliques (Schéma 17).⁵⁹ Le traitement de la cléavamine **42** (équivalent synthétique de la forme ouverte de la catharanthine) par l'hypochlorite de *tert*-butyle fournit la chloroindolénine **43**. Cette dernière est introduite en milieu acide en présence de vindoline pour donner le dimère **44** avec un rendement de 45 %.

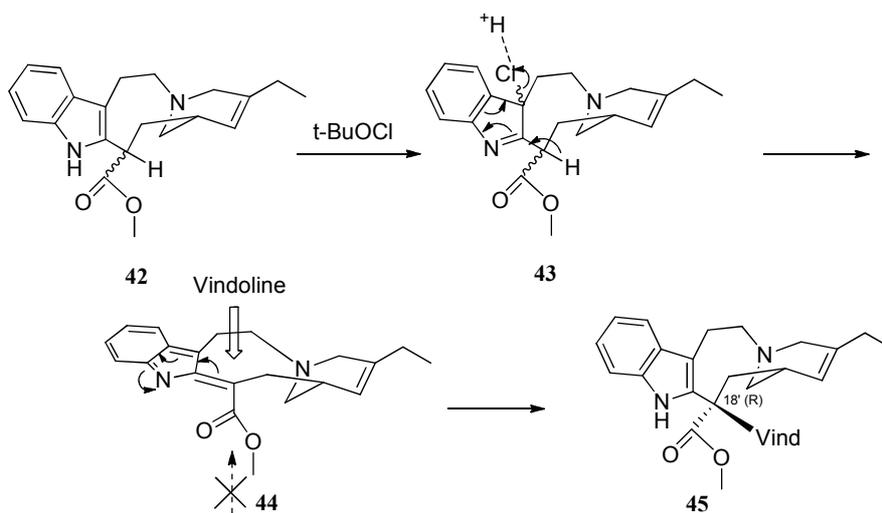


Schéma 17

Cette stratégie aboutit à la formation d'un produit unique **45**, épimère de l'anhydrovinblastine en position C_{18'}. Une analyse par rayon X a montré que seul l'épimère C_{18'}(**R**) était toujours obtenu. Les auteurs ont émis la possibilité d'un mécanisme ionique impliquant l'intermédiaire plan **44**. La catalyse acide permet la formation intermédiairement d'un ion carbonium qui se réarrange en l'espèce plane **44**. La stéréosélectivité observée peut s'expliquer par l'encombrement stérique plus élevé de la face inférieure dû à la présence de la pipéridine. L'addition de la vindoline s'effectue alors par la face supérieure, conduisant à la configuration finale du centre C_{18'}.

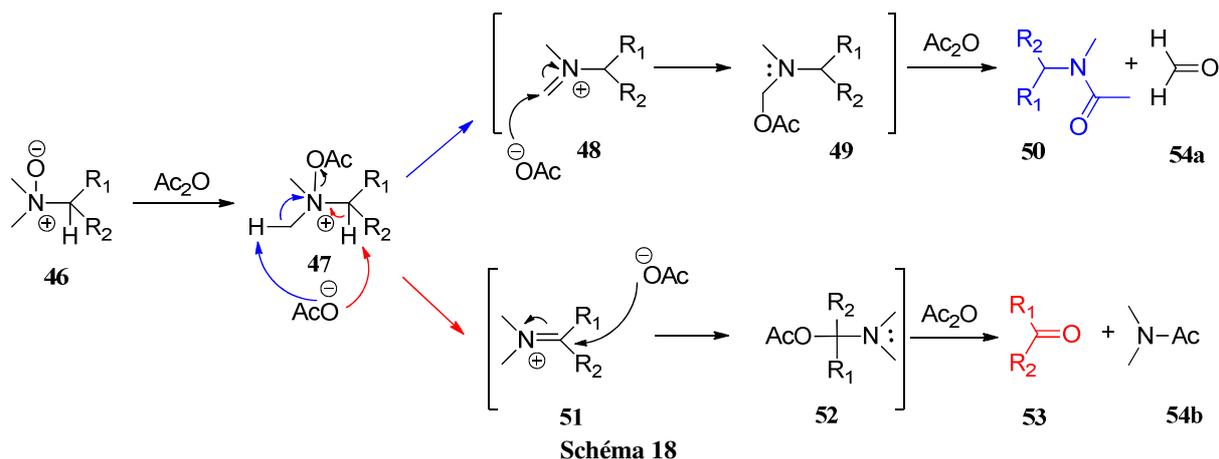
Cette première approche de Kutney montre les limites du couplage de la vindoline avec la cléavamine. D'autres stratégies de synthèse ont été alors explorées et se sont basées notamment sur une activation différente de la fragmentation de la catharanthine.

C.2.b - Approche biomimétique de Potier

Potier s'est intéressé au couplage biomimétique entre la catharanthine et la vindoline en s'appuyant sur la réaction de Polonovski.

C.2.b.1 - La réaction de Polonovski

Polonovski a décrit la réaction d'un dérivé *N*-oxyde **46** lorsque traité par de l'anhydride acétique (Schéma 18).⁶⁰

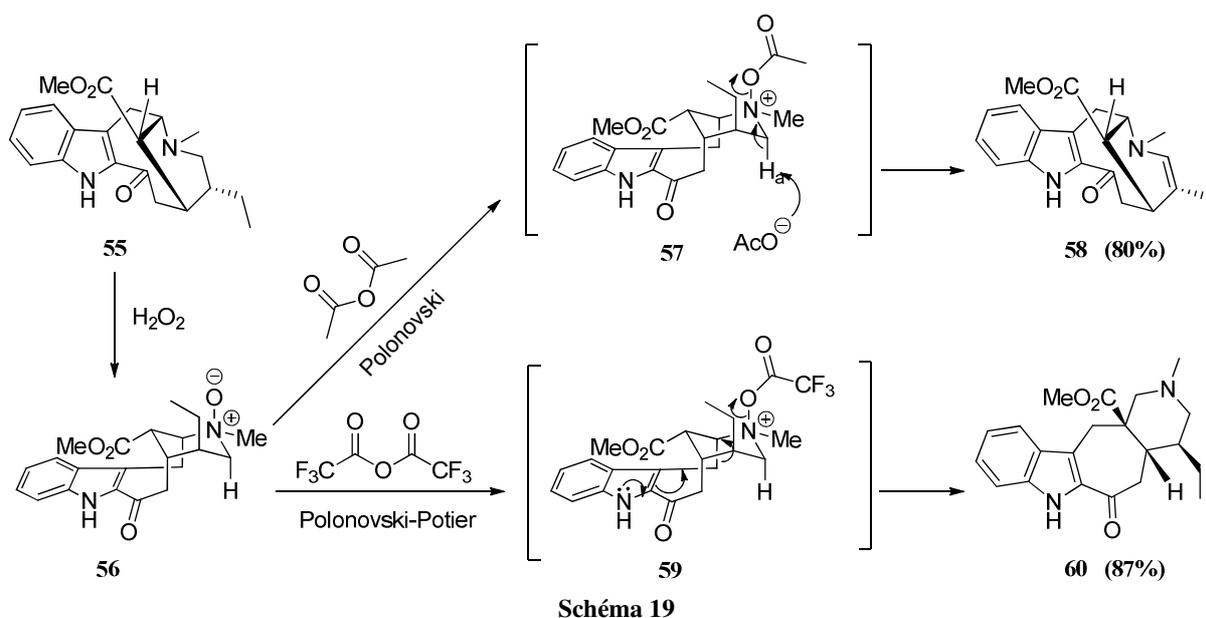


Le produit majoritaire de cette réaction est le dérivé *N*-acétylé **50** accompagné d'une quantité moindre du dérivé carbonyle correspondant **53**. Deux iminiums intermédiaires **48** et **51** peuvent être formés à partir de **47** en fonction du centre déprotonné par l'acétate. L'addition nucléophile d'un ion acétate conduit aux intermédiaires **49** et **52**. Ces derniers peuvent réagir à leur tour avec l'anhydride acétique pour donner, après acétylyse, les produits de fragmentation **50** et **53**.

C.2.b.2 - La réaction de Polonovski-Potier

En faisant réagir le *N*-oxyde sur de l'anhydride trifluoroacétique, Potier and coll. ont observé une réactivité différente, notamment dans le cas de *N*-oxydes d'amines γ -insaturées.⁶¹⁻⁶³ Cette observation a été confirmée par Mangeney qui travaillait sur le réarrangement de squelettes rigides, tels que celui de la drégamine **55**.⁶⁴ Il a été montré que le produit obtenu n'était pas le même lorsque le *N*-oxyde de drégamine **56** était mis à réagir en présence d'anhydride acétique ou trifluoroacétique (Schéma 19).⁶⁴

Lorsque **56** est traité dans les conditions classiques de Polonovski, le produit final est l'énamine **58**. La réaction passe par l'intermédiaire **57** dont le proton axial en α de l'amine et la liaison axiale N-O du *N*-oxyde sont antipériplanaires. L'ion acétate est suffisamment basique pour déprotoner H_a et ainsi conduire, *via* l'iminium, à l'énamine **58**. En présence d'anhydride trifluoroacétique, le produit final est la (2*S*)-épiervatamine **60** isolée avec un rendement de 87%. Dans ce cas, l'ion trifluoroacétate n'est pas suffisamment basique pour déprotoner l'intermédiaire **59**.



Une fragmentation de la liaison en α de l'amine et antiparallèle de la liaison N-O, assistée par la partie indolique est alors observée. Le milieu réactionnel évolue après une étape de réduction vers le produit **60**.

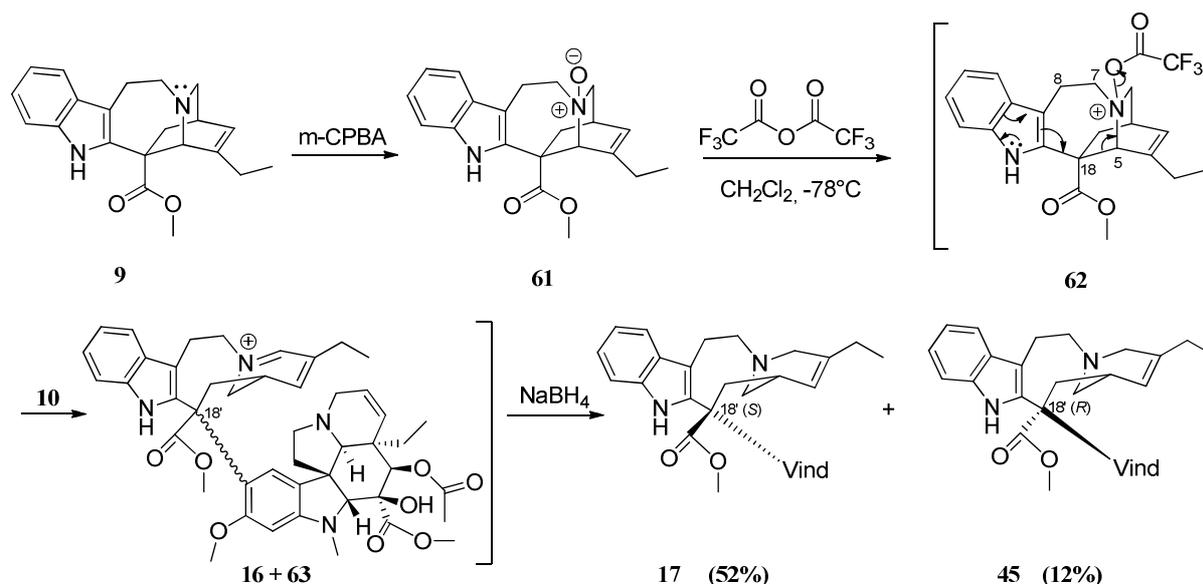
Cet exemple illustre parfaitement la différence de réactivité des systèmes cycliques rigides entre les conditions développées par Polonovski et celles utilisées par Potier. Deux facteurs influencent donc grandement le sens de la fragmentation :

- Un facteur électronique venant de la basicité de l'anion associé au N-oxyde.
- Un facteur géométrique par l'existence de liaisons antipériplanaires à la liaison N-O, susceptibles de se fragmenter dans le milieu réactionnel.

La réaction de Polonovski-Potier a prouvé son intérêt lors de la synthèse de nombreux alcaloïdes dont le squelette possède une structure rigide,⁶⁵⁻⁶⁷ et a été appliqué avec succès à la synthèse d'alcaloïdes bis-indoliques de *Vinca* tels que l'anhydrovinblastine.

C.2.b.3 - Application à la synthèse de l'anhydrovinblastine

Le N-oxyde de catharanthine **61** est préalablement synthétisé en faisant réagir **9** en présence de *m*-CPBA puis est traité par de l'anhydride trifluoroacétique à -78°C pour conduire à l'intermédiaire **62** (Schéma 20).



Ce dernier se fragmente majoritairement au niveau de la liaison C₅-C₁₈. L'iminium transitoire est piégé *in situ* par une molécule de vindoline pour former le mélange épimérique **16** et **63** qui conduisent après réduction par NaBH₄ à l'anhydrovinblastine **17** et à une fraction moindre de son épimère en C_{18'} **45**.

Lors du couplage, deux réactions de fragmentation rentrent en compétition : la fragmentation peut s'effectuer au niveau de la liaison C₅-C₁₈ ou au niveau de la liaison C₇-C₈ (Schéma 21). En effet, ces deux liaisons sont en position antipériplanaire par rapport à la liaison du N-oxyde. Néanmoins, la fragmentation de la liaison C₅-C₁₈ est favorisée par la présence de l'oléfine sur la catharanthine qui permet de stabiliser par conjugaison l'iminium **15**. L'importance de cette insaturation a été corroborée par des tests de couplage qui ont été réalisés entre la 3,4-dihydrocatharanthine (dans laquelle l'insaturation C₃-C₄ est réduite) et la vindoline. Le couplage a conduit notamment à une proportion plus importante du produit **64**.^{68, 69}

La réaction de couplage entre la catharanthine et la vindoline est extrêmement sensible à la température. Cette dernière influence non seulement le rendement de la réaction mais aussi la proportion finale du « mauvais » épimère C_{18'}(R). En effet, l'iminium peut exister *in situ* sous les deux conformations en équilibre **15** et **65**.⁷⁰ A basse température, l'iminium **15** possède une conformation spatiale proche de la catharanthine. La configuration du centre C_{18'} est alors sous contrôle cinétique de la conformation **15**. Ce dernier est attaqué par la vindoline par la face α, la plus dégagée pour donner le dimère **16**, précurseur direct de l'anhydrovinblastine.

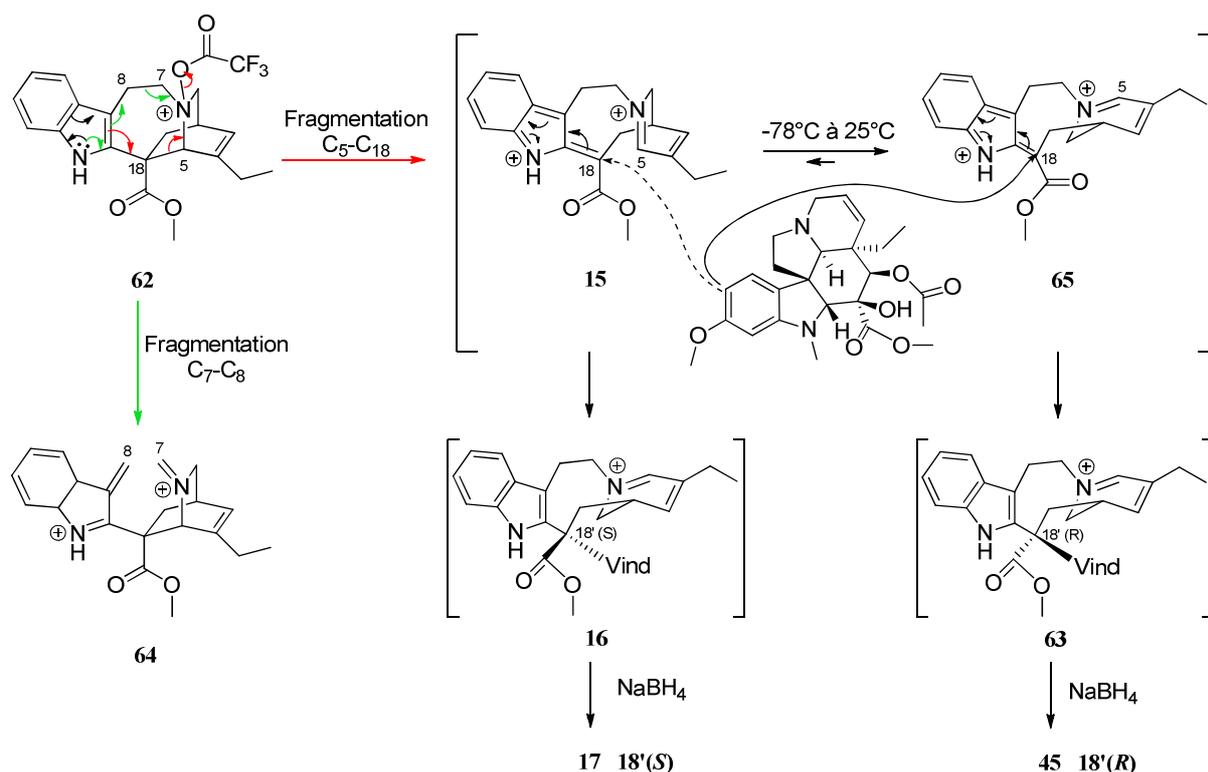


Schéma 21

En revanche, si le milieu est porté à température ambiante, l'iminium tend à adopter une conformation pseudo-chaise (produit **65**). Cet intermédiaire thermodynamique dont la face α est encombrée réagira avec la vindoline par addition de cette dernière par la face β induisant la configuration (*R*) du centre $\text{C}_{18'}$.^{68, 69}

La méthode de couplage de la catharanthine et de la vindoline par la réaction de Polonovski-Potier a été la première méthode par hémisynthèse décrite dans la littérature pour donner accès à l'anhydrovinblastine avec la configuration $\text{C}_{18'}$ (*S*). Toutes les voies explorées par le passé avaient abouti uniquement à l'épimère $\text{C}_{18'}$ (*R*), biologiquement non-actif.⁷¹ De nouvelles méthodes ont depuis été développées, se basant notamment sur de nouvelles réactions d'oxydation radicalaires qui permettent d'induire la formation de l'iminium **15**.

C.2.c - Réactions d'oxydation radicalaires

C.2.c.1 - Couplage photochimique

Cette méthode de couplage repose sur l'utilisation d'un photoactivateur qui, lorsqu'il est irradié à une longueur d'onde supérieure à 400 nm, va activer la conversion de l'oxygène à l'état triplet présent dans le milieu sous forme d'oxygène à l'état singulet.^{72, 73} Ce dernier va engendrer

la fragmentation de la liaison C₅-C₁₈ de la catharanthine en arrachant un des électrons du doublet non-liant de l'amine tertiaire qui va évoluer intermédiairement vers le radical indolényle **66**. Ce dernier subit un transfert monoélectronique par l'oxygène à l'état singulet pour aboutir à l'iminium conjugué **15** sur lequel va coupler la vindoline (Schéma 22).

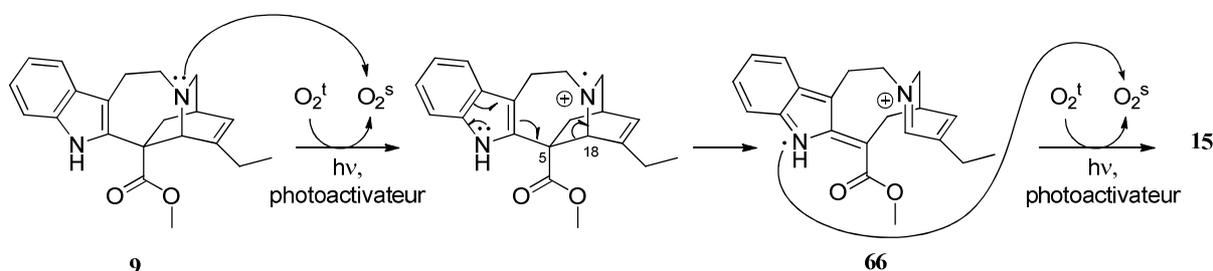


Schéma 22

L'AVLB **17** est obtenue en introduisant les deux alcaloïdes mono-indoliques dans des solutions aqueuses acides saturées en oxygène. L'utilisation de différents photoactivateurs tels que les pyriliniums, la fluorescéine, la riboflavine, des oxydes métalliques (TiO₂), la rhodamine 6G donne accès à **17** avec de bons rendements voisins de 80%.

C.2.c.2 - Couplage ferrique

La fragmentation de la catharanthine est induite par la réduction du cation Fe³⁺ en milieu acide tamponné (Schéma 23).^{74, 75} Un des électrons du doublet non-liant de l'amine tertiaire est arraché par le cation ferrique pour donner naissance, après fragmentation, au radical indolényle **66**. Ce dernier subit un second transfert monoélectronique pour aboutir à l'iminium **15**. Dans ces conditions réactionnelles (température ambiante en milieu aqueux), l'anhydrovinblastine est obtenue très majoritairement avec la bonne configuration C₁₈(S) et avec un rendement de 80 %.

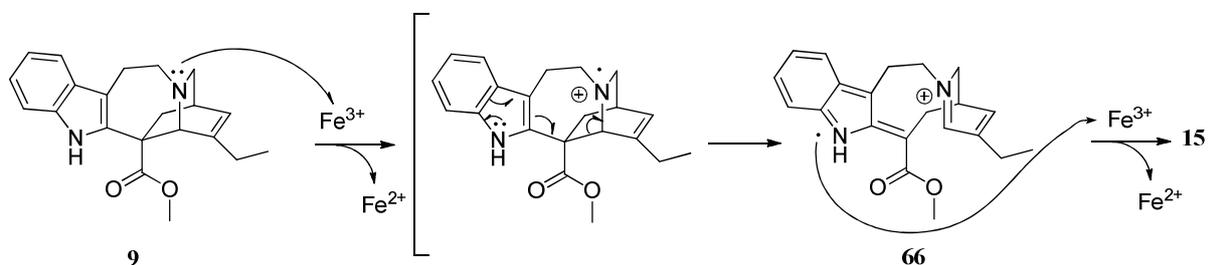
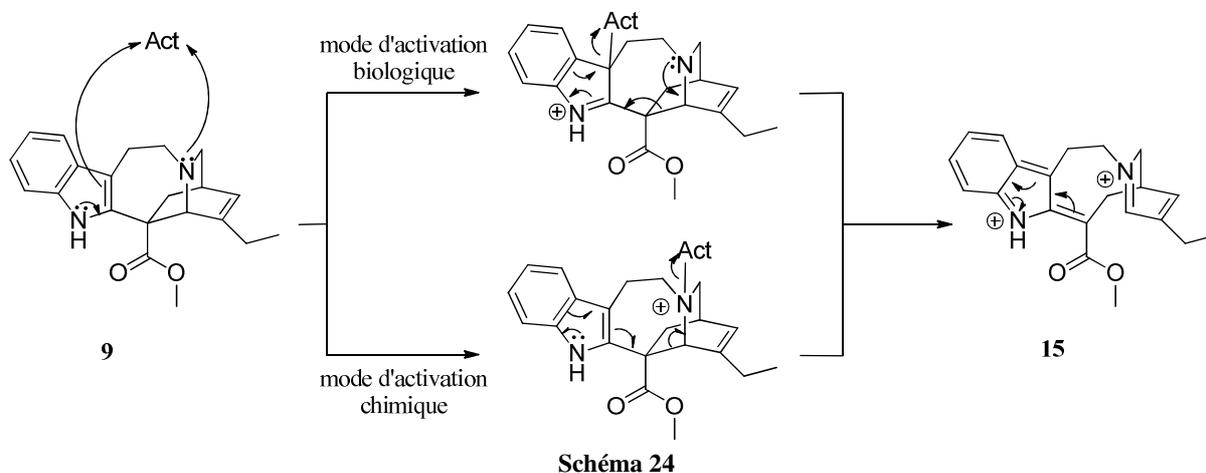


Schéma 23

Les différentes méthodes de synthèse de l'anhydrovinblastine **17** ont marqué une étape cruciale dans la synthèse d'alcaloïdes dimériques de type vinblastine. Ces conditions opératoires diffèrent cependant du mode d'activation « naturel » de la catharanthine effectué

dans la pervenche. La fragmentation de la liaison C₅-C₁₈ dans la plante passe par l'oxydation du noyau indolique alors que dans les conditions biomimétiques, l'iminium **15** est obtenu par activation de l'amine tertiaire (Schéma 24).

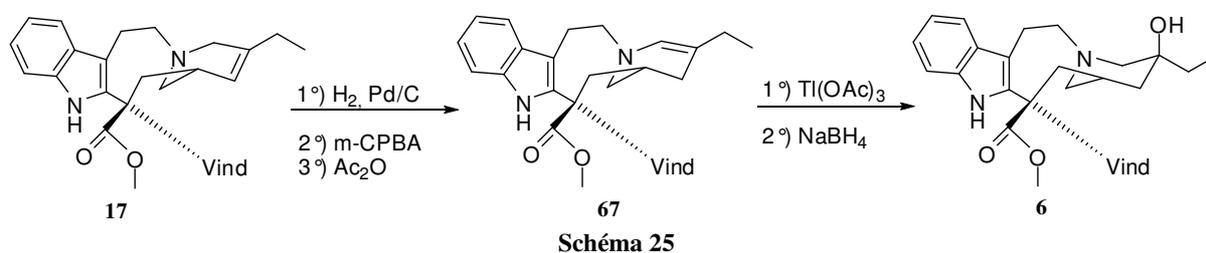


C.3 - Synthèse de la vinblastine

La complexité moléculaire de la vinblastine **6** a entraîné différentes stratégies de synthèse soit par l'hydratation directe de l'AVLB **17**, soit par couplage de la vindoline avec un précurseur du fragment Nord ou encore par synthèse totale.

C.3.a - Hémissynthèse à partir de l'anhydrovinblastine

Potier et *al.* ont développé une voie de synthèse de la vinblastine **6** à partir de **17** en passant par l'intermédiaire-clé **67** (Schéma 25).⁷⁶



Une hydrogénation en présence de Pd/C réduit l'oléfine du fragment Nord, puis le *N*-oxyde formé par traitement au *m*-CPBA est introduit dans les conditions de Polonovski pour conduire à l'énamine **67**. L'oxydation par un sel de thallium, suivi d'un traitement réducteur donne accès à la vinblastine avec un rendement global de 30 %.

Boger et coll. ont synthétisé la vinblastine par une conversion directe du mélange catharanthine et vindoline en s'inspirant d'un protocole d'oxydation développé par Kutney (Schéma 26).^{77, 78}

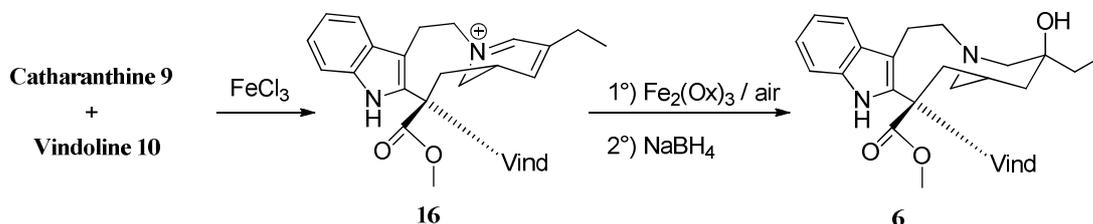


Schéma 26

Un couplage ferrique des monomères **9** et **10** mène à l'iminium **16**, suivi d'une oxydation par le système Fe₂(Ox)₃/air. Une réduction par NaBH₄ permet de terminer cette séquence pour conduire en une seule étape à la vinblastine avec 43% de rendement.

C.3.b - Hémisynthèses par couplage entre un précurseur du fragment Nord et la vindoline

Les résultats de Kutney (cf. § C.2.a) ont montré que la stratégie utilisant les chloroindolénines pour la synthèse d'alcaloïdes dimériques débouchait toujours la formation de l'épimère C₁₈·(*R*).⁵⁹ Pour s'affranchir de cette mauvaise stéréosélectivité, de nouvelles stratégies de synthèse ont été mises au point dans les années 90 en partant de différents précurseurs de la partie nord.

C.3.b.1 - Approche de Magnus

L'hémisynthèse décrite par Magnus repose sur la cyclopentacarboline **70**.^{79, 80} Cet intermédiaire-clé est synthétisé en 5 étapes à partir du thiolactame **68** et de l'aldéhyde **69** (Schéma 27). L'acylation de **70** par le chloroformiate de *p*-nitrobenzyle ionise partiellement la liaison C₁₈-N, activant ainsi le caractère électrophile de la position C₁₈. La fragmentation de la liaison induit un caractère plan à l'intermédiaire **71** sur lequel vient s'additionner la vindoline. Cette dernière vient attaquer sur la face β, qui est moins encombrée pour aboutir au composé **72** dont le centre C₁₈ possède la configuration absolue (*S*).

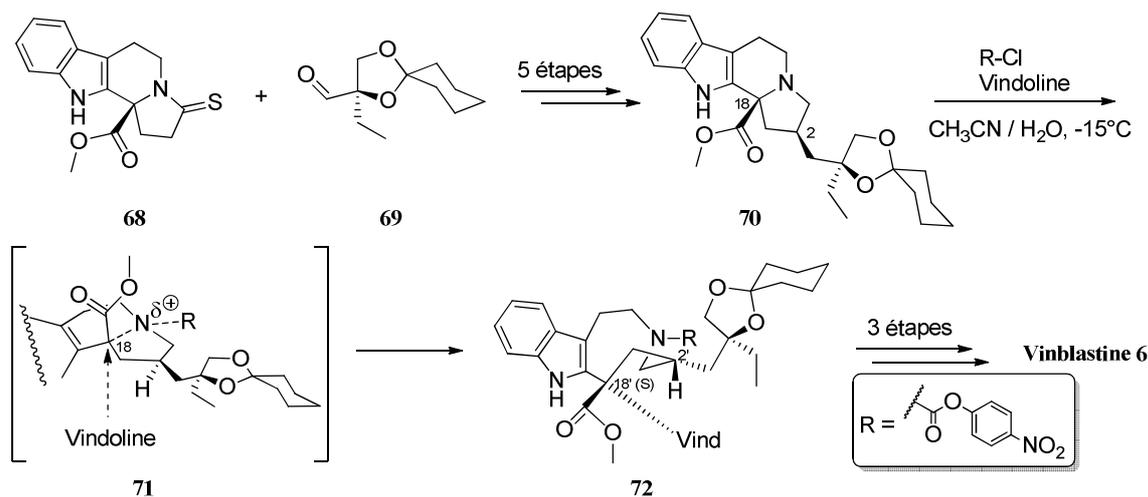


Schéma 27

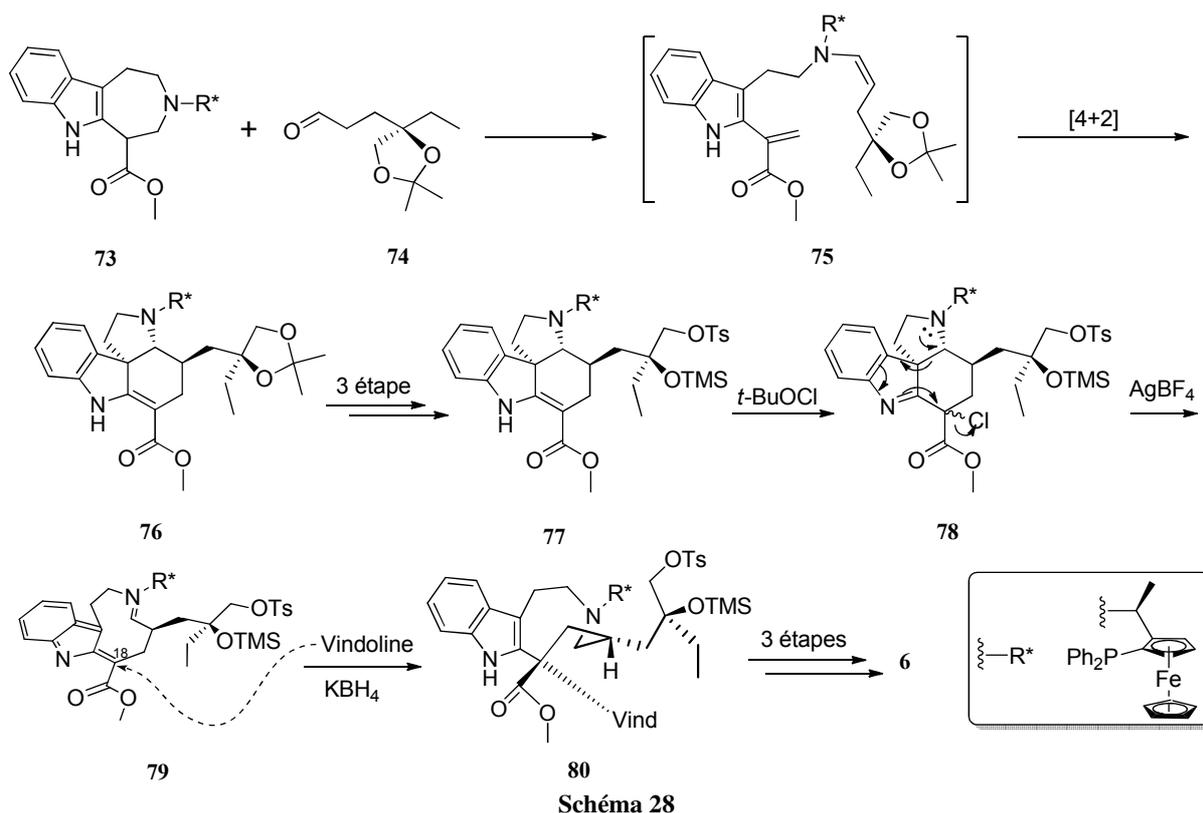
La stéréochimie du centre C_{18'} du dimère 72 est régie par deux paramètres, la température et le solvant. Les meilleures stéréosélectivités sont atteintes dans des solvants à forte constante diélectrique (CH₃NO₂, CH₃CN / H₂O) et à basse température (-20 à -15°C). Trois étapes sont enfin nécessaires pour accéder à la vinblastine 6 avec un rendement de 30% à partir de 70.

C.3.b.2 - Approche de Kuehne

Kuehne *et coll.* ont travaillé sur la synthèse de nombreux analogues d'alcaloïdes bis-indoliques de *Vinca*, publiant notamment la synthèse totale de vinblastine en 1991.^{81, 82} Celle-ci débute par la condensation de l'aldéhyde optiquement actif 74 avec l'azépine 73 (Schéma 28).

Cette réaction mène au composé fragmenté 75 qui subit une réaction de Diels-Alder intramoléculaire, entre le motif indoloacrylate et l'énamine aboutissant ainsi à 76. Les meilleures diastéréosélectivités lors de l'étape de cycloaddition [4+2] ont été obtenues lorsque l'azépine est substitué par la copule chirale R* = ((1*S*)-1-[(*R*)-(2-diphénylphosphino)-ferrocényl]éthyle). La fonctionnalisation adéquate du diol vicinal en trois étapes conduit à l'intermédiaire tétracyclique 77 diastéroisomériquement pur.⁵³

Un traitement par *t*-BuOCl transforme 77 en chloroindolénine 78 qui est mise en présence d'AgBF₄. Cette réaction permet de fragmenter 78 en iminium 79 sur lequel la vindoline vient s'additionner stéréosélectivement sur la face α.



La réduction du dimère par KBH_4 aboutit au composé **80** qui est traité à chaud, activant ainsi la cyclisation de la partie monoterpénique, par substitution nucléophile du tosylate par l'amine tertiaire. Deux étapes finales de déprotection (dont une pour la copule chirale R^*) conduisent finalement à la vindoline.

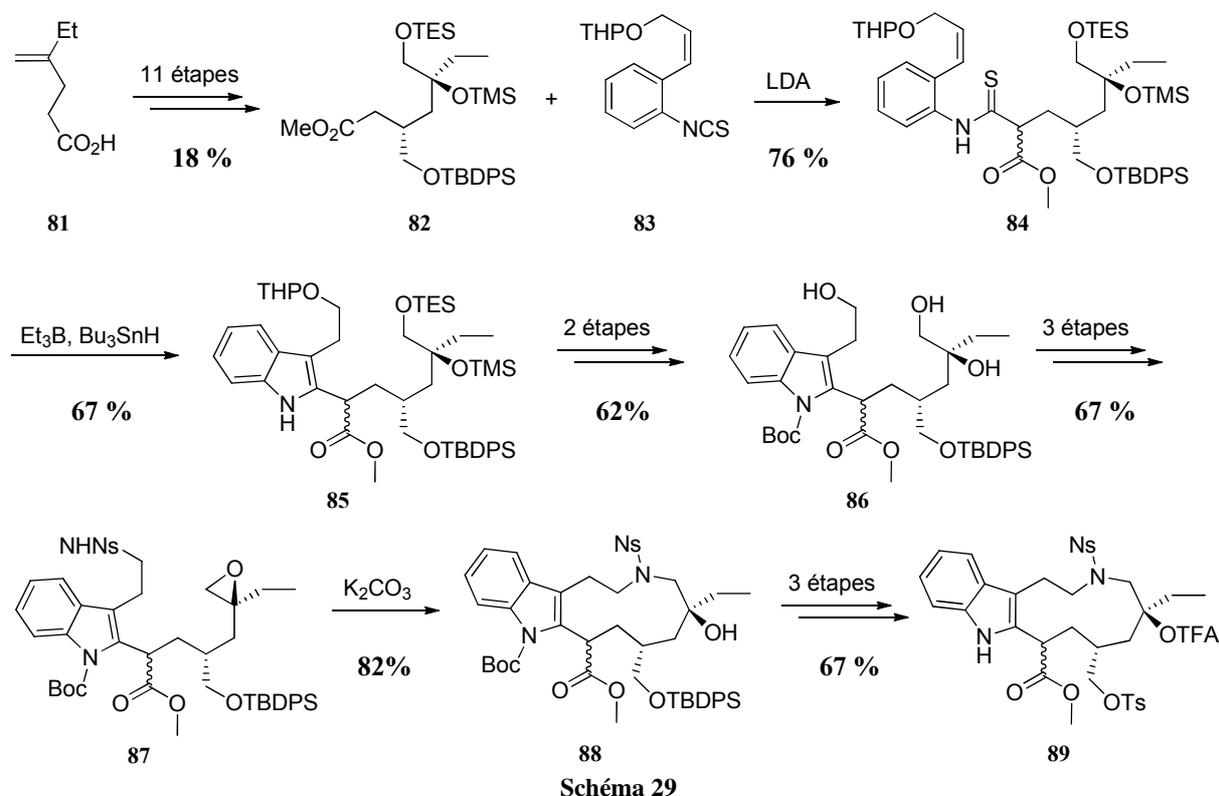
C.3.b.3 - Synthèse totale par Fukuyama

La synthèse totale de la vindoline a été décrite pour la première fois par l'équipe de Fukuyama en 2002.⁸³ La stratégie mise en place repose sur le couplage de la vindoline (cf. §C.1.b.1) avec un macrocycle à 11 chaînons, précurseur du fragment Nord. La conformation de ce macrocycle permet d'induire, lors de la réaction de couplage, la configuration $\text{C}_{18}(S)$ souhaitée.

C.3.b.3.1 - Synthèse du fragment Nord

La synthèse du fragment nord commence par l'aménagement fonctionnel de l'acide **81** en 11 étapes pour donner le triol persilylé optiquement actif **82** avec un rendement de 18% (Schéma 29). L'addition de **82** sur l'isothiocyanate **83** en conditions basiques conduit au

thioanilide **84** qui cyclise dans des conditions radicalaires similaires à la synthèse de la vindoline décrite par la même équipe pour mener à l'indole **85**.^{57, 84}



Le triol **86** est converti en aminoépoxyde **87** en trois étapes. Une réaction de macrocyclisation par addition de l'amine sur l'époxyde mène en milieu alcalin au produit **88** qui est fonctionnalisé en 3 étapes pour conduire au précurseur **89** du fragment Nord. La synthèse s'effectue en 22 étapes à partir de **81** avec un rendement global de 2%.

C.3.b.3.2 - Couplage des deux fragments

La réaction de couplage a été inspirée par les travaux de Schill et *al.* portant sur la synthèse d'un analogue déséthylé de la vinblastine.⁸⁵ Lors de cette étude, il avait été montré que le couplage d'un macrocycle à 11 chaînons similaire à **89** avec la vindoline menait au dimère avec la configuration absolue C₁₈(S).

A partir de ce résultat, l'équipe de Fukuyama a activé le macrocycle **89** sous la forme de la chloroindolénine **90** par action de *t*-BuOCl (Schéma 30). En milieu acide, **90** mène à l'intermédiaire **91** qui subit l'addition nucléophile de la vindoline et conduit à l'alcaloïde bis-indolique **92** avec un rendement de 97% sous la forme d'un seul diastéréoisomère.

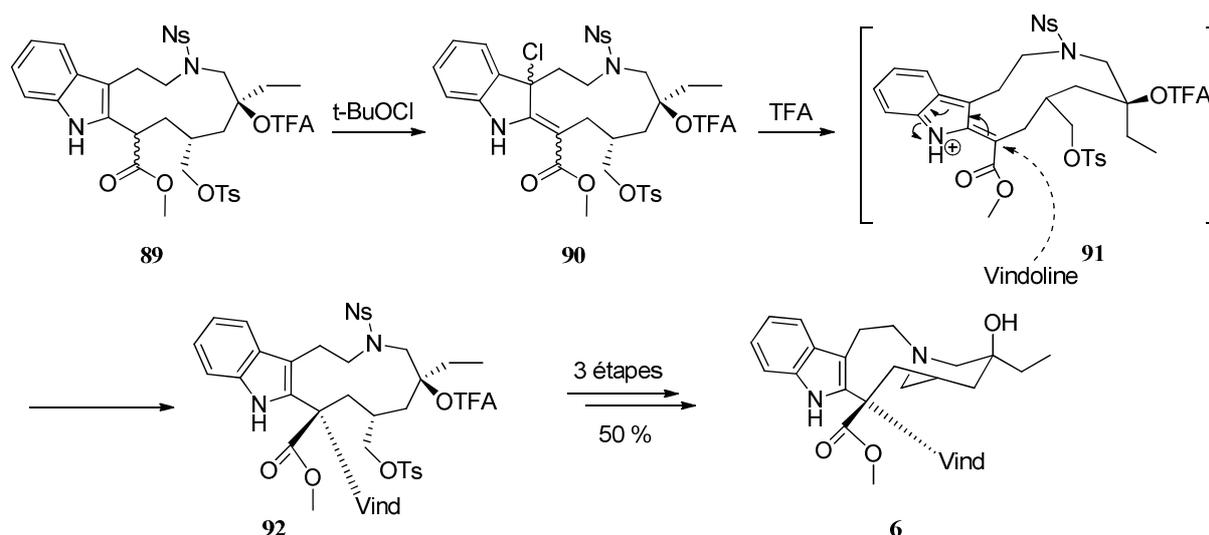


Schéma 30

La stéréosélectivité de l'addition de la vindoline peut s'expliquer par la conformation chaise que l'intermédiaire **91** adopte et qui a été confirmée par des calculs semi-empiriques (MOPAC MP3). Cette conformation induit un encombrement de la face β , la vindoline s'additionne alors sur la face opposée. Deux étapes de déprotection suivies de la substitution nucléophile de l'amine secondaire sur le tosylate complètent la synthèse totale de la (+)-vinblastine **6**. La synthèse totale de la vinblastine développée par Fukuyama a été la première synthèse *de novo* d'un alcaloïde dimère de *Vinca*, puisque s'appuyant également sur la synthèse totale de la vindoline effectuée préalablement par son équipe.

C.4 - Synthèses de la vincristine et de la vindésine

C.4.a - Synthèses de la vincristine

C.4.a.1 - Par hémisynthèse

La vincristine **7** se distingue structuralement de la vinblastine **6** uniquement par le fragment Sud. La partie dihydroindolique est substituée par un groupement formyle dans le cas de **7** à la place du méthyle dans le cas de **6** (Schéma 31). Les premières méthodes de synthèse de la vincristine ont été décrites et brevetées dans les années 70 et reposent sur l'oxydation sélective et directe du groupement méthyle de la vinblastine par le mélange $\text{Fe}^{\text{II}}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{HClO}_4$ ⁸⁶ ou par oxydation de Jones ($\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7/\text{H}_2\text{SO}_4$).⁸⁷ Une autre stratégie de synthèse de **7** consiste à formyler la déméthylvinblastine **93**.⁸⁸

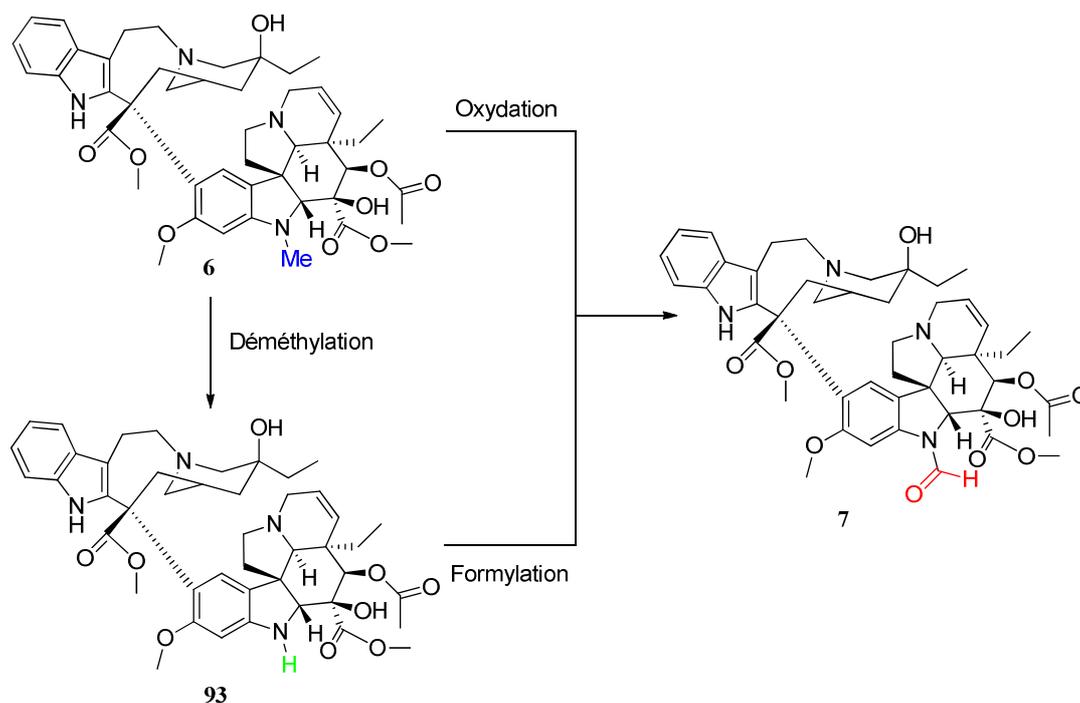


Schéma 31

C.4.a.2 - Par synthèse totale

Fukuyama et *al.* ont décrit en 2004 une synthèse totale de la vincristine qui repose sur une stratégie similaire à celle développée pour la synthèse de la vinblastine.⁸⁹ Néanmoins, la réaction de couplage entre le fragment Sud formylé **95** et le macrocycle à 11 chaînons **89** (précurseur du fragment Nord lors de la synthèse de la vinblastine) n'aboutit pas à la formation du dimère souhaité (Schéma 32).

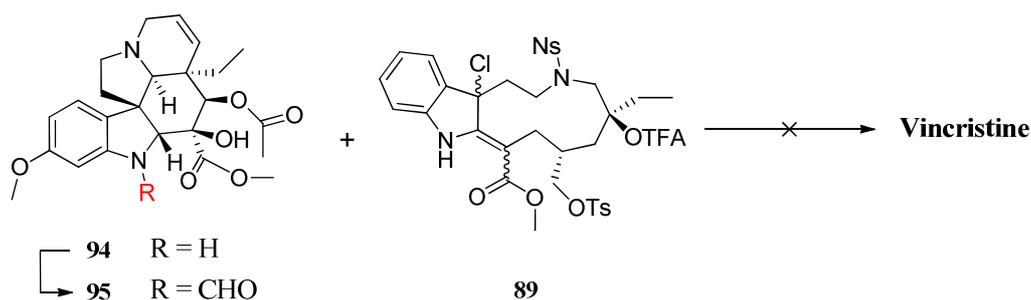


Schéma 32

En effet, la présence de la fonction *N*-formyle désactive la nucléophilie aromatique de **95** inhibant ainsi son couplage avec le macrocycle **89**. Une inversion des étapes de formylation et de couplage a rendu possible la synthèse de la vincristine avec un rendement global de 23% (Schéma 33).

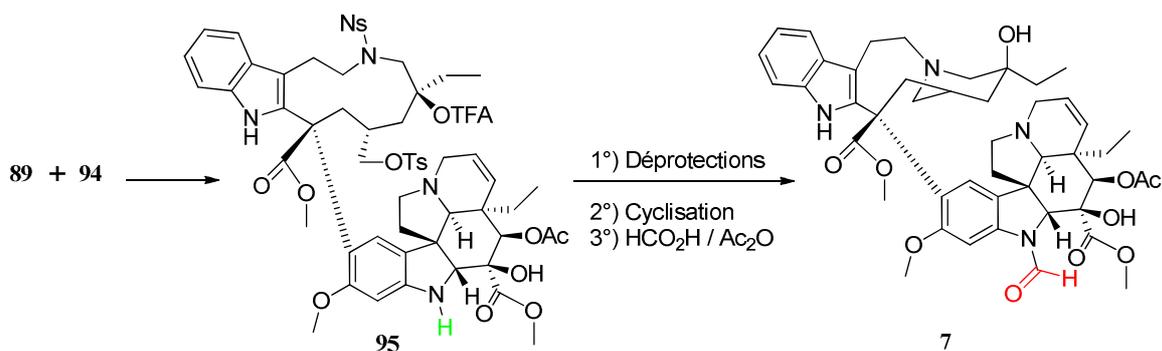


Schéma 33

C.4.b - Synthèse de la vindésine

La vindésine **96** n'est pas un alcaloïde dimérique naturel mais il est classé dans la famille d'alcaloïdes de *Vinca* de première génération, pour ses similarités structurales avec la vinblastine et à la vincristine. Seul le fragment Sud diffère par une modification de deux fonctions chimiques : l'ester est remplacé par une fonction amide primaire et l'acétate a été hydrolysé en alcool secondaire correspondant (Schéma 34).

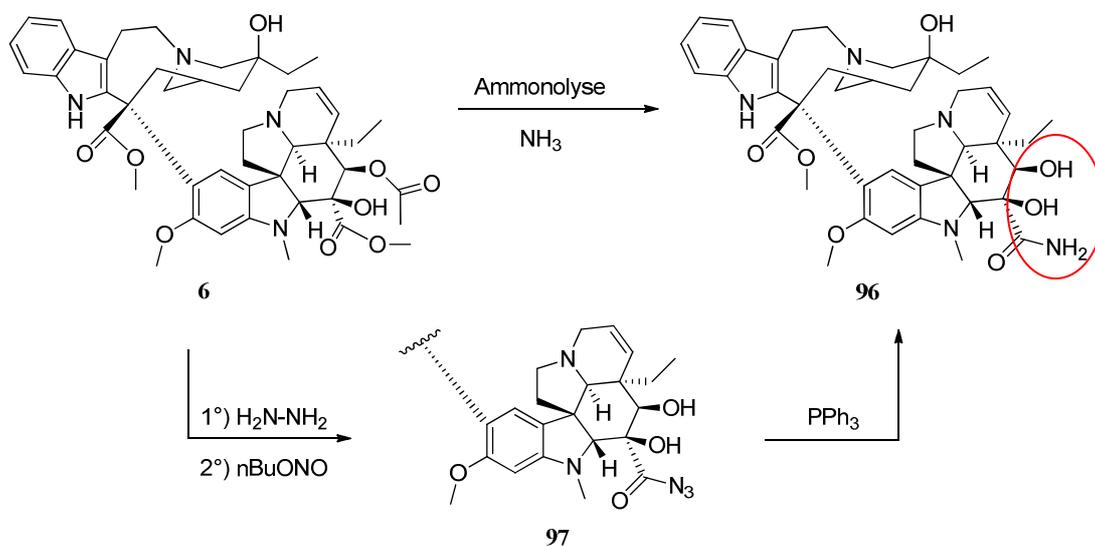


Schéma 34

La vindésine peut être synthétisée à partir de la vinblastine selon deux voies réactionnelles différentes. Une ammonolyse directe en présence de NH_3 conduit directement à **96**.⁹⁰ Une alternative peut être effectuée en deux temps :⁹¹ tout d'abord l'action de l'hydrazine sur le fragment Sud de la vinblastine permet l'activation de l'ester ainsi que l'hydrolyse de l'acétate. L'oxydation par le nitrite de *n*-butyle conduit ensuite à l'acylazoture **97**. Une

réduction de Staudinger par traitement de **97** avec PPh_3 mène après hydrolyse acide à la vindésine **96**.

De nombreux efforts de synthèse au cours des années 60-70 ont permis d'aboutir à de nouveaux alcaloïdes hémisynthétiques possédant des différences structurales marquées permettant de les discriminer des alcaloïdes de première génération.

D - Synthèses d'alcaloïdes de *Vinca* de deuxième et troisième générations

D.1 - Synthèse de la vinorelbine

D.1.a - Méthode initiale

La modification de la réaction de Polonovski par Potier avait permis le couplage de la catharanthine avec la vindoline pour conduire à l'anhydrovinblastine. Dans ces conditions réactionnelles, Potier avait observé une réaction de fragmentation parasite de la liaison C_7 '- C_8 ' conduisant à la formation d'un nouveau type d'alcaloïde (Schéma 35).

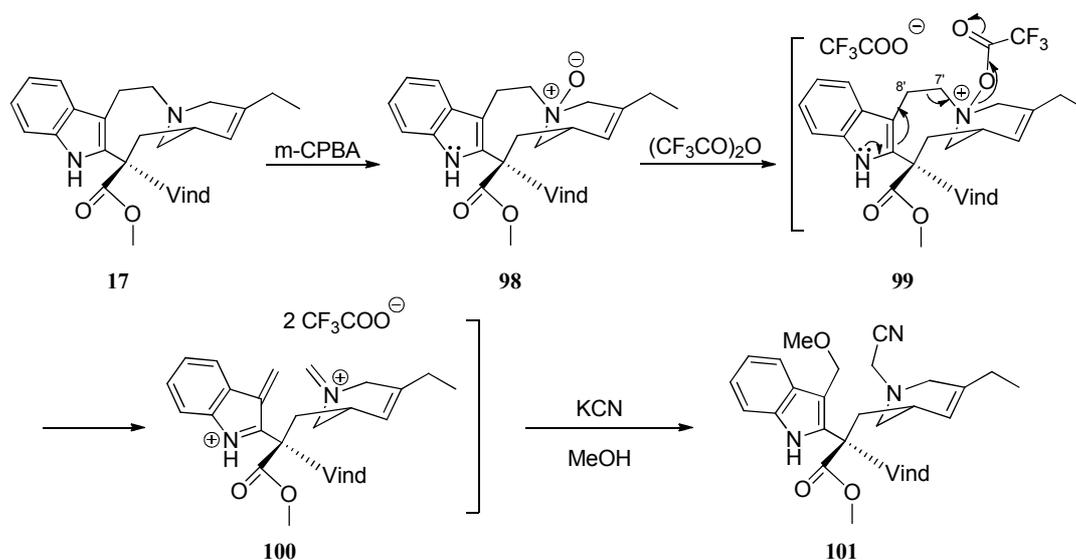


Schéma 35

Cette fragmentation mène à l'espèce ouverte **100** qui a été mise en évidence par piégeage nucléophile à l'aide de KCN dans le méthanol pour donner le 7'-8'-seco-bisindole **101**.⁹² Potier et *al.* ont montré que le traitement de l'iminium **100** par un mélange $\text{H}_2\text{O}/\text{THF}$ conduisait à la formation de la 7'-nor-anhydrovinblastine,⁹³ plus connue sous le nom de vinorelbine **105** (Navelbine[®]) avec 27% de rendement (Schéma 36).

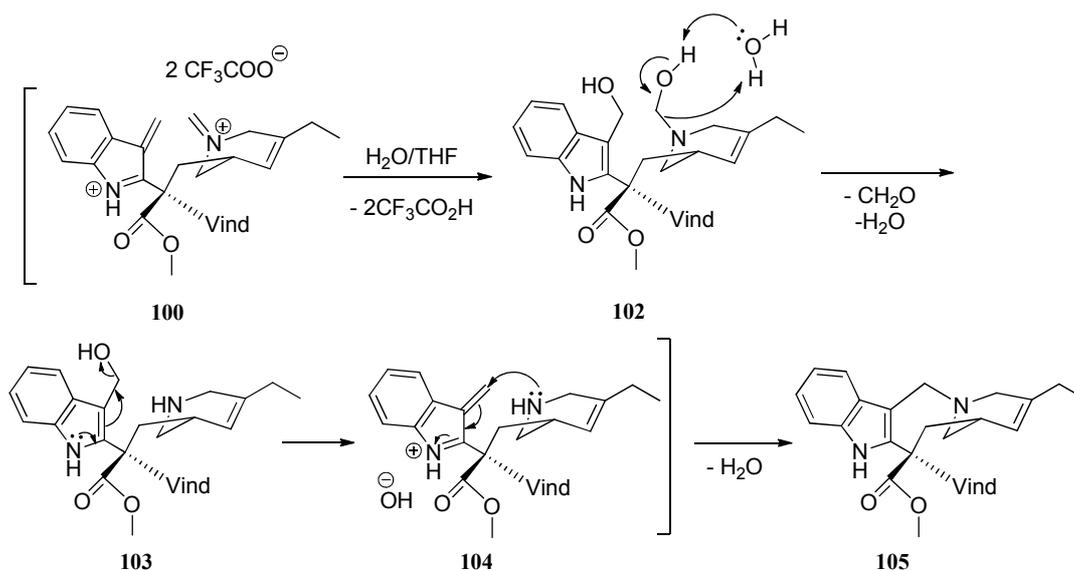


Schéma 36

Le produit **105** est le fruit d'une cascade de réactions successives qui commence par l'addition de deux molécules d'eau sur l'iminium **100** formant ainsi l'hémiacétal instable **102**. La perte d'un motif formyle mène séquentiellement à l'amine secondaire **103** puis à **104** qui va recycler pour conduire à la Navelbine® **105**.

D.1.b - Préparation industrielle de la Navelbine®

La transposition de cette synthèse de la Navelbine® à l'échelle industrielle n'a pas été concluante, notamment pour des raisons de rendement. Une nouvelle voie de synthèse en deux temps a alors été développée.⁹⁴ La première étape consiste en l'activation électrophile de la position C_{9'} par une source de Br⁺ conduisant à la formation de la bromo-9'-indolénine. Cette dernière est ensuite traitée par un sel d'argent (AgBF₄) qui induit la fragmentation du pont éthylénique. L'utilisation de NBS à basse température permet d'obtenir la bromoindolénine **106** qui mène à la Navelbine® avec un rendement global de 80% à partir de l'anhydrovinblastine **17** (Schéma 37). Cette voie de synthèse est actuellement brevetée et utilisée par les laboratoires Pierre Fabre pour produire industriellement la Navelbine®.

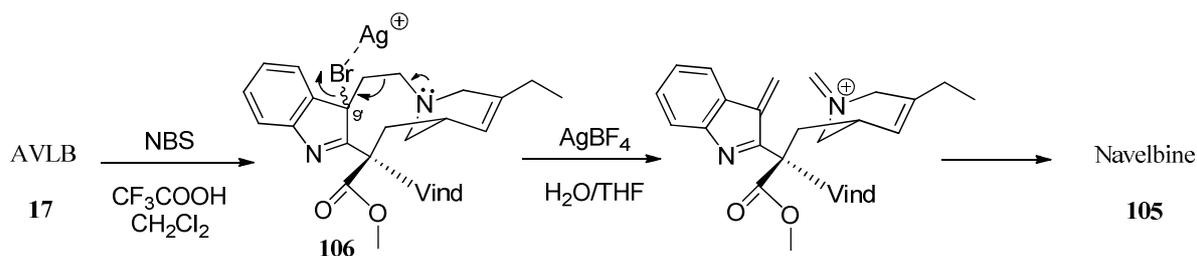


Schéma 37

La découverte de la vinorelbine **105** a ouvert la voie à de nouvelles applications des alcaloïdes de *Vinca* en chimiothérapie, faisant de la Navelbine® un des agents anticancéreux les plus utilisés de nos jours. Des centaines d'analogues ont été synthétisés à la suite de la découverte de la Navelbine®. Néanmoins, aucun alcaloïde de synthèse ne s'est distingué pour ses propriétés thérapeutiques. L'utilisation de conditions réactionnelles originales, telles que les milieux superacides, a débouché sur une fonctionnalisation inédite du squelette des dimères de *Vinca*. Ainsi est née la vinflunine appartenant à la famille des alcaloïdes de *Vinca* de troisième génération.

D.2 - Synthèse de la vinflunine en milieu superacide

D.2.a - La vinflunine

L'équipe de Jacquesy à Poitiers s'est intéressée dans les années 90 à l'application des milieux superacides sur des molécules complexes pour étudier leur réactivité dans ces systèmes singuliers. L'introduction de la Navelbine® en milieu superacide (mélange HF/SbF₅ en présence de CCl₄) a donné accès à une molécule jusqu'à là inédite : la vinflunine **107** (Schéma 38) dont la synthèse a été brevetée rapidement.^{95,96}

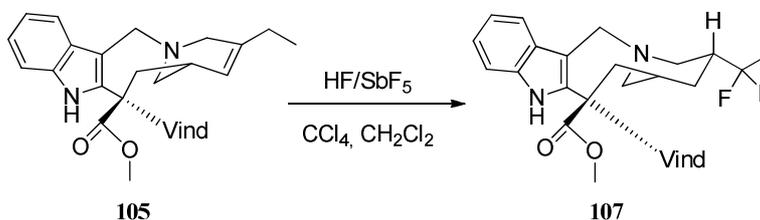


Schéma 38

Les milieux superacides possèdent des propriétés réactionnelles très particulières, dont la capacité de protoner des bases extrêmement faibles, telles que les chaînes carbonées inertes dans les conditions classiques de chimie organique. L'application des milieux superacides à la Navelbine® a permis de fonctionnaliser la position C₂₀, ordinairement peu réactive, en y introduisant de façon régiosélective deux atomes de fluor. Cette *gem*-difluoruration s'accompagne d'une réduction concomitante de l'insaturation C₃-C₄ pour créer un nouveau stéréocentre C₄ majoritairement de configuration (*R*).

D.2.b - Propriétés pharmacologiques de la vinflunine : une exception ?

Les résultats des tests *in vitro* effectués sur la vinflunine auraient dû l'écartier en tant que candidat médicament, puisqu'elle était présentée avec une activité inférieure à celles des agents de première et deuxième générations.^{97, 98} Cependant, la persévérance des équipes qui ont découvert la vinflunine a permis à cette dernière d'être testée *in vivo*. De manière surprenante, ces tests ont dévoilé une bien meilleure activité anticancéreuse sur petit animal. La vinflunine est certes moins active que ces prédécesseurs, mais permet d'accroître de manière significative la survie des souris sur une échelle de doses élargies. En outre, sa faible neurotoxicité lui a permis d'être administrée à des doses plus élevées par rapport aux alcaloïdes des générations précédentes (rapport de 4 à 32 fois plus importants).

Des tests effectués sur des souris contaminées par des xénogreffes de différentes tumeurs humaines (poumons, reins, pancréas, intestins...) ont conduit à sept réponses positives sur onze pour la vinflunine contre trois pour la vinorelbine.⁹⁹ Ces résultats ont confirmé le potentiel de la vinflunine comme agent anticancéreux, débouchant sur son évaluation clinique en 1998. Actuellement synthétisée industriellement par les laboratoires Pierre Fabre, la vinflunine a vu son autorisation de mise sur le marché sous le nom de Javlor[®] depuis 2009.

Suite aux résultats obtenus avec la vinflunine, des études ont été conduites pour mieux comprendre la relation structure/activité des alcaloïdes de *Vinca*. De nombreux analogues halogénés ont été synthétisés,⁹⁸ notamment par fonctionnalisation de la position C₂₀. Des modifications structurales ont été apportées sur le fragment Nord (entourées en rouge sur le Schéma 39) afin de rationaliser les différences d'activité de ces analogues par rapport aux alcaloïdes de référence (anhydrovinblastine et vinorelbine) (Tableau 1).

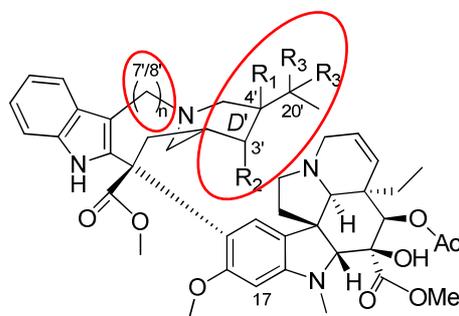


Schéma 39

Analogues	n	R ¹	R ²	R ³	Activité in vitro	Activité in vivo
Série Anhydrovinblastine	2	$\Delta^{4'-20'}$	H	$\Delta^{4'-20'}$	-	-
		H	H	H + Cl	-	+
		H	H	F ₂ ou Cl ₂	-	-
		F	H	H + Cl	-	x
Série vinorelbine	1	$\Delta^{4'-20'}$	H	$\Delta^{4'-20'}$	-	x
		$\Delta^{3'-4'S} + \Delta^{3'-4'R}$		H	=	=
		$\Delta^{3'-4'}$		=O	-	x
		H	H	=O H + OH		
		F	H	H + OH		
		$\Delta^{3'-4'}$		H + F	-	+
		$\Delta^{3'-4'}$		H + OH	-	x
		H	H	H + Cl	+	=
		H	H	Cl ₂	-	=
		F	H	H + Cl		

Tableau 1 : les activités sont comparées par rapport à l'anhydrovinblastine et par rapport à la vinorelbine

(Légende : - : inférieure ; = : égale ; + : supérieure ; x : pas d'activité).

Plusieurs conclusions ont été tirées à partir de ces résultats :

- L'absence de l'insaturation C_{3'}-C_{4'} change peu les activités, mais sa migration exocyclique (C_{4'}-C_{20'}) entraîne une baisse très sensible des activités dans les deux séries.
- La présence d'une fonction oxygénée en position C_{20'} supprime toute activité du dimère.
- L'activité *in vivo* des composés mono et dihalogénés en série vinorelbine est considérablement exaltée tant que le centre C_{4'} est de configuration (R). Néanmoins, les résultats sont opposés en série anhydrovinblastine.

Il a été montré par cette étude qu'aucune règle générale ne pouvait être tirée dans le but d'obtenir l'analogue « parfait » puisque les résultats pouvaient être divergent en série anhydrovinblastine et vinorelbine. Cependant, la contraction éventuelle du pont de la région Nord, la fonctionnalisation des positions C_{3'}, C_{4'}, C_{20'}, la conformation du cycle D', la substitution du centre C_{20'} ainsi que la configuration du centre C_{4'} sont des facteurs qui influencent grandement l'activité *in vivo* et la cytotoxicité de l'alcaloïde.

E – Utilisation thérapeutique des alcaloïdes de *Vinca*

La vinblastine **6** et la vincristine **7** ont été les premiers alcaloïdes de *Vinca* utilisés en chimiothérapie anticancéreuse pour le traitement des leucémies aiguës de l'enfant puis de l'adulte. La vinblastine, commercialisée sous le nom de Velbé® (Tableau 2) est aujourd'hui employée dans le traitement des cancers du testicule, de l'ovaire, du sein de la vessie et du sarcome de Kaposi (tumeurs cutanées dues à l'infection par le virus HHV8). Administrée par injections, sa posologie est trois à six fois plus importante que celle de la vincristine (Oncovin®). Cette dernière est indiquée dans le cadre de polychimiothérapies et lors de diagnostic du cancer du poumon, du col de l'utérus, du sein. Cependant, l'administration de ces alcaloïdes est extrêmement contrôlée car les effets secondaires majeurs qui sont associés à ces substances proviennent essentiellement de leur neurotoxicité. En effet, les microtubules sont les composants architecturaux principaux des neurones.^{100, 101}

Molécule	Nom du traitement	Cytotoxicité CI ₅₀ (nM)	Posologie (mg.m ⁻² .semaine ⁻¹)
Vinblastine 6	Velbé®	16	6
Vincristine 7	Oncovin®	16	1 à 2 (max)
Vindésine 96	Eldésine®	23	3 (adulte)
Vinorelbine 105	Navelbine®	28	25 à 30
Vinflunine 107	Javlor®	80	107

Tableau 2 : Utilisation des alcaloïdes de *Vinca* en chimiothérapie

La vindésine est actuellement utilisée pour d'autres types de cancers, tels que les cancers broncho-pulmonaires, du sein, de l'œsophage, mais aussi les leucémies et les lymphomes. La vindésine, utilisée sous le nom d'Eldésine®, est administrée par voie veineuse mensuellement (12 mg.m⁻².mois⁻¹).

La vinorelbine (Navelbine®) est indiquée lors de diagnostics des cancers du sein métastatique, traitement effectué par voie intraveineuse, ou du cancer du poumon « non à petites cellules » par voie veineuse ou plus récemment par voie orale. Moins toxique, elle peut être administrée à des doses hebdomadaires plus importantes (25 à 30 mg.m⁻²).

Enfin, la vinflunine (Javlor®) est actuellement utilisée dans le traitement du cancer du sein et du poumon. Bien qu'elle soit moins neurotoxique que ces prédécesseurs, la vinflunine possède une activité antivasculaire non négligeable.^{102, 103} Les derniers tests de phase III ont abouti à l'utilisation de Javlor® dans le cadre de traitement de seconde intention après l'échec d'un traitement préalable à base de cis-platine pour le traitement du cancer de la vessie.

F – Conclusion

La découverte par extraction des feuilles de la pervenche de Madagascar des alcaloïdes de Vinca dans les années 1950 a permis de soigner par chimiothérapie un nombre croissant de patients atteints par le cancer. Différentes voies hémisynthétiques, axées sur le couplage biomimétique de la catharanthine et de la vindoline ont permis d'accéder aux alcaloïdes de *Vinca* et ont ouvert la voie à la découverte de nouveaux dérivés (vindésine).

Ces travaux ont abouti en 1979 à la découverte de la vinorelbine par contraction du pont du fragment Nord. L'efficacité anticancéreuse de la Navelbine® a mis en évidence que des modifications structurales, mêmes mineures, pouvaient significativement améliorer les performances thérapeutiques : la deuxième génération des alcaloïdes de *Vinca* était alors née.

Plus récemment, l'utilisation des milieux superacides a abouti à une fonctionnalisation inédite mais très efficace de la Navelbine® pour conduire à la vinflunine, alcaloïde de troisième génération qui a obtenu son autorisation de mise sur le marché en 2009. Cette substance difluorée est devenue une référence dans le domaine des agents anticancéreux par son efficacité et par sa faible neurotoxicité.

Ces différents agents anticancéreux dont les structures sont récapitulées dans le schéma 40 et le Tableau 3. Les deux prochains chapitres de ce mémoire traiteront des travaux effectués pendant cette thèse sur les alcaloïdes de troisième génération.

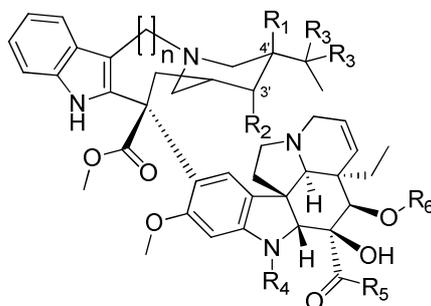


Schéma 40

Alcaloïde ou analogue	Année de découverte	Génération	n	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
Vinblastine 6	1958	1 ^{ère}	2	OH	H	H	CH ₃	OCH ₃	COCH ₃
Vincristine 7	1959		2	OH	H	H	CHO	OCH ₃	COCH ₃
Vindésine 96	1981		2	OH	H	H	CH ₃	NH ₂	H
Vinorelbine 105	1979	2 ^{ème}	1	Δ ^{3'-4'}		H	CH ₃	OCH ₃	COCH ₃
Vinflunine 110	1997	3 ^{ème}	1	H	H	F	CH ₃	OCH ₃	COCH ₃

Tableau 3 : groupements fonctionnels du fragment Nord des alcaloïdes de *Vinca*

Bibliographie du chapitre IV

1. Fearon, E. R.; Hamilton, S. R.; Vogelstein, B., *Science* **1987**, 238, 193-197.
2. Solomon, E.; Borrow, J.; Goddard, A. D., *Science* **1991**, 254, 1153-1160.
3. Meijer, L., *Oncologie* **2003**, 5, 311-326.
4. McIntosh, J. R.; Koonce, M. P., Mitosis. *Science* **1989**, 246, 622-628.
5. Nogales, E.; Wolf, S. G.; Downing, K. H., *Nature* **1998**, 391, 199-203.
6. Jordan, M. A.; Wilson, L., *Nat Rev Cancer* **2004**, 4, 253-265.
7. Margolis, R. L.; Wilson, L., *Nature* **1981**, 293, 705-711.
8. Conde, C. C., A., *Nature Reviews Neuroscience* **2009**, 10, 319-332.
9. Kirschner, M. W.; Mitchison, T. I. M., *Nature* **1986**, 324, 621-621.
10. Mitchison, T.; Kirschner, M., *Nature* **1984**, 312, 237-242.
11. Jordan, A. H., J. A.; Lawrence, N. J.; McGown, A. T., Tubulin as a target for anticancer drugs : agents which interact with the mitotic spindle. *John Wiley & Sons* **1998**, pp 259-296.
12. Schiff, P. B.; Fant, J.; Horwitz, S. B., *Nature* **1979**, 277, 665-667.
13. Bollag, D. M.; McQueney, P. A.; Zhu, J.; Hensens, O.; Koupal, L.; Liesch, J.; Goetz, M.; Lazarides, E.; Woods, C. M., *Cancer Research* **1995**, 55, 2325-2333.
14. Ravelli, R. B. G.; Gigant, B.; Curmi, P. A.; Jourdain, I.; Lachkar, S.; Sobel, A.; Knossow, M., *Nature* **2004**, 428, 198-202.
15. Toso, R. J.; Jordan, M. A.; Farrell, K. W.; *Biochemistry* **1993**, 32, 1285-1293.
16. Sackett, D. L., *Biochemistry* **1995**, 34, 7010-7019.
17. Rai, S. S.; Wolff, J., *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 14707-14711.
18. Lobert, S.; Vulevic, B.; Correia, J. J., *Biochemistry* **1996**, 35, 6806-6814.
19. Gigant, B.; Wang, C.; Ravelli, R. B. G.; Roussi, F.; Steinmetz, M. O.; Curmi, P. A.; Sobel, A.; Knossow, M., *Nature* **2005**, 435, 519-522.
20. Longuefosse, J.-L., Plantes médicinales de la Caraïbe. *Gondwana Editions* **2003**, pp 176-177.
21. Blaskó, G.; Cordell, G. A., Chapter 1 Isolation, Structure Elucidation, and Biosynthesis of the Bisindole Alkaloids of Catharanthus. *In The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology*, Academic Press: 1990; Vol. Volume 37, pp 1-76.
22. Noble, R. L.; Beer, C. T.; Cutts, J. H., *Annals of the New York Academy of Sciences* **1958**, 76, 882-894.
23. Svoboda, G. H.; Neuss, N.; Gorman, M., *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.* **1959**, 48, 659.
24. Brown, R. T.; Hill, J. S.; Smith, G. F.; Stapleford, K. S. J., *Tetrahedron* **1971**, 27, 5217-5228.
25. Nagakura, N.; Rüffer, M.; Zenk, M. H., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1979**, 2308-2312.
26. Scott, A. I., *Acc. Chem. Res.* **1970**, 3, 151-157.
27. Scott, A. I.; Gueritte, F.; Lee, S. L., *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 6253-6255.
28. Kutney, J. P.; Aweryn, B.; Choi, L. S. L.; Honda, T.; Kolodziejczyk, P.; Lewis, N. G.; Sato, T.; Sleight, S. K.; Stuart, K. L.; Worth, B. R., *Tetrahedron* **1983**, 39, 3781.
29. Kutney, J. P.; Boulet, C. A.; Choi, L. S. L.; Gustowski, W.; McHugh, M.; Nakano, J.; Nikaido, T.; Tsukamoto, H.; Hewitt, G. M.; Suen, R., *Heterocycles* **1988**, 27, 613-620.
30. Stuart, K. L.; Kutney, J. P.; Honda, T.; Worth, B. R., *Heterocycles* **1978**, 9, 1419-1427.
31. Kutney, J. P.; Botta, B.; Boulet, C. A.; Buschi, C. A.; Choi, L. S. L.; Golinski, J.; Gumulka, M.; Hewitt, G. M.; Lee, G.; McHugh, M.; Nakano, J.; Nikaido, T.; Onodera,

- J.-I.; Perez, I.; Salisbury, P.; Singh, M.; Suen, R.; Tsukamoto, H., *Heterocycles* **1988**, 27, 629-637.
32. Kutney, J. P.; Choi, L. S. L.; Nakano, J.; Tsukamoto, H., *Heterocycles* **1988**, 27, 1827-1836.
33. Kutney, J. P.; Choi, L. S. L.; Nakano, J.; Tsukamoto, H., *Heterocycles* **1988**, 27, 1837-1843.
34. Büchi, G.; Kulsa, P.; Ogasawara, K.; Rosati, R. L., *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 999.
35. Imanishi, T.; Shin, H.; Yagi, N.; Hanaoka, M., *Tetrahedron Lett.* **1980**, 21, 3285.
36. Raucher, S.; Bray, B. L.; Lawrence, R. F., *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 442.
37. Qureshi, A. A.; Scott, A. I., *Chem. Commun.* **1968**, 947-948.
38. Kutney, J. P.; Bylsma, F., *Helv. Chim. Acta* **1975**, 58, 1672.
39. Trost, B. M.; Godleski, S. A.; Belletire, J. L., *J. Org. Chem.* **1979**, 44, 2052.
40. Marazano, C.; LeGoff, M.; Fourrey, J.; Das, B. C., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1981**, 389.
41. Kuehne, M. E.; Bornmann, W. G.; Earley, W. G.; Marko, I., *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 2913.
42. Reding, M. T.; Fukuyama, T., *Org. Lett.* **1999**, 1, 973-976.
43. Szántay, C.; Bölcskei, H.; Gács-Baitz, E., *Tetrahedron* **1990**, 46, 1711.
44. Moisan, L.; Thuery, P.; Nicolas, M.; E., D.; Rousseau, B., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl* **2006**, 45, 5334-5336.
45. Ando, M.; Büchi, G.; Ohnuma, T., *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 6880.
46. Kutney, J. P.; Bunzli-Trepp, U.; Chan, K. K.; De Souza, J. P.; Fujise, Y.; Honda, T.; Katsube, J.; Klein, F. K.; Leutwiler, A.; Morehead, S.; Rohr, M.; Worth, B. R., *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 100, 4220.
47. Andriamialisoa, R. Z.; Langlois, N.; Langlois, Y., *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 961.
48. Ban, Y.; Sekine, Y.; Oishi, T., *Tetrahedron Lett.* **1978**, 2, 151.
49. Takano, S.; Shishido, K.; Sato, M.; Yuta, K.; Ogasawara, K., *Heterocycles* **1979**, 13, 307.
50. Danieli, B.; Lesma, G.; Palmisano, G.; Riva, R., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 909.
51. Danieli, B.; Lesma, G.; Palmisano, G.; Riva, R., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1987**, 155.
52. Zhou, S.; Bommeziijn, S.; Murphy, J. A., *Org. Lett.* **2002**, 4, 443.
53. Feldman, K. S.; Schildknecht, K., *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 1129.
54. Kuehne, M. E.; Podhorez, D. E.; Mulamba, T.; Bornmann, W. G., *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 347.
55. Cardwell, K.; Hewitt, B.; Ladlow, M.; Magnus, P., *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 2242.
56. Kobayashi, S.; Ueda, T.; Fukuyama, T., *Synlett* **2000**, 883.
57. Tokuyama, H.; Yamashita, T.; Reding, M. T.; Kaburagi, Y.; Fukuyama, T., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 3791.
58. Ishikawa, H.; Elliott, G. I.; Velcicky, J.; Choi, Y.; Boger, D. L., *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 10596-10612.
59. Kutney, J. P.; Beck, J.; Bylsma, F.; Cretney, W. J., *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 4504-4505.
60. Polonovski, M. Polonovski, M., *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1927**, 41, 1190-1208.
61. Ahond, A.; Cave, A.; Kan-Fan, C.; Husson, H. P.; De Rostolan, J.; Potier, P., *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, 90, 5622-5623.
62. Cave, A.; Kan-Fan, C.; Potier, P.; Le Men, J., *Tetrahedron* **1967**, 23, 4681-4689.
63. Ahond, A. C., A.; Kan-Fan, C.; Langlois, Y.; Potier, P., *Chem. Commun.* **1970**, 517.
64. Mangeney, P., *Tetrahedron* **1978**, 34, 1349-1357.

65. Husson, H. P.; Chevolut, L.; Langlois, Y.; Thal, C.; Potier, P., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1972**, 930-931.
66. Husson, A.; Langlois, Y.; Riche, C.; Husson, H. P.; Potier, P., *Tetrahedron* **1973**, *29*, 3095-3098.
67. Langlois, Y.; Langlois, N.; Potier, P., *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 955-958.
68. Langlois, N.; Gueritte, F.; Langlois, Y.; Potier, P., *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 7017-7024.
69. Potier, P.; Langlois, N.; Langlois, Y.; Gueritte, F., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1975**, 670.
70. Sundberg, R. J.; Gadamasetti, K. G.; Hunt, P. J., *Tetrahedron* **1992**, *48*, 277-296.
71. Zavala, F.; Guénard, D.; Potier, P., *Experientia* **1978**, *34*, 1497-1499.
72. Sundberg, R. J.; Desos, P.; Gadamasetti, K. G.; Sabat, M., *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 3035-3038.
73. Rool, P., *PCT Int. Appl.* **1999**, 38 pp, WO 9962912.
74. Vukovic, J.; Goodbody, A. E.; Kutney, J. P.; Misawa, M., *Tetrahedron* **1988**, *44*, 325-331.
75. Szántay, C.; Balázs, M.; Bölskei, H.; Szántay, C., *Tetrahedron* **1991**, *47*, 1265-1274.
76. Mangeney, P.; Zo Andriamialisoa, R.; Langlois, N.; Langlois, Y.; Potier, P., *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 2243-2245.
77. Kutney, J. P.; Choi, L. S. L.; Nakano, J.; Tsukamoto, H.; McHugh, M.; Boulet, C. A., *Heterocycles* **1988**, *27*, 1845.
78. Ishikawa, H.; Colby, D. A.; Seto, S.; Boger, D. L., *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 4904-4916.
79. Magnus, P.; Stamford, A.; Ladlow, M., *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8210-8212.
80. Magnus, P.; Mendoza, J. S.; Stamford, A.; Ladlow, M.; Willis, P., *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10232-10245.
81. Kuehne, M. E.; Matson, P. A.; Bornmann, W. G., *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 513-528.
82. Kuehne, M. E.; Bandarage, U. K., *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 1175-1179.
83. Yokoshima, S.; Ueda, T.; Kobayashi, S.; Sato, A.; Kuboyama, T.; Tokuyama, H.; Fukuyama, T., *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2137-2139.
84. Kobayashi, S.; Ueda, T.; Fukuyama, T., *Synlett* **2000**, *2000*, 883-886.
85. Schill, G.; Priester, C. U.; Windhövel, U. F.; Fritz, H., *Tetrahedron* **1987**, *43*, 3765-3786.
86. Pearce, H. L., Eur. Patent 37,289 A1 811,007 ; (1982). *Chem. Abstr.* **1982**, *96*, 85834.
87. Conrad, R. A., Eur. Patent 37,290 A1 811,007 ; (1982). *Chem. Abstr.* **1982**, *96*, 104583.
88. Jovanovics, K.; Szasz, K.; Fekete, G.; Bittner, E.; Dezseri, E.; Elex, J., U.S. Patent 3,899,493-750,812 ; (1975). *Chem. Abstr.* **1975**, *83*, 179360.
89. Kuboyama, T.; Yokoshima, S.; Tokuyama, H.; Fukuyama, T., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2004**, *101*, (null), 11966.
90. Keve, T.; Acs, T.; Lorincz, C.; Dezseri, E.; Szarvady, B.; Fekete, G.; Dobo, G., Hung. Teljes HU 24,313 ; (1983) *Chem. Abstr.* **1983**, *99*, 54048j.
91. Paschal, G. C.; Thompson, G. L., U.S. Patent 4,210,583 ; (1981) *Chem. Abstr.* **1980**, *94*, 15949f.
92. Mangeney, P.; Andriamialisoa, R. Z.; Langlois, N.; Langlois, Y.; Potier, P., *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 3765-3768.
93. Mangeney, P.; Andriamialisoa, R. Z.; Lallemand, J. Y.; Langlois, N.; Langlois, Y.; Potier, P., *Tetrahedron* **1979**, *35*, 2175-2179.
94. Andriamialisoa, R. Z.; Langlois, N.; Langlois, Y.; Potier, P., *Tetrahedron* **1980**, *36*, 3053-3060.

95. Jacquesy, J. C.; Fahy, J.; Berrier, C.; Bigg, D.; Jouannetaud, M. P.; Zunino, F.; Kruczynski, A.; Kiss, R., *PCT Int. Appl.* FR94/000898.
96. Fahy, J.; Duflos, A.; Ribet, J. P.; Jacquesy, J. C.; Berrier, C.; Jouannetaud, M. P.; Zunino, F., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8576-8577.
97. Hill, B. T., *Curr. Pharm. Design* **2001**, *7*, 1199-1212.
98. Duflos, A.; Kruczynski, A.; Barret, J.-M., *Curr. Med. Chem. - Anti-Cancer Agents* **2002**, *2*, 55-70.
99. Hill, B. T.; Fiebig, H. H.; Waud, W. R.; Poupon, M. F.; Colpaert, F.; Kruczynski, A., *Eur J Cancer* **1999**, *35*, 512-520.
100. Site internet de la Haute Autorité de Santé, www.has-sante.fr/
101. Site internet de l'agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, www.afssaps.fr/
102. Kruczynski, A.; Poli, M.; Dossi, R.; Chazottes, E.; Berrichon, G.; Ricome, C.; Giavazzi, R.; Hill, B. T.; Taraboletti, G., *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* **2006**, *42*, 2821-2832.
103. Holwell, S. E.; Hill, B. T.; Bibby, M. C., *Br. J. Cancer* **2001**, *84*, 290-295.

CHAPITRE II

VERS LA SYNTHÈSE D'ALCALOÏDES DIMÈRES FLUORÉS DE *VINCA*

A – La synthèse industrielle de la Vinflunine:

A.1 - Synthèse industrielle de la vinflunine :

Les laboratoires Pierre Fabre produisent la vinflunine **107** sur le site de Gaillac, dont la voie industrielle choisie passe par la fluoration de l'anhydrovinblastine **17** et non par celle de la vinorelbine **105** pour des raisons de rendements.¹ La synthèse actuelle de la vinflunine se déroule en trois étapes (Schéma 41).

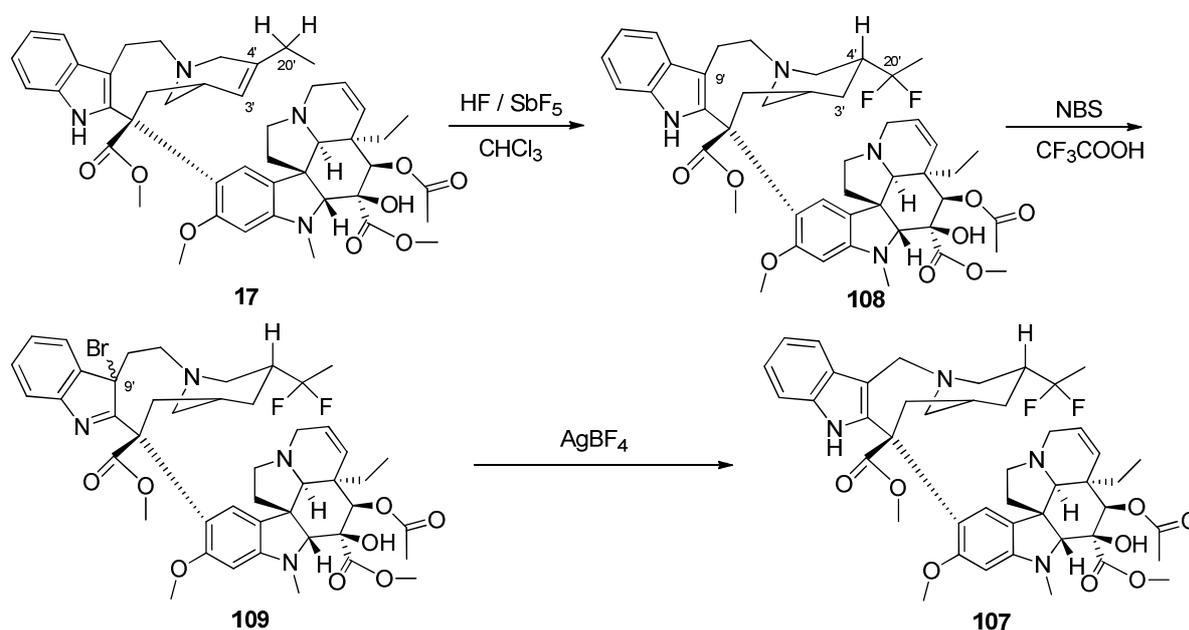


Schéma 41

La réaction de fluoration s'effectue en présence du couple HF/SbF_5 et de chloroforme utilisé comme source d'électrophile. Le pont éthylène du fragment Nord est ensuite contracté en deux étapes en passant par la 9'-bromoindolénine **109** qui va se fragmenter en présence de tétrafluoroborate d'argent pour aboutir à la vinflunine **107**.

Lors de la première réaction de cette synthèse, deux atomes de fluor sont introduits régiosélectivement sur le fragment Nord en position $\text{C}_{20'}$ et la double liaison $\text{C}_3'-\text{C}_4'$ est réduite de façon concomitante. Bien que cette réaction de *gem*-fluoruration soit très efficace, cette dernière présente un certain nombre de contraintes qu'il est difficile de prendre en compte à l'échelle industrielle.

La toxicité et le caractère extrêmement corrosif de l'acide fluorhydrique impliquent l'utilisation de matériel et de réacteurs spécifiques ainsi que des moyens de protections

efficaces pour les opérateurs. En outre, le couple HF/SbF₅ constitue un milieu réactionnel excessivement drastique qui entraîne la dégradation non négligeable du dimère engagé. Or, l'AVLB **17** est également le précurseur direct de la vinorelbine (commercialisée sous le nom de Navelbine[®]), faisant de ce dimère un intermédiaire à forte valeur ajoutée.

Ces différentes raisons nous ont amenés à nous intéresser à une alternative au procédé utilisé pour la synthèse industrielle de la vinflunine par les laboratoires Pierre Fabre.

A.2 - Alternative synthétique de la vinflunine

Dans le cadre de travaux antérieurs du laboratoire portant sur une alternative à la synthèse de la vinflunine, deux constats concernant l'étape de fluoration ont été posés :

- Cette réaction affecte uniquement le fragment Nord de l'anhydrovinblastine **17**.
- Les alcaloïdes *bis*-indoliques sont synthétisés en passant par une réaction de couplage biomimétique entre la catharanthine **9** (précurseur du fragment Nord) et la vindoline (fragment Sud).

Ces deux observations nous ont conduit à imaginer que le couplage entre la vindoline et un analogue de la catharanthine préalablement difluorée, la 20,20-difluorocatharanthine **9** pourrait conduire à la 20',20'-difluoroanhydrovinblastine. Ce dimère, après une hydrogénation sélective aboutirait directement à **108** et permettrait de nous affranchir de l'étape de fluoration en milieu superacide. (Schéma 42).

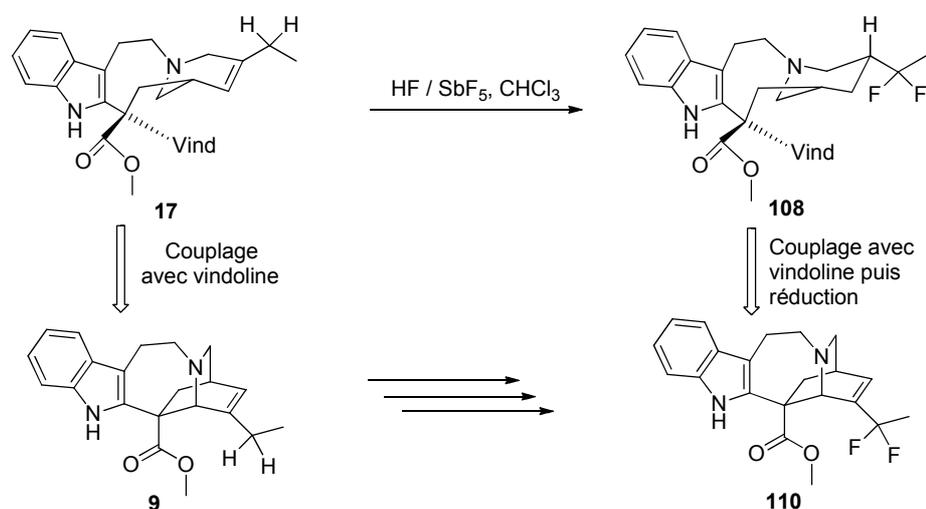
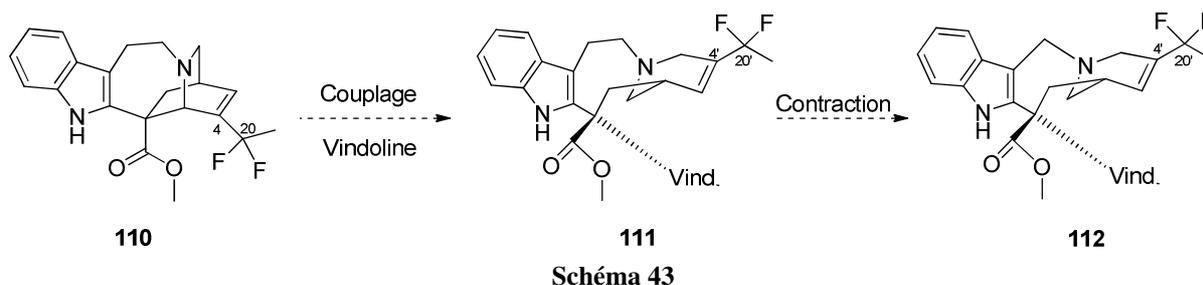


Schéma 42

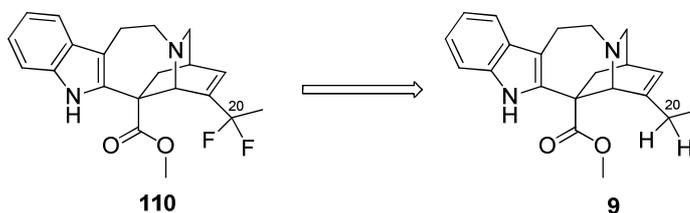
En outre, cette stratégie nous donnerait accès à l'analogue vrai et difluoré **112** de la vinorelbine **105** après contraction du pont du fragment Nord du dimère **111**. A notre connaissance, cet analogue n'a pas encore été synthétisé, et ne peut pas être obtenu par fluoruration en milieu superacide, étant donné que l'insaturation C₃'-C₄' est réduite lors de cette étape (Schéma 43).



B – Couplage de la 20,20-difluorocatharanthine avec la vindoline

B.1 - Synthèse de la 20,20-difluorocatharanthine

Dans le cadre d'une thèse précédente en collaboration avec les laboratoires Pierre Fabre, Emerson Giovanelli s'est intéressé à l'hémisynthèse de la 20,20-difluorocatharanthine **110** à partir de la catharanthine **9** (Schéma 44).² Cette synthèse s'appuie sur une activation de la position C₂₀ par oxydation allylique permettant l'incorporation des deux atomes de fluor par une réaction de fluoruration nucléophile.

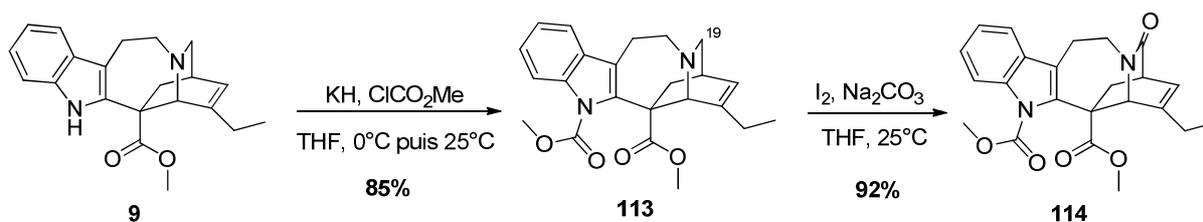


B.1.a - Protection des fonctions indole et amine tertiaire :

La catharanthine possède deux fonctions azotées qui sont particulièrement sensibles aux oxydants ainsi qu'aux électrophiles. Cette réactivité intrinsèque de ces fonctions a été par exemple utilisée dans le passé, pour la formation du N-oxyde sur l'amine tertiaire lors du

couplage de Polonovski-Potier ou encore pour la synthèse d'haloindolénines à partir de l'indole.^{3,4}

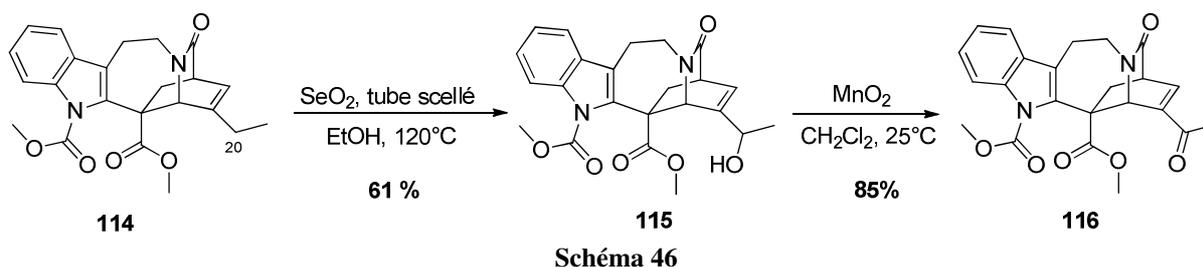
Etant donné que la stratégie de synthèse de **110** repose sur une activation de la position C₂₀ par oxydation, il a été indispensable de protéger les fonctions azotées. Ces protections ont été réalisés en s'inspirant de travaux effectués par Kutney sur la synthèse de dérivés oxygénés de la catharanthine (Schéma 45).^{5,6}



La nucléophilie de l'indole (position C₉) est masquée en protégeant ce dernier sous forme de carbamate de méthyle **113**. La déprotonation à l'aide d'hydrure de potassium est nécessaire afin que l'addition puisse s'effectuer efficacement sur le chloroformiate de méthyle. La réactivité de l'azote tertiaire est quant à elle inhibée en masquant cette fonction sous la forme du lactame **114**. Celui-ci est formé régiosélectivement sur la position C₁₉ en faisant réagir du diiode en milieu alcalin. Les réactions de protection conduisent à la catharanthine diprotégée **114** avec de très bons rendements. Les deux fonctions azotées étant correctement protégées, la position C₂₀ peut alors être sélectivement oxydée.

B.1.b - Introduction des deux atomes de fluor sur la position C₂₀

L'introduction des deux atomes de fluor nécessite l'oxydation allylique de la position C₂₀. (Schéma 46). La réaction d'oxydation a été réalisée sous pression à l'aide de dioxyde de sélénium dans l'éthanol.⁷ L'alcool allylique **115** a été isolé sous la forme d'un seul diastéréoisomère avec un rendement de 61%.^{8,9}



L'oxydation de **115** en énone s'est opérée dans des conditions douces en ayant recours au dioxyde de manganèse.¹⁰ Ce réactif oxyde facilement les alcools allyliques et conduit proprement au composé **116**. La dernière étape de fonctionnalisation a consisté à introduire les deux atomes de fluor par une réaction de fluoration nucléophile en présence de déoxofluorTM (Schéma 47).^{11, 12}

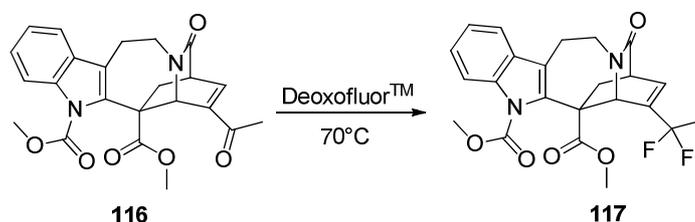


Schéma 47

Les premiers essais de fluoration de l'énone ont été effectués en présence d'un agent de fluoration nucléophile classique, le DAST. Cependant, les rendements de conversion plafonnaient à 25%, à cause d'une probable décomposition thermique du réactif de fluoration.¹³ L'utilisation du déoxofluorTM, plus stable thermiquement, a permis de fluorer plus efficacement l'énone **116** pour conduire au produit *gem*-difluoré **117** avec une conversion complète de **116**. Cependant, l'excès de réactif fluoré rend difficile l'isolement de **117** qui est engagé dans l'étape suivante après filtration sur silice. A ce stade de la synthèse, il ne reste plus qu'à déprotéger **117** afin d'obtenir la 20,20-difluorocatharanthine **110**.

B.1.c - Déprotections des fonctions azotées

Les deux fonctions azotées sont déprotégées séquentiellement (Schéma 48). La partie indolique de **117** est régénérée proprement par méthanolyse basique, en présence d'un excès de carbonate de potassium.¹⁴ Le rendement global de l'étape de fluoration et de cette étape de déprotection est de 43 % à partir de **116**.

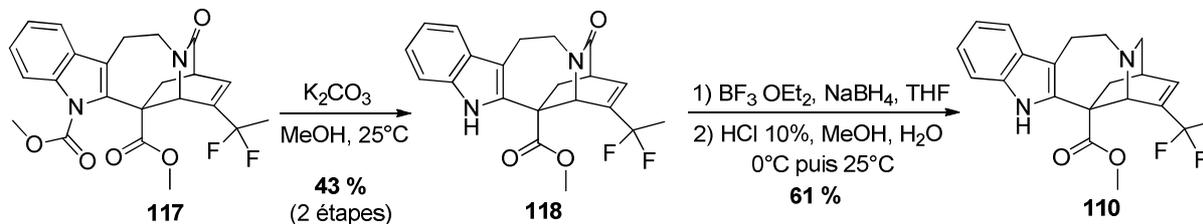


Schéma 48

Les conditions de réduction du lactame **118** ont été choisies de façon à éviter la réduction simultanée de l'ester en position C₁₈. La réduction a été effectuée en utilisant le

système $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2 / \text{NaBH}_4$, reprenant ainsi des conditions développées en premier lieu par Szantay.¹⁵ Cette dernière étape a abouti à la synthèse de la 20,20-difluorocatharanthine **110** avec un rendement de 61 %.

La voie de synthèse de la 20,20-difluorocatharanthine **110** a été réalisée efficacement en sept étapes à partir de la catharanthine avec un rendement global de 10 %, permettant la synthèse du composé fluoré à l'échelle de plusieurs grammes.

B.2 - Couplage de la 20, 20-difluorocatharanthine avec la vindoline

La synthèse de la 20,20-difluorocatharanthine **110** donne accès à l'analogue vrai *gem*-difluoré de la catharanthine **9**. Des essais de couplages biomimétiques entre **110** et la vindoline ont alors été effectués par Emerson Giovanelli pour accéder à l'alcoïde dimérique et difluoré **111** (Schéma 49).

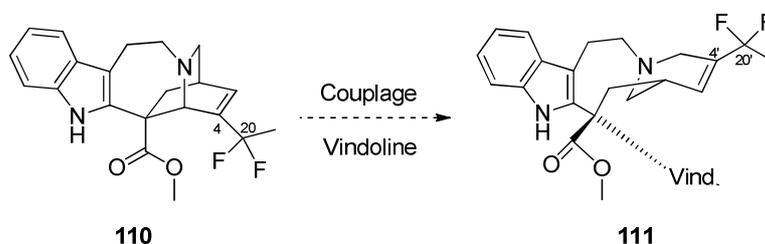


Schéma 49

Les tests préliminaires de couplage réalisés par la méthode de Polonovski-Potier ont montré que ces conditions réactionnelles n'étaient pas opérantes sur **110**.¹⁶ Les essais de couplage entre la 20,20-difluorocatharanthine et la vindoline ont alors été effectués dans les conditions de couplage ferrique. L'utilisation de fer (III) en milieu aqueux¹⁷ a permis d'obtenir deux produits majoritaires **119a** et **119b** qui résultent d'un couplage entre **110** et la vindoline. Les structures des produits de couplage sont dépourvues de fluor qui ont disparu au profit de la formation d'une cétone (Schéma 50).

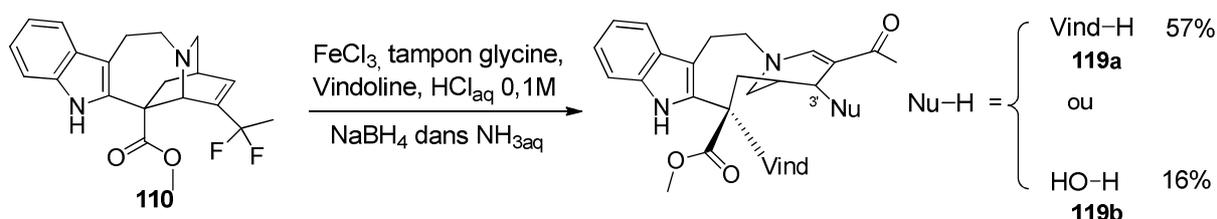
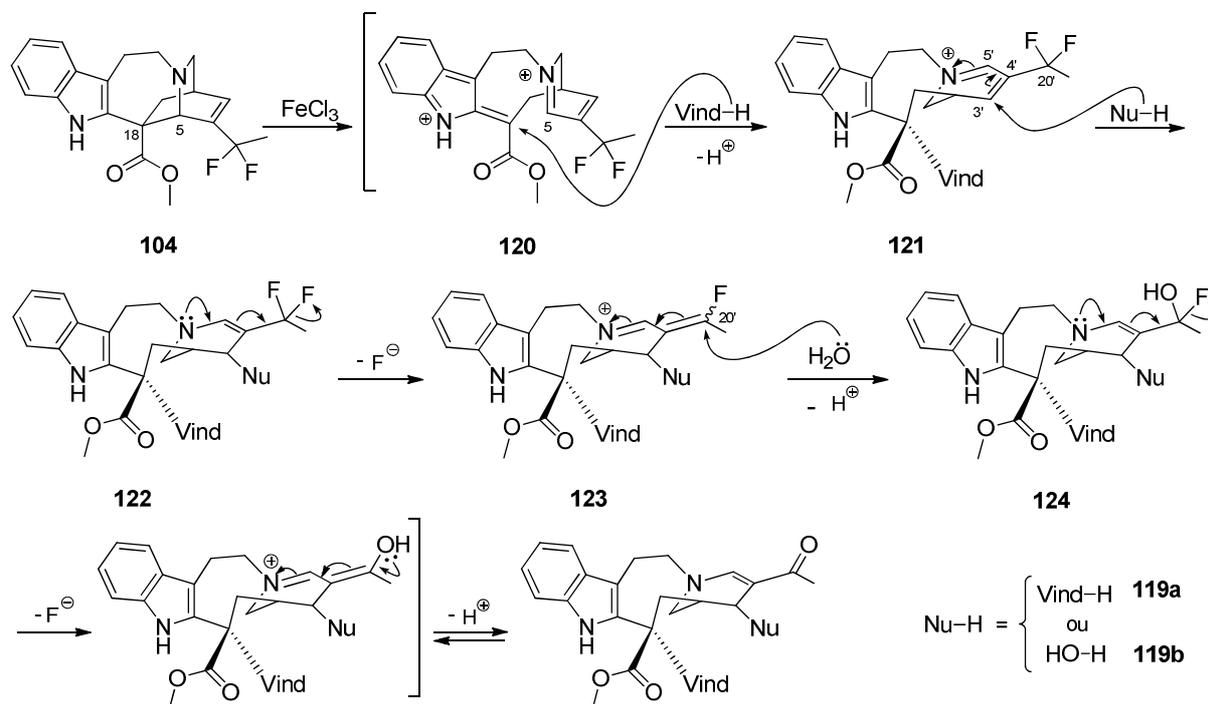


Schéma 50

Le produit **119a** est un trimère résultant de l'addition d'une molécule de vindoline sur la position C_3 . Le composé **119b** est un dimère possédant une fonction alcool en C_3 . Ce

résultat inattendu a été rationalisé par la réactivité intrinsèque de l'intermédiaire **121** formé au cours du couplage (Schéma 51).



Après fragmentation de la liaison C₅-C₁₈, une molécule de vindoline peut venir s'additionner sur la position C₁₈ de la catharanthine fragmentée **120** pour former l'intermédiaire **121**. Cet iminium conjugué voit le caractère électrophile de sa position C_{3'} exalté par la présence des deux atomes de fluor en C_{20'}. Une molécule d'eau ou de vindoline peut effectuer une addition nucléophile 1,4 sur cette position, générant ainsi l'énamine **122**. L'effet donneur de l'azote entraîne par conjugaison avec la double liaison l'élimination d'un premier atome de fluor selon un mécanisme de type donneur-accepteur (ou *push-pull*), conduisant ainsi à la formation de l'iminium conjugué **123**. L'addition de Michael d'une molécule d'eau en position C_{20'} génère l'énamine **124**, qui peut reproduire la même séquence réactionnelle pour conduire à l'élimination du second atome de fluor et ainsi mener au trimère **119a** ou au dimère **119b** incorporant une cétone en position C_{20'}. Cette hypothèse mécanistique est confortée sur deux constats :

- Les conditions classiques pour la synthèse d'alcaloïdes dimériques par couplage ferrique nécessitent le traitement du milieu réactionnel par NaBH₄. Ce dernier permet la réduction de l'iminium analogue de **121** pour conduire à l'alcaloïde dimère **111** désiré. Or, la

réaction de couplage a conduit à la formation des deux produits **119a** et **119b**, même en l'absence de réducteur. Ce résultat conforte l'hypothèse de l'équilibre énamine / iminium.

- Huang *et al.* ont étudié le comportement d'énamines cycliques β -substituées par une chaîne perfluorée en milieu aqueux acide.¹⁸ Dans ces conditions réactionnelles, le substrat **125** subit la perte des deux atomes de fluor en position adjacente de l'insaturation au profit de la formation de l'énaminone **126** (Schéma 52).

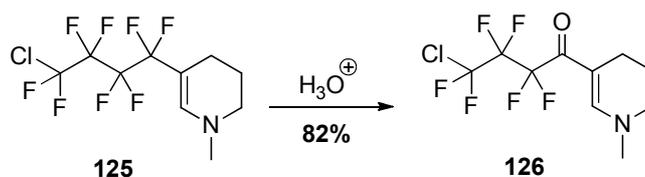


Schéma 52

L'élimination des deux atomes de fluor dans les produits d'arrivée **119a** et **119b** résulte d'une cascade de réactions dont l'origine serait le caractère électrophile de la position C₃. Un moyen envisagé pour s'affranchir de cette réactivité parasite a été la réduction de la liaison C₃-C₄. Cette dernière permettrait d'inhiber l'électrophilie de la position C₃, supprimant ainsi l'équilibre énamine/éniminium à l'origine des énamines **119a** et **119b**.

B.3 - Couplage de la 20,20-difluoro-3,4-dihydrocatharanthine avec la vindoline

La réduction de la double liaison C₃-C₄ de la 20,20-difluorocatharanthine a été réalisée par hydrogénation en utilisant le catalyseur d'Adams (PtO₂) réduit *in situ* en noir de platine (Schéma 53) pour conduire à la formation d'un unique diastéréoisomère **127**. La stéréochimie de la réduction peut s'expliquer par la coordination du platine sur l'azote tertiaire, conduisant à la réduction de l'oléfine par la face supérieure.¹⁹

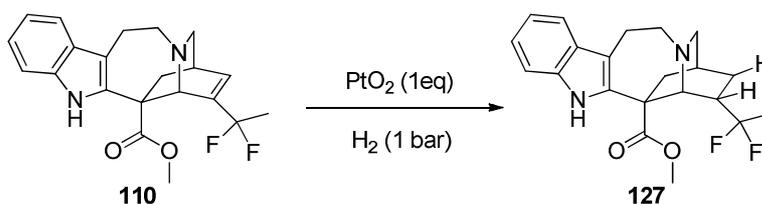


Schéma 53

La 20,20-difluoro-3,4-dihydrocatharanthine **127** a ensuite été engagée dans la réaction de couplage avec la vindoline dans les mêmes conditions réactionnelles que celles citées précédemment (Schéma 54). Après une heure, la réaction est arrêtée, les réactifs de départ étant tous consommés. Une réaction de couplage a bien eu lieu puisque que le produit majoritaire est le dimère **128**. Néanmoins, le fragment Nord de l'alcaloïde *bis*-indolique a de nouveau subi la perte des deux atomes de fluor au profit de la formation d'une cétone en position C₂₀.

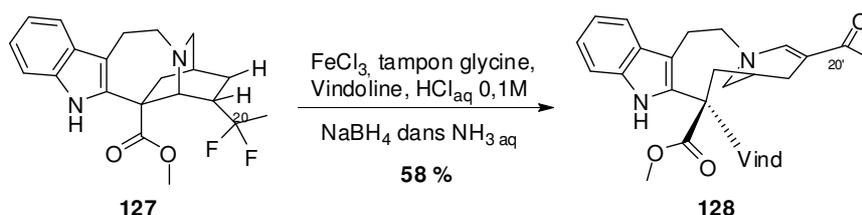


Schéma 54

L'obtention de l'énaminone **128** peut s'expliquer par analogie avec le couplage précédent entre la 20,20-difluorocatharanthine et la vindoline. La réaction, de nouveau, passe très vraisemblablement par un mécanisme donneur-accepteur (Schéma 55).

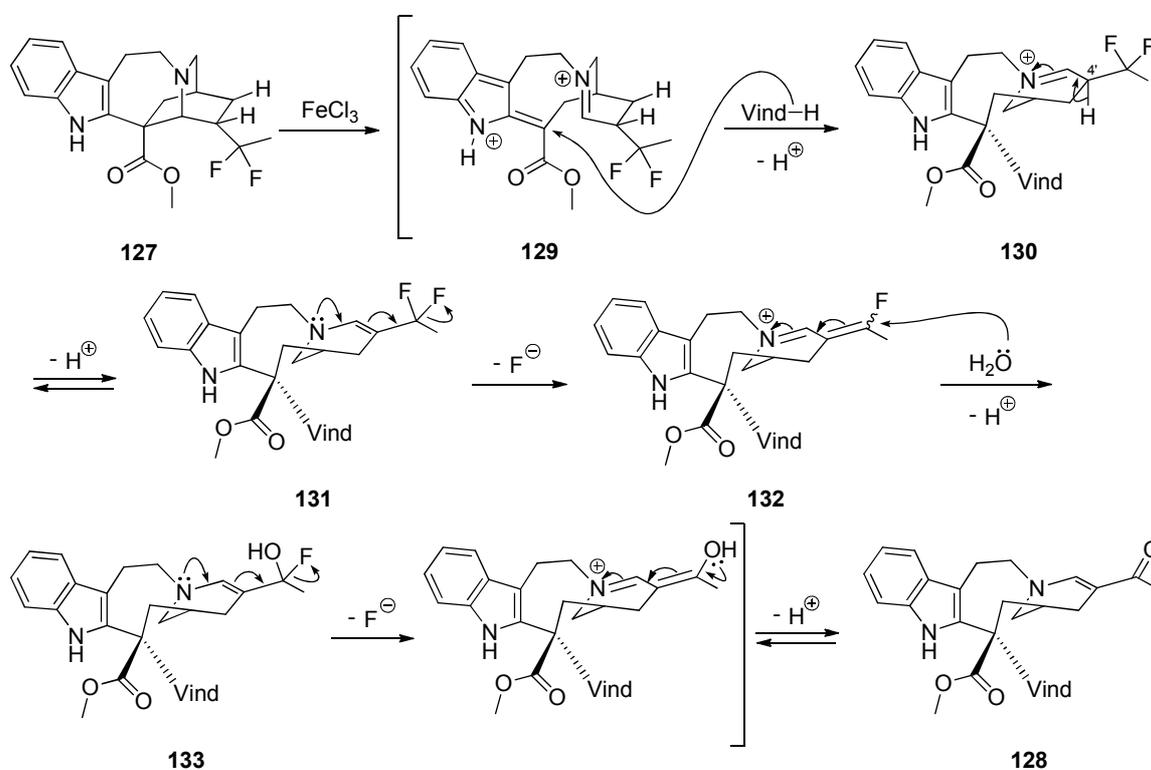


Schéma 55

Dans ce cas, les deux atomes de fluor exaltent le caractère labile du proton en position C₄ de l'intermédiaire **130** formé après couplage de la vindoline sur **129**. L'élimination du proton mène à l'énamine difluorée **131**. Par le même mécanisme *push-pull* que précédemment, l'addition d'une molécule d'eau en position C₂₀ sur l'eniminium **132** va régénérer l'énamine **133**. L'élimination séquentielle des deux atomes de fluor induit la formation de l'énone **128**.

B.4 - Conclusion

Malgré la réduction de la double liaison C₃-C₄, le produit de couplage **128** est de nouveau fonctionnalisé par une fonction cétone en position C₂₀, dont l'origine est due à l'hydrolyse des deux atomes de fluor. Les deux essais de couplage montrent que la position C₄ possède un rôle central lors de cette réaction : l'équilibre énamine / eniminium passe par cette position, qu'elle soit originellement hybridée sp² ou substituée par un proton labile, conduisant dans les deux cas à l'élimination des deux atomes de fluor au profit d'une énone.

Le blocage de cette position par une fonction non labile en utilisant un hétéroatome devrait inhiber la formation de l'énamine responsable de cette cascade de réactions parasites. Notre choix s'est ainsi porté sur l'atome d'oxygène et deux fonctions oxygénées ont retenu notre attention : la fonction époxyde impliquant la synthèse de l'oxirane **134** ainsi que la fonction alcool, incitant à la synthèse de l'alcool tertiaire **136** (Schéma 56).

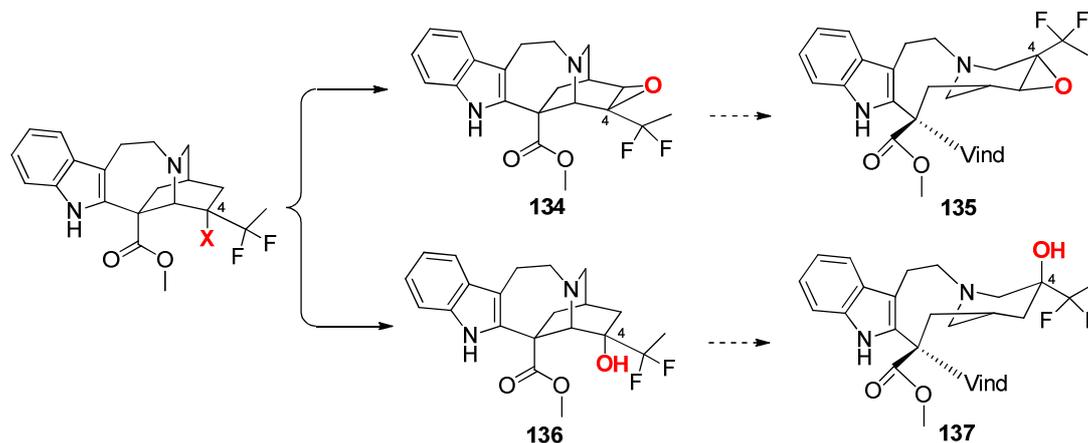


Schéma 56

Cette stratégie possède un double intérêt : outre le fait de stopper l'hydrolyse des deux atomes de fluor, la présence d'une fonction oxygénée en position C₄ nous donnerait accès, après couplage à la vindoline, aux analogues inédits *gem*-difluorés **135** et **137**, respectivement de la leurosine et de la vinblastine.

C – Synthèse d'analogues oxygénés sur la position C₄ de la 20,20-difluorocatharanthine :

Ce chapitre traitera des stratégies développées pour l'obtention de dérivés de la catharanthine *gem*-difluorés en position C₂₀ et oxygénés en position C₄ : la 3,4-époxy-20,20-difluorocatharanthine **134** ainsi que de la 20,20-difluoro-3,4-dihydro-4-hydroxycatharanthine **136** (Schéma 57).

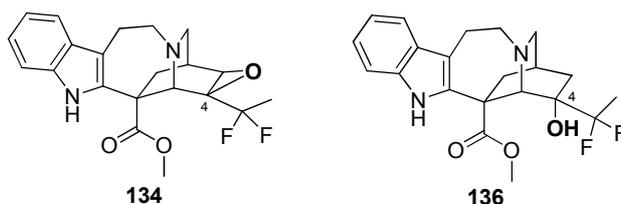


Schéma 57

C.1 - Blocage de la position C₄ par une fonction époxyde

C.1.a - Stratégie de synthèse

La 20,20-difluorocatharanthine **110**, dont la synthèse a été présentée précédemment, a été le substrat de départ de notre étude, l'objectif étant d'époxyder la double liaison C₃-C₄ sur le dérivé déjà fluoré (Schéma 58).

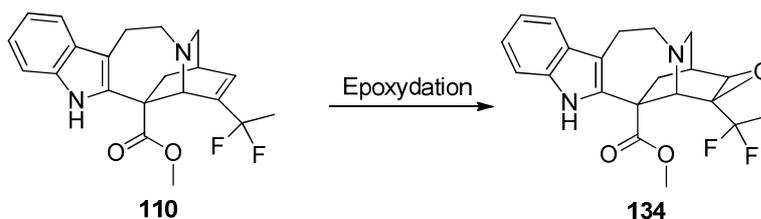


Schéma 58

Le choix des oxydants pour effectuer la réaction d'époxydation d'une double liaison dépend de la richesse électronique de cette dernière. En fonction de la nature des substituants sur l'oléfine, les oxydants ne seront pas les mêmes.

- Une double liaison substituée par des groupements électrodonneurs pourra subir une époxydation électrophile par addition d'un équivalent de « O⁺ » apporté par l'oxydant. Dans ce cas, les peracides tels que *m*-CPBA seront des réactifs de choix.²⁰

- Des substituants électroattracteurs (esters, chaînes fluorées, groupement nitro) appauvriront la densité électronique de l'oléfine qui pourra alors être époxydée par des oxydants tels que le diméthylidioxirane (DMDO),²¹ le couple H₂O₂ / NaOH,²² NaOCl,²³ tous donneurs d'oxygène nucléophile.

La double liaison C₃-C₄ est substituée par un groupement électroattracteur CF₂ en α. Ce dernier appauvrit davantage sa densité électronique, nous avons donc privilégié une réaction d'époxydation nucléophile sur **110**.

C.1.b - Epoxydation sur la 20,20-difluorocatharanthine

C.1.b.1 - Réaction avec le diméthylidioxirane (DMDO)

Le diméthylidioxirane est un réactif de choix pour effectuer de nombreuses réactions d'oxydation, en particulier la transformation d'oléfine en époxyde.²¹ Plusieurs raisons pratiques peuvent expliquer son utilisation :

- Le seul sous-produit d'oxydation est l'acétone, composé volatil et facile à éliminer.
- Les conditions réactionnelles sont très douces (pas de chauffage).
- Son caractère oxydant universel lui procure une haute réactivité permettant d'époxyder plus efficacement les oléfines que les peracides, lus sensibles aux effets électroniques des substituants

Le DMDO **138** n'est pas un composé commercialement disponible du fait de son instabilité thermique. Il peut être préparé facilement en faisant réagir l'acétone avec l'oxone dont l'hydrogénopersulfate de potassium est la substance active (Schéma 59) :²⁴

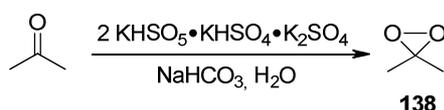


Schéma 59

La préparation fournit une solution diluée de DMDO **138** dans l'acétone (~ 0,08 M) qui peut se conserver quelques semaines à -30°C. Une titration par chromatographie en phase gazeuse à l'aide de thioanisole avant usage permet de doser la concentration en DMDO avant utilisation.²⁴

Après avoir préparé le DMDO, nous avons effectué des essais d'époxydation sur la 20,20-difluorocatharanthine. Nous avons ajouté la solution de l'oxydant **138** à 0°C à une solution de **110** dans l'acétone (Schéma 60). La réaction est instantanée et fournit quantitativement un produit unique, moins polaire que le produit de départ **110**, mais qui ne correspond pas à l'époxyde attendu. Une analyse approfondie des spectres RMN ^1H et ^{13}C montre l'apparition d'un proton vinylique fortement déblindé en position C₅ (7,07 ppm), indiquant la proximité spatiale de plusieurs groupements électroattracteurs dans son environnement (le proton vinylique en C₃ sur **110** résonne à 6,6 ppm). De plus, le proton en C₃ sur le produit final apparaît sous la forme d'un doublet dont le déplacement chimique (4,92 ppm) et la constante de couplage ($J = 10,9$ Hz) sont inhabituels par rapport à ceux détectés sur le squelette classique de la catharanthine. Nous avons conclu à partir de ces analyses à une modification structurale importante de la partie quinuclidine qui s'est réarrangée pour conduire au composé **140**.

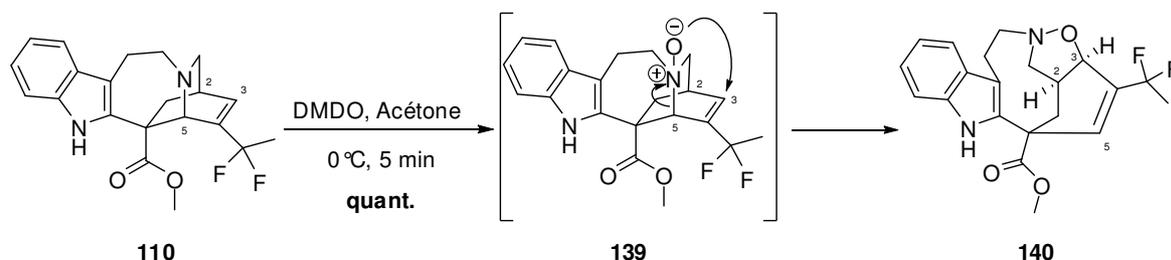


Schéma 60

Celui-ci résulte de l'oxydation initiale de l'amine tertiaire sous forme de *N*-oxyde **139**, qui se réarrange spontanément pour donner **140**. L'oxygène vient s'additionner sur la position C₃ provoquant la fragmentation de la liaison C₅-N. Pour éviter ce réarrangement, la température a été diminuée par la suite à -35°C mais le résultat est resté identique.

Ce réarrangement sigmatropique [2,3] a déjà décrit sur la catharanthine par Langlois qui a montré que le *N*-oxyde de catharanthine **61** se réarrangeait en **141** lorsque le milieu était chauffé à 40°C (Schéma 61).⁴

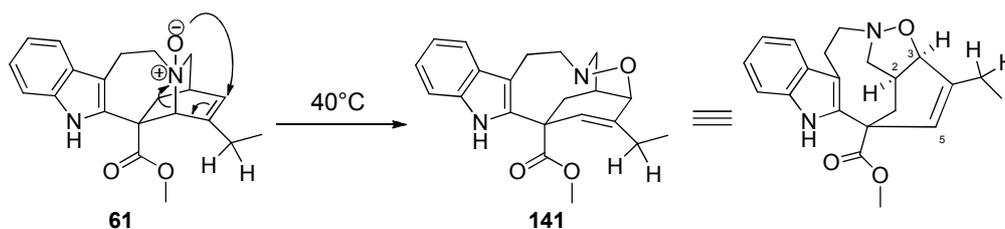


Schéma 61

Dans le cas de notre alcaloïde fluoré **110**, la présence du groupement CF₂ en α de la double liaison active le caractère électrophile de la position C₃ qui autorise le réarrangement spontané à température ambiante.

Ce premier résultat met en évidence la sensibilité de l'amine tertiaire basique qui s'oxyde spontanément pour former le N-oxyde qui subit un réarrangement sigmatropique [2,3]. Afin de nous affranchir de la basicité de l'amine, nous avons décidé de protéger cette dernière sous forme de sel d'ammonium **142** à l'aide de TFA ou d'APTS (Schéma 62).

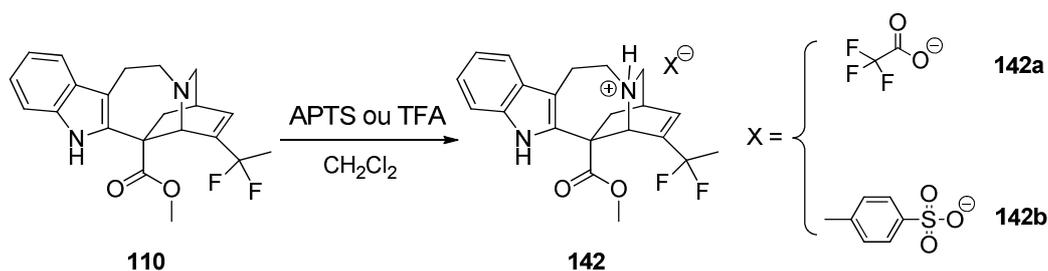


Schéma 62

Nous avons ensuite engagé parallèlement les deux sels **142a** et **142b** avec la solution de DMDO. Après quelques minutes, la réaction donne quantitativement un nouveau produit. L'étude du spectre RMN ¹H montre que l'environnement des protons du pont éthylénique a été le plus affecté par la réaction alors que le proton vinylique est toujours apparent. De plus, un signal à 189 ppm en RMN ¹³C traduit l'apparition d'une fonction carbonyle sur la molécule. Ces considérations spectrales nous ont permis de proposer la structure **143** décrite dans le schéma 63.

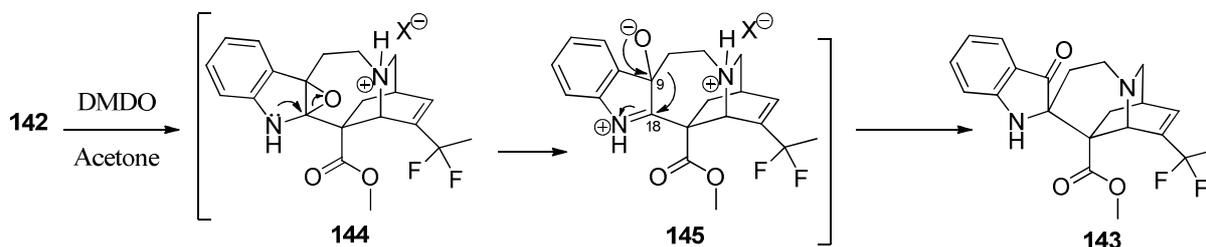


Schéma 63

De nouveau, la double liaison C₃-C₄ reste inerte dans ces conditions réactionnelles. Le motif indolique est oxydé pour conduire à un nouveau réarrangement. Ce dernier passe par l'oxydation de la double liaison C₉-C₁₇ du cycle indolique conduisant à l'époxyde **144**. L'ouverture de l'oxirane est assistée par l'azote indolique pour former l'intermédiaire **145**.

Celui-ci va subir une migration 1,2 (assistée par l'alcoolate) du pont éthylénique de la position C₉ vers la position C₁₈, conduisant ainsi à la formation du produit spiranique **143**.

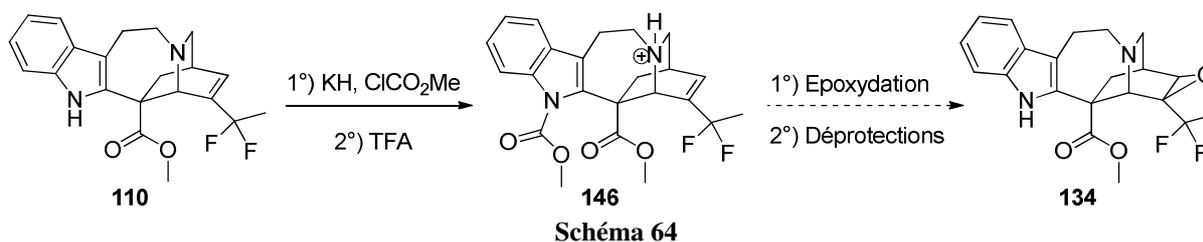
Nous avons voulu vérifier la non-réactivité de la double liaison de **143** en ajoutant 2,5 équivalents de DMDO au milieu réactionnel. Après 4 heures à -20°C puis à 0°C, la double liaison C₃-C₄ reste intacte. Nous avons par la suite eu recours à un analogue trifluoré du DMDO. La synthèse s'est faite *in situ* à partir de la 1,1,1-trifluoroacétone. Les résultats sur **143** ont été les mêmes, l'oléfine demeurant intacte en présence de cet oxydant.

Nous pouvons conclure après ces résultats que :

- Des trois sites oxydables, seules les deux fonctions azotées ont été sensibles au DMDO.
- L'ajout de plusieurs équivalents de DMDO n'a aucun effet sur la double liaison.

Bien que le DMDO soit un réactif de choix pour effectuer une réaction d'époxydation nucléophile, les résultats obtenus sur la 20,20-difluorocatharanthine ont montré les limites de son utilisation dans le but d'obtenir l'époxyde en position C₃-C₄. Nous avons donc reporté notre choix sur d'autres oxydants classiques employés sur des oléfines électroniquement appauvries : les hypohalogènes de sodium et le couple NaOH / H₂O₂.

Les essais pour oxyder l'oléfine ont été effectués sur la 20, 20-difluorocatharanthine diprotégée **146** (Schéma 64). La partie indolique a été masquée sous forme de carbamate méthylique et l'amine tertiaire sous forme d'ammonium.



C.1.b.2 - Réaction avec les hypohalogènes ou le couple H₂O₂/NaOH

L'époxydation directe de doubles liaisons substituées par des groupements fluorés est peu décrite dans la littérature. Cependant, Petrov et coll. ont montré que l'utilisation d'hypochlorite de sodium, en présence d'un catalyseur de transfert de phase (Aliquat 336 ou

l'hydrogénosulfate de tétrabutylammonium) pouvait époxyder dans des conditions douces des oléfines électroniquement appauvries par des chaînes perfluorées (Schéma 65).²⁵

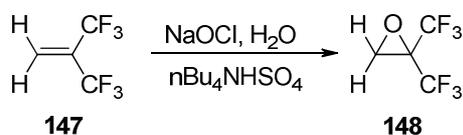


Schéma 65

Nous avons donc engagé la difluorocatharanthine **146** en présence d'ions ClO^- à -10°C . Les différentes tentatives d'époxydation n'ont pas permis la formation du produit attendu. Différents paramètres ont été testés (nombre d'équivalents d'ion hypochlorite, température, introduction au pousse-seringue d'une solution de **146** dans une solution concentrée en ClO^- , catalyseur de transfert de phase), mais dans la majorité des cas, le squelette du substrat reste intact.

Nous nous sommes alors intéressés parallèlement à l'utilisation de l'hypobromite de sodium NaOBr (préparé *in situ* en introduisant du dibrome sur une solution aqueuse de soude à 20%.²⁵) ainsi que du couple $\text{NaOH} / \text{H}_2\text{O}_2$, classiquement utilisé pour époxyder les énones.²² Les deux conditions expérimentales ont conduit au même résultat (Schéma 66).

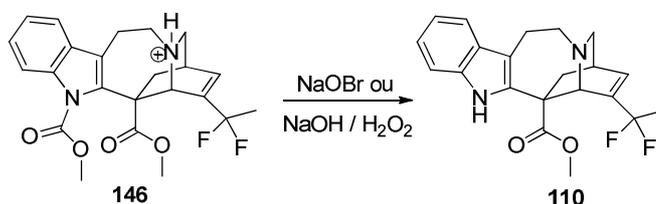


Schéma 66

Le produit attendu n'est toujours pas obtenu. Par contre, **146** est partiellement consommé pour conduire à la difluorocatharanthine **110** de départ par déprotection de l'indole en milieu alcalin.

C.1.b.3 - Réaction d'époxydation électrophile

Les conditions d'époxydation nucléophile n'ayant pas été opérantes sur la difluorocatharanthine **110**, nous avons décidé de tester des conditions opératoires basées sur une réaction d'époxydation électrophile. Le caractère électronique appauvri de l'insaturation

C₃-C₄ sur **110** nous a amenés à durcir les conditions expérimentales classiquement utilisées en présence de peracides.

Les travaux effectués par Kutney concernant la synthèse de dérivés oxygénés de la catharanthine nous ont servi de point de départ pour la synthèse de l'oxirane par époxydation électrophile avec *m*-CPBA et parallèlement avec une solution d'acide peracétique dans l'acide acétique.^{5, 6} Nous avons fait réagir la catharanthine difluorée et diprotégée **146** en présence d'un large excès de peracide (15 éq) dans le dichlorométhane. Le milieu a été laissé 3 jours à température ambiante puis 2 jours à 40°C mais l'oléfine n'a pas été époxydée après une semaine de réaction quel que soit le peracide testé.²⁶

C.1.b.4 - Bilan

Les différents essais d'époxydation effectués ont montré une non-réactivité de la double liaison C₃-C₄. Ces résultats nous ont donc poussés à développer une nouvelle stratégie de synthèse en introduisant la fonction oxirane plus en amont de la synthèse de **134**.

C.1.c - Nouvelle approche de la synthèse du difluoroépoxyde

L'époxydation de l'insaturation C₃-C₄ substituée en α par le groupement CF₂ n'a pas été opérante sur la difluorocatharanthine **110**. Afin d'obtenir le difluoroépoxyde **134**, nous avons imaginé l'époxydation sur un substrat possédant une double liaison plus conventionnellement époxydable, comme la fonction énone de **116** (Schéma 67).

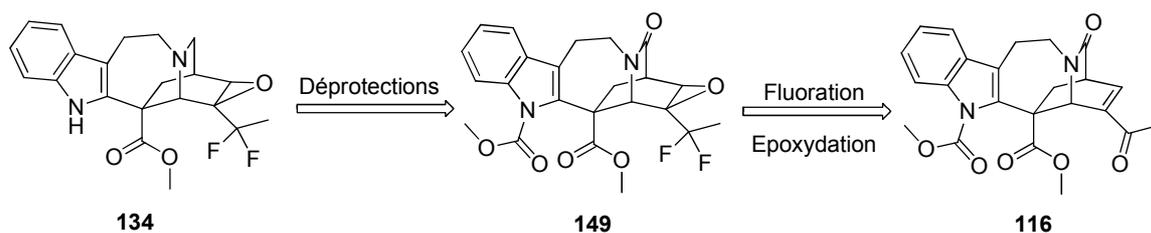


Schéma 67

L'oxydation de cette dernière conduirait à la formation d'une époxycétone. Celle-ci serait ensuite engagée dans une réaction de fluoration nucléophile pour mener au difluoroépoxyde diprotégé **149** qui, après les deux réactions de dépotection, donnerait accès à l'époxydifluorocatharanthine **134**. Cette stratégie consiste donc à intervertir les réactions de fluoration et d'époxydation afin de mener au produit souhaité **134**.

C.1.d.1 - Epoxydation de l'énone **116**

De nombreuses méthodes permettant l'époxydation d'énone ont été développées. Parmi les plus usités, nous pouvons citer le couple NaOH / H₂O₂. Cependant, nous avons préféré nous affranchir de ces conditions réactionnelles puisque nous avons vu qu'elles induisaient la déprotection de la partie indolique (cf. §C.1.b.2). Nous avons alors opté pour un réactif moins conventionnel : le perborate de sodium NaBO₃.²⁷

Nous avons introduit une solution aqueuse de NaBO₃ sur une solution de l'énone **116** dans le THF (Schéma 68). Après 1 heure de chauffage à 70°C, un contrôle par CCM nous montre la conversion totale de **116** en un produit plus polaire correspondant à l'époxyde **150**.

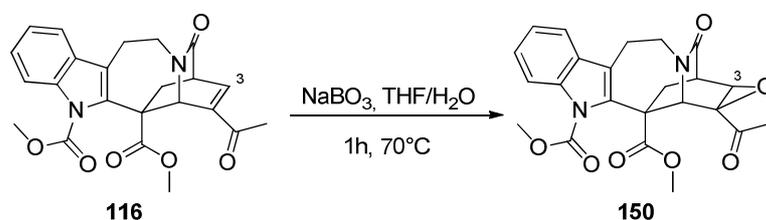


Schéma 68

Une analyse par RMN ¹H montre la disparition du proton vinylique et l'apparition d'un massif vers 4 ppm, correspondant au proton H₃ au pied de l'oxirane. La réaction ne génère pas de sous-produits de réaction, ce qui nous a permis d'engager **150** directement dans la réaction de difluoration.

C.1.d.2 - Réaction de fluoration

Nous nous sommes inspirés des conditions classiques de fluoration nucléophile pour fluorer le produit le céto-époxyde **150**. Les résultats sont présentés dans le tableau 4 : **essais de fluoration du céto-époxyde 150**

Agent de fluoration	Nombre d'équivalents	Température	Temps	Résultats
DAST	3	-78°C puis TA	16 h	Pas de réactivité
	6 (3+3)	-78°C puis TA	48 h	Dégradation partielle
Deoxofluor TM	solvant	TA puis 70°C	48 h	Dégradation totale
		35°C puis 50°C	72 h	Dégradation partielle

Tableau 4 : essais de fluoration du céto-époxyde **150**

Les conditions réactionnelles testées n'ont pas permis la difluoration nucléophile de l'époxydation **150**. Aucun produit de fluoration de la cétone n'a été détecté, ni par RMN ^1H (aucune apparition du triplet à grande constante de couplage caractéristique de protons adjacents au groupement CF_2), ni par spectrométrie de masse.

Le DAST semble inopérant sur l'époxydation après une nuit, mais dégrade partiellement **150** lorsqu'il est introduit en quantité plus importante (6 éq) et sur des temps de réaction plus longs (2 jours). Le déoxofluorTM a été introduit directement comme solvant. Il est plus stable thermiquement que le DAST, ce qui nous a permis de l'utiliser à 70°C .¹¹ Dans ce cas, le milieu se dégrade complètement. Nous avons testé des conditions intermédiaires (chauffage plus doux à 35°C puis à 50°C) sur des temps plus longs. Cependant, cela nous a amené à une dégradation partielle de **150**, sans aucune trace du composé difluoré souhaité.

C.I.e - Conclusion

La protection de la position C_4 par une fonction époxyde sur la 20,20-difluorocatharanthine n'a pas pu être mise en oeuvre malgré les différentes stratégies de synthèse mises en place résumées dans le tableau 5.

Stratégie	Conditions expérimentales	Résultats
Epoxydation nucléophile	DMDO	Oxydation des fonctions azotées, réarrangement du squelette.
Epoxydation nucléophile + protection des fonctions azotées.	DMDO DMDO trifluoré NaOCl	Aucune trace d'époxyde
	NaOBr ($\text{Br}_2 + \text{NaOH}$) $\text{H}_2\text{O}_2/\text{NaOH}$	Déprotection du carbamate indolique
Epoxydation électrophile + protection des fonctions azotées.	<i>m</i> CPBA, peracide acétique, large excès, chauffage une semaine.	Aucune trace d'époxyde
Alternative : époxydation puis fluoration.	Epoxydation : NaBO_3	Epoxyde
	Fluoration : DAST, Déoxofluor	Aucune trace de produit fluoré, dégradation du milieu

Tableau 5 : récapitulatif des tentatives d'époxydation

Le blocage de la position C_4 de la 20,20-difluorocatharanthine par une fonction époxyde conduisant à la synthèse de **134** n'a pas été opérant. Nous avons alors exploré la

synthèse d'un second analogue oxygéné, la 20,20-difluoro-3,4-dihydro-4-hydroxycatharantine **136**.

C.2 - Blocage de la position C₄ par une fonction alcool

C.2.a - Stratégie de synthèse

La nouvelle cible à synthétiser est la 20,20-difluoro-3,4-dihydro-4-hydroxycatharantine **136** dont la position C₄ est fonctionnalisée par une fonction hydroxyle. La stratégie de synthèse envisagée pour l'obtention de l'alcool **136** est résumée dans le Schéma 69.

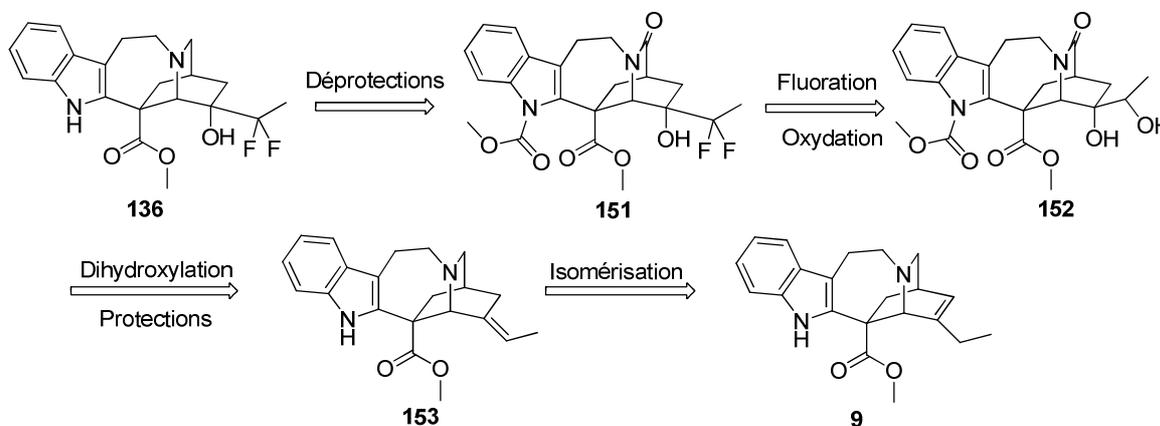


Schéma 69

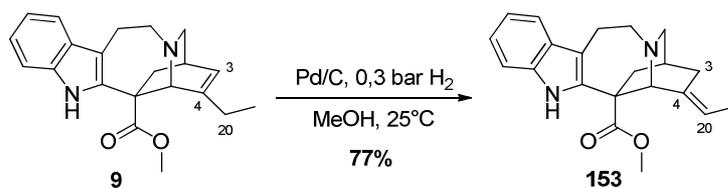
Le produit final **136** serait obtenu après déprotection du composé **151**. Une étape de fluoration nucléophile permettrait d'introduire le motif *gem*-difluoré à partir du cétoalcool résultant de l'oxydation du diol **152**. Ce dernier serait synthétisé après une réaction de dihydroxylation sur le squelette préalablement diprotégé de la catharantine isomérisée **153**. Cette voie de synthèse serait possible après une isomérisation régiocontrôlée et préalable de la double liaison C₃-C₄ de la catharantine **9**.

C.2.b - Synthèse de la 20,20-difluoro-3,4-dihydro-4-hydroxycatharantine

C.2.b.1 - Isomérisation de la double liaison C₃-C₄ de la catharantine

La réaction d'isomérisation de la catharantine **9** a été développée précédemment au laboratoire par Lionel Moisan. L'utilisation d'une quantité sous-stoechiométrique de palladium sur charbon préalablement activé sous atmosphère d'hydrogène dans le méthanol

donne accès rapidement à la (4*E*)- $\Delta^{4,20}$ -exocatharanthine qui sera renommée « isocatharanthine » par souci de simplification (Schéma 70).



La réaction se fait sous pression réduite d'hydrogène afin de minimiser la réaction compétitive d'hydrogénation de la double liaison. Une recristallisation à chaud dans le méthanol permet d'obtenir l'isocatharanthine **153** avec un rendement de 77 %. Cette étape peut s'effectuer sans protection préalable car aucune fonction de la molécule n'est affectée par l'hydrogénation. La configuration (*E*) de l'insaturation C₄-C₂₀ a été établie par analyse aux rayons X (Figure 6 : **Structure moléculaire de l'isocatharanthine 153. Seul l'atome d'hydrogène H₁₆ est représenté (sphère de diamètre arbitraire). Les ellipsoïdes thermiques correspondent au niveau de probabilité de 20%.**). La longueur de la liaison entre les carbones C₄ et C₂₀ est caractéristique d'une double liaison C-C (0,135 nm).

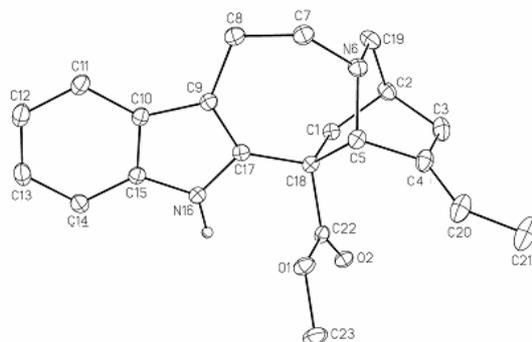


Figure 6 : Structure moléculaire de l'isocatharanthine 153. Seul l'atome d'hydrogène H₁₆ est représenté (sphère de diamètre arbitraire). Les ellipsoïdes thermiques correspondent au niveau de probabilité de 20%.

Lors de l'isomérisation, le palladium se coordine sur l'azote tertiaire.¹⁹ Deux types de mécanismes sont envisageables pour expliquer cette réaction d'isomérisation : un mécanisme de type « hydrure » (apparenté à un mécanisme de type Heck) et un mécanisme de type « π -allyle » (apparenté à un mécanisme de type Tsuji-Trost).

Le premier mécanisme fait intervenir l'hydrogène préalablement adsorbé sur le métal, alors que le second ne nécessite pas la présence d'hydrogène (le palladium formerait alors un complexe π -allylique avec les trois atomes C₃, C₄ et C₂₀ en arrachant l'hydrogène de C₂₀). Or,

des tests d'isomérisation ont montré que l'hydrogène était indispensable pour la formation de l'isocatharanthine.

Ce résultat laisse donc présager que la réaction passe par un mécanisme de type « hydruure » par addition de H^- en C_3 conduisant à la création d'une nouvelle liaison C_4-Pd . La double liaison C_4-C_{20} serait ensuite générée par l'attaque du palladium sur H_{20} pour reformer $Pd-H$ (Schéma 71).

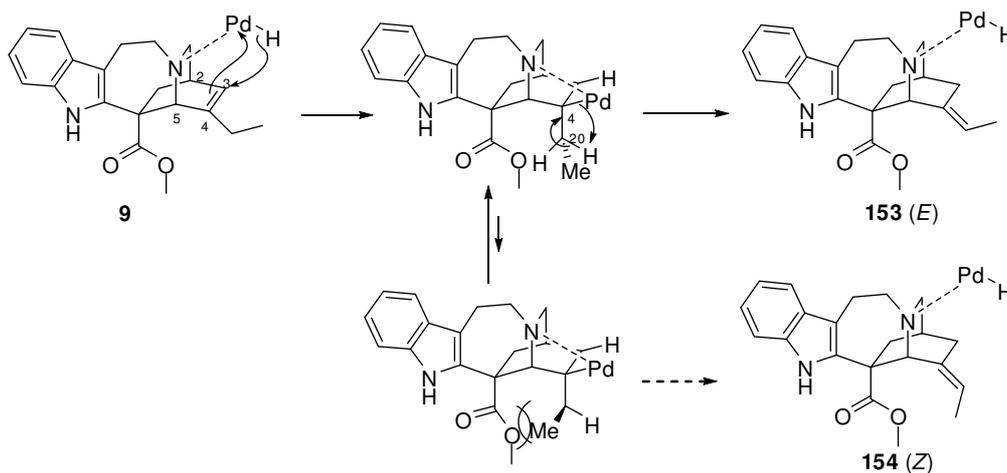


Schéma 71

Une minimisation des interactions entre les groupements méthyle en position C_{21} et ester en C_{18} lors de la formation de la double liaison *exocyclique* permet de rationaliser la stéréochimie (*E*) du produit final **153** par une *cis*- β -élimination au détriment du produit **154** (*Z*). La régiosélectivité de la réaction proviendrait du caractère intrinsèque de l'isoquinuclidine. En effet, l'isomérisation de la double liaison vers les positions C_2-C_3 ou C_4-C_5 n'est pas envisageable pour les contraintes stériques que cela entraînerait dans le bicyclic. Au contraire, l'isomérisation *exocyclique* engendrerait un abaissement des tensions de cycles ($\Delta E = -1,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$, estimation *Chem3D Ultra*) et donc une stabilisation thermodynamique du produit final.

C.2.b.2 - Protections de l'isocatharanthine

Etant donné que notre stratégie de synthèse pour l'obtention du composé **136** s'appuie sur plusieurs réactions d'oxydations (dihydroxylation, oxydation de l'alcool secondaire), il est indispensable de protéger préalablement les deux fonctions azotées pour éviter de dégrader le squelette de la molécule. Les protections effectuées précédemment sur la catharanthine **9** ont été reproduites sur **153** pour conduire au composé protégé **155** sous forme du carbamate

puis sous forme du lactame **156** avec des rendements similaires à ceux obtenus sur la catharanthine (Schéma 72).

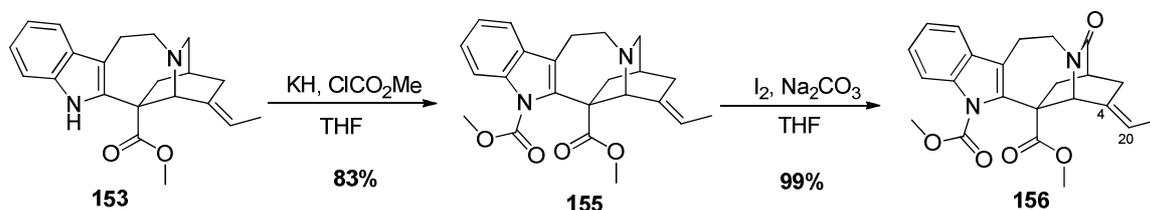


Schéma 72

A ce stade de la synthèse, notre molécule isomérisée et doublement protégée **156** peut être engagée, sans risque d'être altérée, dans des réactions d'aménagement fonctionnel des positions C₄ et C₂₀.

C.2.b.3 - Réaction de dihydroxylation de l'oléfine

Nous avons fonctionnalisé les positions C₄ et C₂₀ du composé **156** en effectuant une réaction de dihydroxylation d'Upjohn sur l'insaturation exocyclique.^{28, 29} Les conditions réactionnelles développées par VanRheenen *et al.* ont été appliquées sur **156** (Schéma 73).

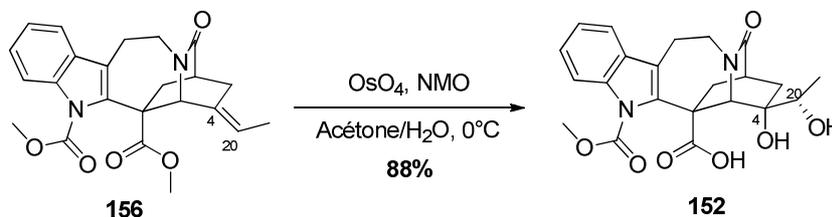


Schéma 73

L'oxydant de la réaction est le tétraoxyde d'osmium OsO₄. Cependant, il s'agit d'un réactif assez coûteux, très volatil et qui présente un caractère extrêmement toxique. Ces raisons nous ont poussé à l'utiliser en quantité sous-stœchiométrique en présence d'un co-oxydant, le *N*-Oxyde de *N*-Méthylmorpholine ou NMO dont le rôle est de régénérer le tétraoxyde d'osmium *in situ*. Afin de minimiser les risques lors de sa manipulation, OsO₄ est introduit dans le milieu en solution dans le *t*-BuOH.

A l'issue de la réaction, le diol **152** est obtenu sous la forme d'un seul diastéréoisomère où les deux groupements hydroxyles sont introduits en *syn* du même côté de

la double liaison avec un rendement de 88 %. La configuration absolue des deux centres oxygénés n'a pas été déterminée à ce stade, mais lors d'une étape ultérieure de la synthèse. Cependant, la stéréosélectivité de cette réaction peut être expliquée *a posteriori* par le mécanisme présenté dans le schéma 74.

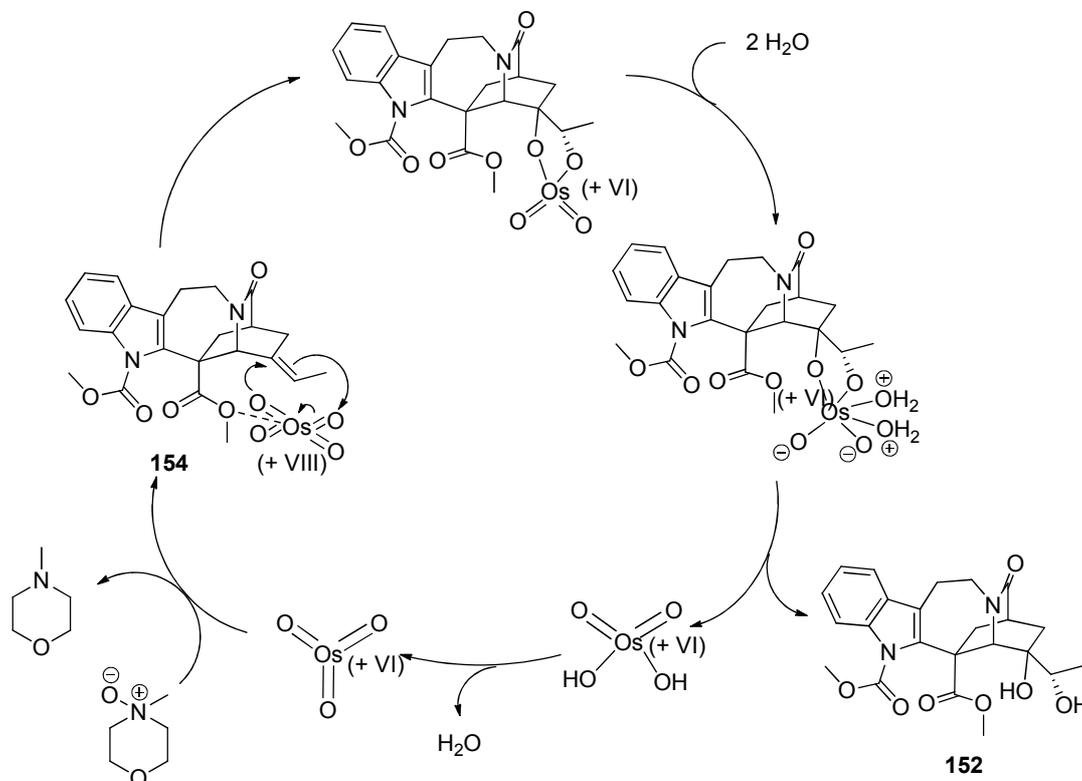


Schéma 74

Lors de la première étape, la double liaison va être coordonnée par le tétraoxyde d'osmium. L'approche d' OsO_4 par la face α et conduisant à l'orientation axiale de la fonction alcool sur la position C_4 reste difficile à comprendre car cette face semble être la plus encombrée. Néanmoins, une coordination de l'osmium par l'ester pourrait expliquer ce résultat.

Par la suite, la coordination de deux molécules d'eau sur le métal permet la décomplexation de H_2OsO_4 du dioléfinique **152**. H_2OsO_4 relargue une molécule d'eau pour former OsO_3 qui va être oxydé par le NMO présent dans le milieu.

Cette étape nous a permis de remplir un double objectif. D'une part, la fonction hydroxyle attendue en C_4 a été introduite sur le squelette de l'isocatharanthine. D'autre part, la position C_{20} a été fonctionnalisée par un groupement alcool secondaire qui va servir de précurseur afin d'introduire ultérieurement les deux atomes de fluor.

C.2.b.4 - Oxydation de la position C_{20} en cétone

Lors de cette étape, nous nous sommes intéressés à l'oxydation du diol **152** en cétoalcool **157**. Les conditions usuelles pour oxyder les diols vicinaux n'ont pas fonctionné sur notre substrat. Ce dernier reste inerte en utilisant notamment les conditions de Fétizon (utilisation du couple $\text{Ag}_2\text{CO}_3/\text{célite}^{\text{®}}$)³⁰ ou le réactif de Dess-Martin (iode hypervalent).³¹ Le système TPAP/NMO en présence de tamis moléculaire 4Å a été testé³² et conduit à la formation de **157** avec un rendement maximum de 55 %. Toutefois, les résultats sont peu reproductibles dans ces conditions et la cétone **158** (produit de coupure oxydante) est parfois obtenue majoritairement (Schéma 75).

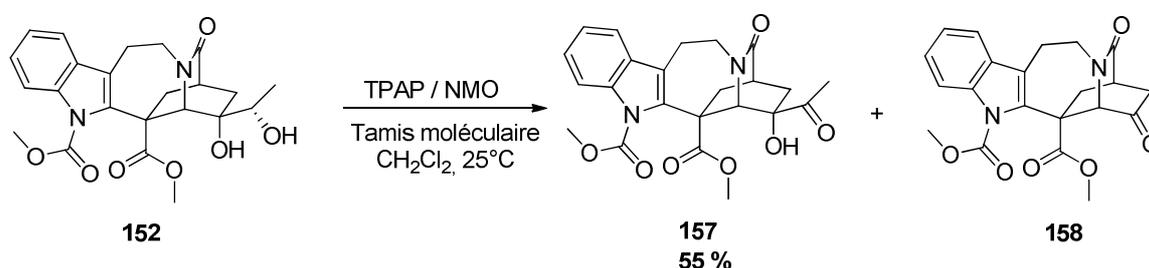


Schéma 75

Nous nous sommes alors tournés vers l'oxydation de Swern^{33, 34} qui nous a donné accès à **157** avec des rendements plus modestes de l'ordre de 40%. Cependant, cette réaction ne génère pas le sous-produit **158**, et le brut réactionnel est composé majoritairement de **157** et du diol **152** qui n'a pas réagi. Le diol peut ainsi de nouveau être engagé dans une réaction d'oxydation après purification sur gel de silice, sans perte nette de produit.

C.2.b.5 - Fluoration de la position C₂₀

Nous avons ensuite cherché à introduire les deux atomes de fluor en position C₂₀ sur le cétoalcool **157**. Nous avons, pour cela, réalisé une fluoration nucléophile au DAST dans le dichlorométhane dans des conditions extrêmement douces (Schéma 76).

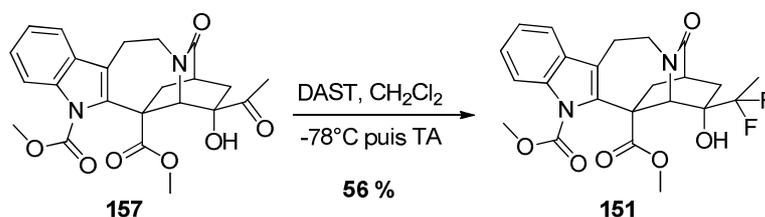


Schéma 76

La réaction de fluoration est assistée par l'alcool vicinal en C₄ (Schéma 77). Ce type d'activation a déjà été décrit par Caddick *et al.* lors de ses travaux sur la fluoration de cyclopentènone α -hydroxylée.³⁵

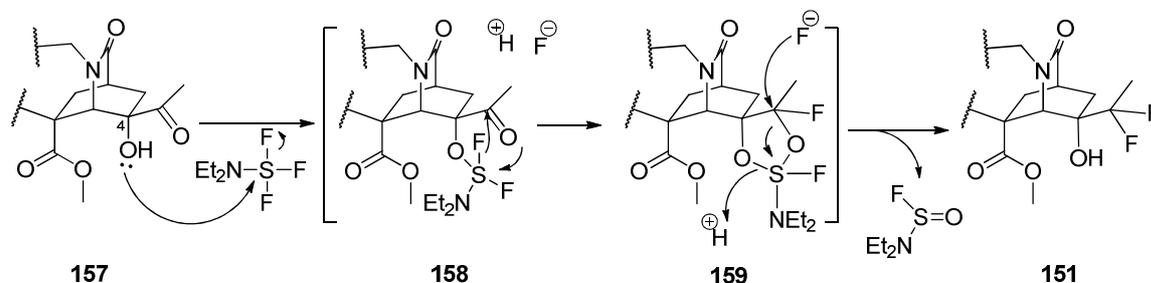


Schéma 77

La fonction hydroxyle vient s'additionner sur le DAST pour conduire à l'intermédiaire **158**, relarguant un ion fluorure et un proton. La proximité spatiale des atomes de fluor induite par cette addition facilite le premier transfert d'ion fluorure et entraîne la formation d'un cycle à cinq chaînons sur **159**. Enfin, un ion fluorure attaque la position C₂₀. Une molécule de Et₂NSOF est éliminée après reprotonation de l'alcool tertiaire en C₄ pour conduire au produit difluoré **151**.

La structure du difluoroalcool **151** a été déterminée par diffraction aux rayons X (Figure 7) qui révèle la configuration absolue (*S*) du centre C₄. Cette analyse confirme également que l'étape de dihydroxylation de l'isocatharanthine **153** s'est opérée par la face inférieure α .

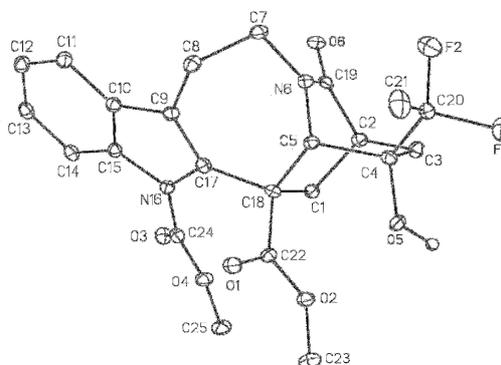


Figure 7 : structure moléculaire du difluoroalcool **151** (molécule de solvant exclue). Seul l'atome d'hydrogène lié à O5 est représenté (sphère de diamètre arbitraire). Les ellipsoïdes thermiques correspondent au niveau de probabilité de 20%.

Le produit *gem*-difluoré est obtenu après purification avec un rendement de 56% et nous observons également la formation de deux sous-produits **160** et **161** avec des rendements respectifs de 18 % et 10 % (Schéma 78).

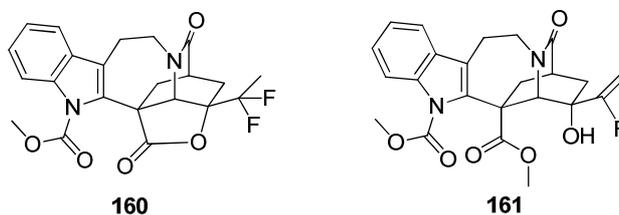


Schéma 78

La formation du composé **160** résulte d'une activation acide de la lactonisation induite par la libération de HF dans le milieu. Le sous-produit **161** provient de la déprotonation de la position C₂₁ par l'ion fluorure qui initie le clivage de la liaison C₂₀-O du cycle à cinq chaînons (Schéma 79).

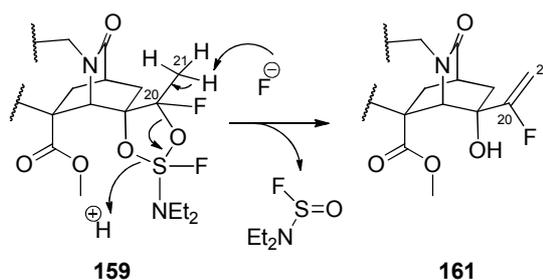


Schéma 79

Le mélange alcool difluoré **151** / alcool fluoroallylique **161** (6/1) n'a pas pu être séparé par chromatographie et a été engagé dans les étapes de déprotection.

C.2.b.6 - Réactions de déprotection sur le difluoroalcool

Les étapes de déprotection des fonctions indolique et lactame ont été effectuées dans les mêmes conditions expérimentales que celles utilisées pour la synthèse de la difluorocatharanthine **110**.

- **Réaction de méthanolyse basique :**

Le difluoroalcool **151** a été introduit dans les conditions de méthanolyse basique. Après une heure de réaction, l'alcool difluoré a totalement disparu. La réaction ne conduit

cependant pas au produit de déprotection souhaité mais à la lactone **160** et à l'hydroxyacide **162** (Schéma 80).

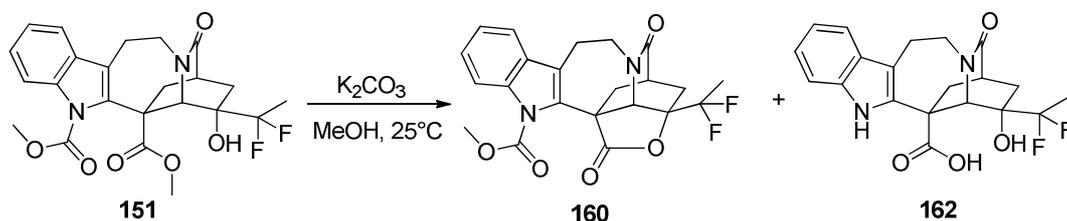


Schéma 80

L'acide **162** est difficilement manipulable (peu soluble dans les solvants organiques usuels) et a été obtenu en faible quantité. Sa formation a été déduite à partir de quatre observations :

- Le profil CCM montre l'apparition d'un produit extrêmement polaire.
- L'analyse du spectre RMN ¹H indique la disparition du singulet du carbamate, corroborée par le blindage des protons aromatiques et l'apparition d'un proton indolique.
- Le singulet de l'ester en C₁₈ a disparu.
- L'analyse par LC-MS confirme la masse de l'acide (pic moléculaire [M+H] = 391).

Le rôle éventuel de l'eau dans la réaction de saponification de l'ester a été écarté. En effet, une réaction effectuée en présence de méthanol anhydre et de carbonate de potassium également anhydre conduit toujours à l'acide **162**. L'hypothèse d'une ouverture de la lactone dans les conditions réactionnelles est également à écarter du fait de sa stabilité. En effet, la lactone avait déjà synthétisée en série non fluorée par Kutney qui avait décrit son ouverture extrêmement difficile, même en conditions drastiques (MeONa en large excès dans MeOH au reflux).³⁶

A la vue de ces résultats, nous avons privilégié d'autres conditions de déprotection de la fonction indolique.

- **Déprotection en présence de thiolate :**

La déprotection de système indolique a été décrite dans la littérature en présence de thiolate (PhSNa, MeSNa) dans le THF.³⁷ Nous avons donc testé ces conditions de

déprotection sur le difluoroalcool **151** qui conduisent en cinq minutes très proprement à la lactone **160**.

- **Déprotection de l'amine tertiaire :**

Les tests de déprotection de la partie indolique n'étant pas concluants, nous avons alors décidé d'inverser les deux étapes de déprotection, en commençant par la déprotection de la fonction lactame. Nous nous sommes donc placés dans les conditions réactionnelles évoquées précédemment (cf. § B.1.c) en utilisant le système $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2 / \text{NaBH}_4$ (Schéma 81).

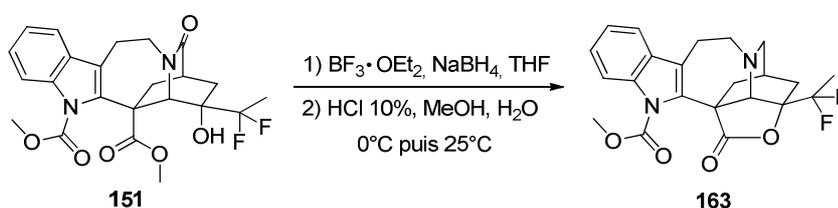


Schéma 81

La réaction de déprotection conduit à une faible fraction de la lactone déprotégée **163**. Cependant, les conditions de purification n'ont pas permis d'isoler **163**.

Ce dernier résultat montre de nouveau la présence inéluctable de la lactone au cours de la voie synthèse effectuée. La stéréochimie de l'alcool en position C_4 (configuration *R*) n'est pas étrangère à la formation instantanée de la lactone par catalyse acide ou basique. Nous avons tenté de valoriser ce sous-produit de réaction inattendu en engageant la lactone déprotégée **164** dans une réaction de couplage avec la vindoline pour conduire à un nouvel analogue dimérique difluoré **165** (Schéma 82).

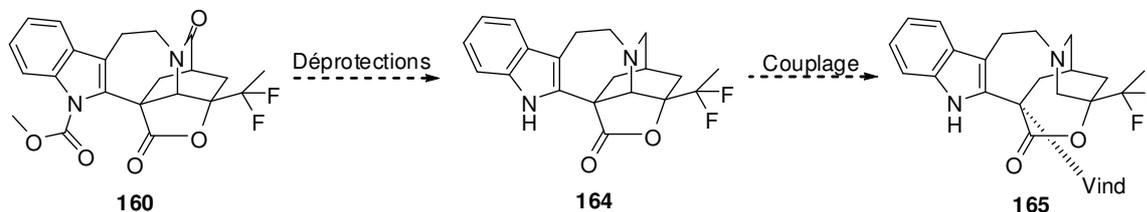


Schéma 82

Cette alternative répond à deux objectifs : le couplage éventuel avec la vindoline aboutissant à un produit dimérique *gem*-difluoré validerait les hypothèses mécanistiques évoquées dans les § B.2 et B.3 (le blocage de la position C_4 par une fonction oxygénée

empêcherait la perte des deux atomes de fluor lors du couplage avec la vindoline). En outre, ce couplage donnerait accès à un nouvel analogue dimérique difluoré de *Vinca*.

C.2.b.7 - Réactions de déprotection sur la lactone **160**

La lactone **160** a d'abord été engagée dans l'étape de déprotection de la partie indolique. La réaction a été réalisée en présence de 2 éq de PhSNa dans le THF. Le milieu réactionnel n'évoluant pas après deux heures d'agitation, ce dernier est placé à 70°C pendant une semaine. Ces conditions réactionnelles n'aboutissent finalement qu'à la dégradation du milieu. Aucune trace du produit de déprotection **166** n'a été détectée (Schéma 83).

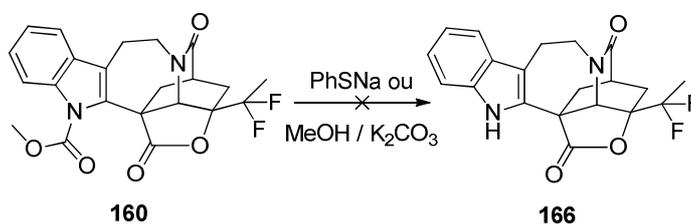


Schéma 83

La déprotection par méthanolyse basique conduit au même résultat pour des temps beaucoup plus court (1h30 à température ambiante). La réaction de déprotection du lactame dans les conditions $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2 / \text{NaBH}_4$ conduisent elles aussi à la dégradation squelette de **160**.

La voie de synthèse envisagée du difluoroalcool n'a pas permis d'accéder au substrat attendu. Les étapes de déprotection de l'intermédiaire difluoré **151** ont débouché sur une dégradation de l'alcaloïde. Ces résultats sont très surprenants étant donné que ces conditions opératoires ont été classiquement utilisées sur différents squelettes de la catharanthine non fluorés. La présence de l'alcool en position C₄ induit une réactivité très différente du substrat **151**. Nous avons alors envisagé de nouvelles stratégies de synthèse du difluoroalcool **136**.

C.2.c - Stratégies alternatives de synthèse :

Nous avons envisagé des voies de synthèse alternatives dans le but d'obtenir une fonction hydroxyle en position C₄.

C.2.c.1 - Hydroboration

Ramachandran et *al.* ont décrit l'hydroboration régiosélective d'oléfines substituées par une chaîne perfluorée en utilisant BHCl_2 , formé *in situ* par réaction entre BCl_3 et Me_3SiH .³⁸ Lors de leur étude, il a été montré que l'alcool tertiaire en α de la chaîne perfluorée était le produit majoritaire dans ces conditions réactionnelles (Schéma 84).

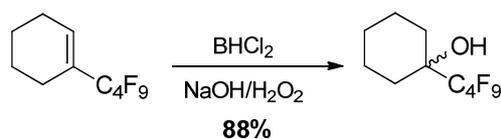


Schéma 84

Nous avons transposé ce protocole expérimental sur la catharanthine difluorée **142a** où l'amine tertiaire est protégée afin d'éviter sa complexation par BHCl_2 ainsi que son oxydation éventuelle dans la seconde étape de l'hydroboration (Schéma 85).

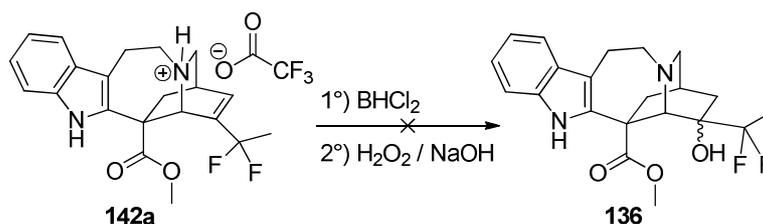


Schéma 85

La réaction ne donne pas le difluoroalcool **136** souhaité. Le substrat reste inerte dans ces conditions réactionnelles. Nous avons changé la source d'hydrure en utilisant EtSiH , le réactif de Chatgililoglu (Me_3Si)₃SiH en présence de trichloroborane mais sans succès.

C.2.c.2 - Oxydation directe de l'insaturation C₃-C₄

Boger and coll. ont décrit une oxydation directe de la catharanthine **9** en présence du couple $\text{Fe}_2(\text{Ox})_3/\text{air}$.³⁹ Dans ces conditions réactionnelles, deux produits **167** et **168** avaient été obtenus respectivement avec 25% et 18% de rendement (Schéma 86).

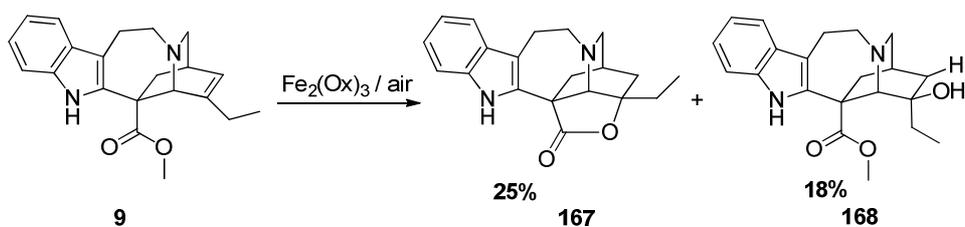


Schéma 86

Nous avons transposé le protocole décrit par Boger sur la catharanthine difluorée **110**. Les premiers tests ont montré que **110** était inerte dans ces conditions. Nous avons forcé les conditions opératoires en faisant varier trois paramètres :

- Le bullage d'oxygène moléculaire directement dans le milieu à la place de l'air sur une période plus importante (2h30 au lieu de 30 min).
- Le changement du sel de fer^{III} : utilisation de Fe₂(SO₄)₂, FeCl₃.³⁹
- La concentration du milieu.

Malgré tous ces changements expérimentaux, la catharanthine difluorée **110** reste inerte, et semble donc robuste à ces conditions oxydantes.

C.2.d - Bilan

La fonctionnalisation de la position C₄ de la 20,20-difluorocatharanthine **110** par une fonction hydroxyle n'a pas été opérante. La première stratégie de synthèse nous a permis de nous approcher de l'analogue difluoré et hydroxylé **136**, précurseur potentiel de la vinblastine difluorée. L'étape-clé d'isomérisation de la catharanthine **9** en isocatharanthine **153** donne accès à **151** par une séquence de réactions de protections, d'oxydations, puis de fluoration nucléophile avec un rendement global de 12,5% (Schéma 87).

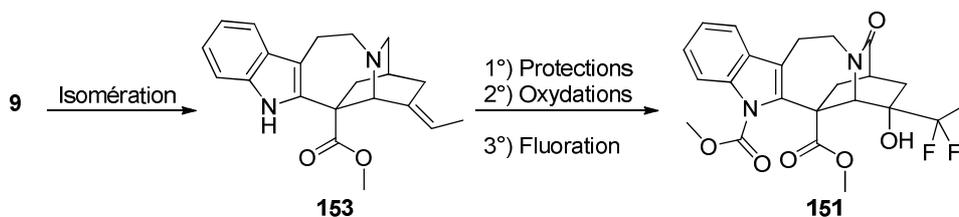


Schéma 87

Les réactions de déprotections ont été plus délicates à effectuer. La première étape de déprotection a abouti à la formation conjointe de la lactone **160** (en conditions acide ou basique) et de l'acide **162**. La réaction de déprotection du lactame sur **151** a mené sous forme de traces au produit de déprotection **163** ayant subi une réaction de lactonisation (Schéma 88).

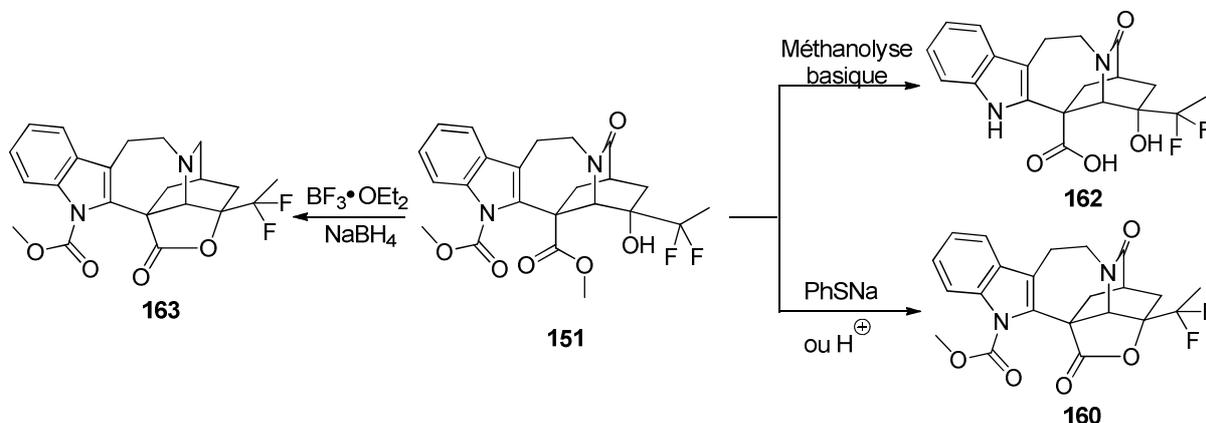


Schéma 88

Alternativement, les essais d'hydroboration ou d'oxydation directe par le couple $\text{Fe}_2(\text{Ox})_3/\text{air}$ ont été tentés directement sur la difluorocatharanthine **110**. Cependant, l'insaturation reste inerte dans ces conditions réactionnelles, et montre une nouvelle fois le caractère particulier de ce substrat

D – Conclusion

Nous avons étudié une alternative synthétique d'accès à la vinflunine **107** basée dont le précurseur serait la 20,20-difluorocatharanthine **110**.

Les essais de couplage biomimétique entre **110** et la vindoline ont mené à des produits de couplage où les deux atomes de fluor ont disparu au profit de la formation d'une énone. Ces résultats ont été expliqués par la réactivité intrinsèque d'un intermédiaire réactionnel dont la position C_4 est le centre d'un équilibre énamine/iminium.

Afin d'inhiber cette hydrolyse parasite des atomes de fluor, nous avons décidé de bloquer la position C_4 sous la forme d'une fonction alcool ou époxyde. Nous avons alors envisagé de synthétiser l'époxyde **134** ainsi que le difluoroalcool **136**, précurseurs potentiels de nouveaux alcaloïdes dimériques et *gem*-difluorés (Schéma 89).

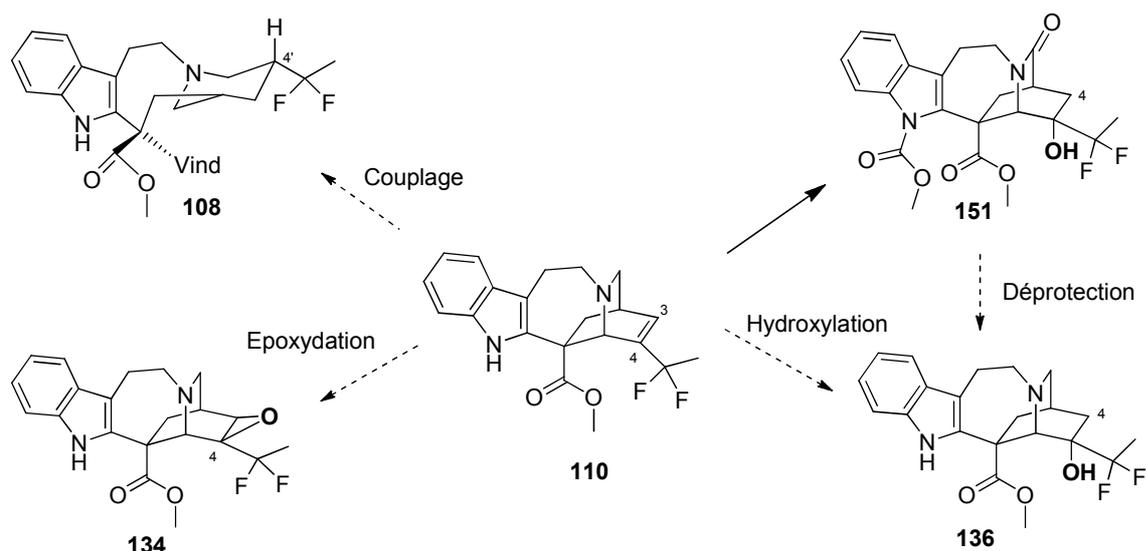


Schéma 89

La synthèse de **134** a été imaginée par une époxydation directe de la difluorocatharanthine **110**. Les différentes tentatives d'époxydation de **110** pour mener à **134** sont restées infructueuses, l'insaturation C₃-C₄ restant inerte aux conditions oxydantes. La stratégie développée pour la synthèse de **136** nous a menés à l'intermédiaire avancé **151**, sur lequel les étapes de déprotection n'ont pas été opérantes afin de mener à **136**.

Les différentes approches étudiées afin de fonctionnaliser la difluorocatharanthine **110** en position C₄ n'ont pas abouti malgré les réajustements de stratégie en cours de route. Même si nous n'avons été en mesure de tester toutes les réactions nécessaires aux fonctionnalisations de l'alcaloïde difluoré souhaitées, nous avons montré que l'introduction des deux atomes de fluor sur la catharanthine change drastiquement sa réactivité. Cette dernière n'a absolument pas été prédictible lors de réactions dites « habituelles » de fonctionnalisation de ce squelette.

Bibliographie du chapitre II

1. Fahy, J.; Duflos, A.; Ribet, J.-P.; Jacquesy, J.-C.; Berrier, C.; Jouannetaud, M.-P.; Zunino, F., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8576-8577.
2. Moisan, L.; Comesse, S.; Giovanelli, E.; Rousseau, B.; Doris, E.; Hellier, P., *FR 2 905 949 - A1* **2006**.
3. Lichman, K. V., *J. Chem. Soc. (C)* **1971**, 2539-2540.
4. Langlois, Y.; Guéritte, F.; Andriamialisoa, R. Z.; Langlois, N.; Potier, P.; Chiaroni, A.; Riche, C., *Tetrahedron* **1976**, *32*, 945-949.
5. Kutney, J. P.; Balsevitch, J.; Bokelman, G. H.; Hibino, T.; Honda, T.; Itoh, I.; Ratcliffe, A. H.; Worth, B. R., *Can. J. Chem.* **1978**, *56*, 62-70.
6. Kutney, J. P.; Balsevitch, J.; Worth, B. R., *Can. J. Chem.* **1979**, *57*, 1682-1690.
7. Paquette, L. A.; Maleczka, R. E.; Qiu, F. Y., *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2455-2461.
8. Singleton, D. A.; Hang, C., *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 7554-7560.
9. Ra, C. S.; Park, G., *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 1099-1102.
10. Hendrickson, J. B.; Palumbo, P. S., *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2110-2112.
11. Lal, G. S.; Pez, G. P.; Paresi, R. J.; Prozonic, F. M., *Chem. Comm.* **1999**, 215-216.
12. Neder, K. M.; French, S. A.; Miller, S. P. F., *Tetrahedron* **1994**, *50*, 9847-9864.
13. Manthathi, V. L.; Grée, D.; Grée, R., *Eur. J. Chem.* **2005**, 3825-3829.
14. Aube, J.; Ghosh, S.; Tanol, M., *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9009-9018.
15. Szántay, C.; Bölskei, H.; Gács-Baitz, E., *Tetrahedron* **1990**, *46*, 1711-1732.
16. Langlois, N.; Gueritte, F.; Langlois, Y.; Potier, P., *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 7017-7024.
17. Szántay, C.; Balázs, M.; Bölskei, H.; Szántay, C., *Tetrahedron* **1991**, *47*, 1265-1274.
18. Huang Yao, Z.; Zhou, Q., *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 3552-3558.
19. Neuss, N.; Gorman, M., *Tetrahedron Lett.* **1961**, *2*, 206-210.
20. Prileschajew, N., *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1909**, *42*, 4811-4815.
21. Curci, R.; Dinoi, A.; Rubino, M. F., *Pure & Appl. Chem.* **1995**, *67*, 811-822.
22. Juliá, S.; Masana, J.; Vega, J., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1980**, *19*, 929.
23. Linker, T., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2060-2062.
24. Murray, R. W.; Singh, M., *Org. Synth.* **1988**, *9*, 288.
25. Petrov, V. A.; Marshall, W. J.; Krespan, C. G.; Cherstkov, V. F.; Avetisian, E. A., *J. Fluorine Chem.* **2004**, *125*, 99-105.
26. Olah, G. A.; Chambers, R. D.; Comisarow, M. B., *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 1268.
27. Reed, K. L.; Gupton, J. T.; Solarz, T. L., *Synth. Commun.* **1989**, *19*, 3579.
28. VanRheenen, V.; Kelly, R. C.; Cha, D. Y., *Tetrahedron Lett.* **1976**, *17*, 1973-1976.
29. Knapp, S.; Yu, Y., *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1359-1362.
30. Fétizon, M.; Golfier, J.-M., *Chem. Comm.* **1969**, 1102.
31. Dess, D. B.; Martin, J. C., *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155-4156.
32. Wiley, P. F.; Jahnke, H. K.; MacKellar, F.; Kelly, R. B.; Argoudelis, A. D., *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 1420.
33. Mancuso, A., J.; Brownfain, D., S.; Swern, D., *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 4148-4150.
34. Omura, K.; Swern, D., *Tetrahedron* **1978**, *34*, 1651-1660.
35. Caddick, S.; Cheung, S.; Doyle, V. E.; Frost, L. M.; Soscia, M. G.; Delisser, V. M.; Williams, M. R. V.; Etheridge, Z. C.; Khan, S.; Hitchcock, P. B. P., G.; Vile, S., *Tetrahedron* **2001**, *57*, 6295-6303.

36. Kutney, J. P.; Joshua, A. V. L., P.-H.; Worth, B. R., *Can. J. Chem.* **1977**, *55*, 3235-3242.
37. Corey, E. J.; Weigel, L. O.; Floyd, D.; Bock, M. G., *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 2916-2918.
38. Ramachandran, P. V.; Jennings, M. P., *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3789-3790.
39. Nishikawa, T.; Urabe, D.; Isobe, M., *Synlett* **2005**, 433.

CHAPITRE III

ETUDE MECANISTIQUE DE LA REACTION DE FLUORATION DE DIMERES DE VINCA EN MILIEU SUPERACIDE

A – Les milieux superacides et leur utilisation sur les alcaloïdes de *Vinca*

A.1 - Les milieux superacides

A.1.a - De la notion d'acidité vers la notion de superacidité

A la fin du XIX^{ème} siècle, Arrhénius développa une théorie basée sur la dissociation ionique d'acides minéraux dans l'eau. Il définit alors comme acide « toute substance libérant H⁺ en solution aqueuse » et comme base « toute substance qui libérant HO⁻ en solution aqueuse ». En 1923, Brønsted étendit cette théorie à d'autres solvants en décrivant une réaction acido-basique comme « le transfert d'un proton H⁺ d'un donneur (acide) vers un accepteur (base) ». ¹ La notion d'acidité s'est étendue aux systèmes non protiques grâce aux travaux de Lewis qui définit alors « un acide comme une espèce capable d'accepter des électrons et une base comme une espèce capable de donner des électrons ». ²

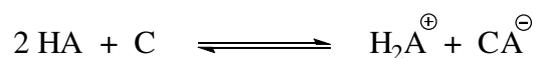
Conant et Hall observèrent en 1927 la formation de sels lorsque des bases très faibles (carbonyles amides) étaient introduites dans les milieux non aqueux tels que l'acide sulfurique H₂SO₄ ou perchlorique HClO₄ dissous dans l'acide acétique glacial. ³ La notion « superacide » fut alors introduite pour caractériser ces milieux. Les travaux d'Olah sur la protonation d'hydrocarbures saturés dans les années 60 permirent de donner un élan nouveau à cette notion. ⁴ Néanmoins, la définition actuelle d'un milieu superacide fut proposée par Gillespie en 1972 lors de ses travaux pionniers portant sur la mesure d'acidité de ces systèmes. ⁵⁻⁷ Tout système plus fort que l'acide sulfurique pur est alors considéré comme superacide.

La mesure de l'acidité des milieux aqueux dilués est basée sur la notion de pH (concentration en H₃O⁺), mais ne peut pas être appliquée sur les milieux superacides dont la concentration en acide est bien plus importante. C'est pourquoi la force d'un système superacide est mesurée par l'utilisation d'indicateurs faiblement basiques, appelées bases de Hammett et notées B. Ce dernier développa une technique de mesure de protonation de B en son acide conjugué HB⁺ afin de déterminer le rapport d'ionisation HB⁺/B. ⁸ Après avoir défini la constante d'acidité du couple HB⁺/B (K_{BH^+}), il est possible de mesurer la force d'un superacide par la fonction d'acidité de Hammett H₀ (Équation 1).

$$H_0 = pK_{BH^+} - \log \frac{[HB^+]}{[HB]} \text{ avec } H_0 < 0$$

Équation 1

Plus la fonction d'acidité de Hammett est faible ($H_0 < 0$), plus le superacide sera fort. Hammett détermina par ses études la constante $H_0 = -11,9$ pour l'acide sulfurique pur qui est donc la valeur de référence des superacides. Olah a alors étendu cette notion aux acides de Lewis, dont la référence est alors AlCl_3 anhydre.⁹ Tout acide de Lewis plus fort que ce dernier est considéré comme un superacide de Lewis. L'acidité de ces espèces, telles que BF_3 , SbF_5 , TaF_5 , AsF_5 , $\text{B}(\text{SO}_3\text{CF}_3)_3$ est cependant difficile à mesurer.¹⁰ La combinaison d'acides de Brønsted et/ou de Lewis permet d'augmenter la superacidité du mélange et d'accéder à des fonctions d'acidité de plus en plus faibles. L'association entre un acide HA, et un second acide C déplace l'équilibre d'autoprotolyse de l'acide HA (Équation 2).



Équation 2

L'acide C peut être un acide de Brønsted ou de Lewis halogéné (AlCl_3 , SbF_5 ...). Ce dernier piège l'anion A^- pour créer le complexe CA^- dont la charge négative est très délocalisée, exaltant ainsi l'acidité du milieu. L'exemple le plus remarquable de cette association d'acide reste le mélange $\text{HSO}_3\text{F}/\text{SbF}_5$ baptisé « acide magique » et développé par Olah lors de son étude sur la stabilité des carbocations. Différentes méthodes spectrométriques (UV, IR, RMN)¹¹ ont permis d'étudier de nombreux mélanges superacides et de les classer selon leur valeur H_0 (Figure 8).

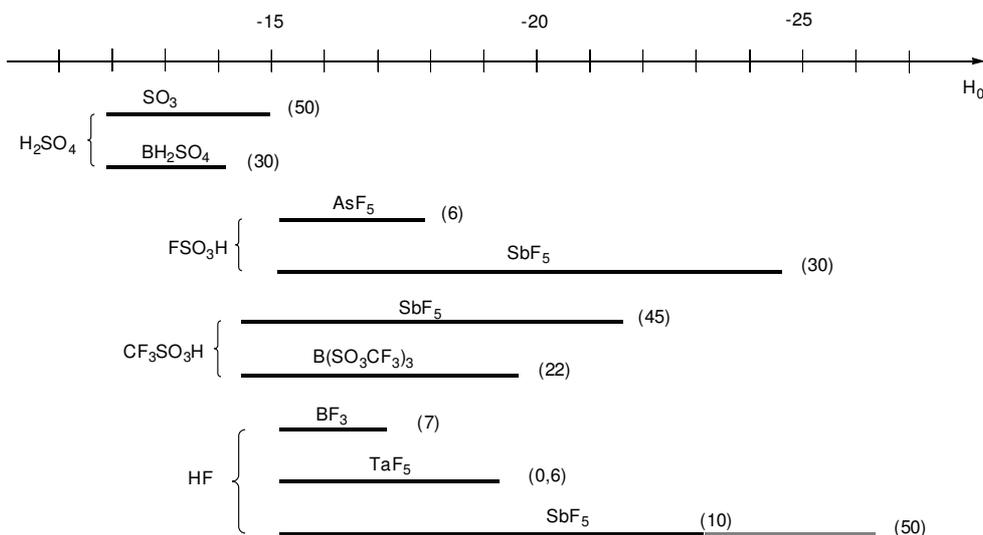


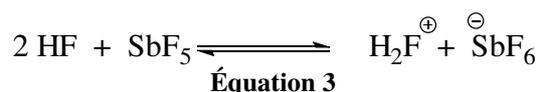
Figure 8 : gamme d'acidité de milieux superacides (les fractions molaires en acide de Lewis sont entre parenthèses)¹²

Les mélanges HF/SbF_5 et $\text{HSO}_3\text{F}/\text{SbF}_5$ possèdent une large gamme d'acidité.¹³ La forte électronégativité de l'halogène amplifie l'acidité de ces milieux qui pour la plupart sont fluorés. Le mélange HF/SbF_5 est le système le plus superacide connu à ce jour, et dont les

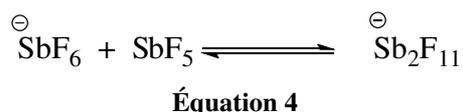
propriétés chimiques remarquables ont été utilisées par les laboratoires Pierre Fabre afin de produire à l'échelle industrielle la vinflunine.

A.1.b - Présentation du système superacide HF/SbF₅

La réaction d'autoprotolyse de l'acide fluorhydrique en présence de fluorure d'antimoine conduit à la formation dans le milieu de nouvelles espèces décrites dans l'Équation 3, suite à la séquestration d'un ion fluorure par SbF₅.



Des études spectroscopiques par RMN ¹H et ¹⁹F ainsi que par IR ont montré que l'acidité de ce système mixte dépend de la proportion d'acide de Lewis ajoutée dans le milieu réactionnel.^{14, 15} L'ajout d'acide de Lewis va engendrer une augmentation de l'acidité du système qui peut s'expliquer par une complexation entre SbF₅ et l'anion SbF₆[−] (Équation 4).



Une réaction de polymérisation des réactifs antimoniques va avoir lieu et conduire à la formation d'espèces complexées telles que Sb₂F₁₁[−], Sb₃F₁₆[−] voire Sb₄F₂₁[−]. La formation d'anions de plus en plus volumineux va entraîner une délocalisation accentuée de la charge négative, rendant ces espèces ioniques très faiblement basiques et nucléophiles. Le proton est dans ce cas solvaté sous la forme de polymères H₂F⁺ ainsi que H₃F₂⁺ : l'acidité du milieu est alors accentuée.

La chimie des milieux superacides a subi un essor important à partir des années 1960 grâce aux travaux d'Olah portant sur l'activation inédite d'hydrocarbures saturés ainsi que sur l'étude de carbocations stabilisés grâce à ces systèmes. Cependant, ces milieux à eux seuls ne suffisent pas à fonctionnaliser des composés organiques. L'introduction d'un réactif supplémentaire dans le milieu, tel qu'un chlorométhane a permis d'étendre cette chimie vers des fonctionnalisations inédites, telles que des réactions de fluoration sur des substrats peu réactifs dans des milieux dits « classiques ».

A.1.c - Les chlorométhanes en milieu superacides comme superélectrophiles

L'acide de Lewis du milieu superacide va conférer un caractère électrophile aux chlorométhanés par protonation ou par séquestration d'atome. La notion de superélectrophile provient du fait que les cations créés dans le milieu ont également la propriété d'arracher les hydrures. Des agents de bromation (NBS ou Br₂) ont aussi été décrits en tant qu'espèces superélectrophiles en milieu superacide.

En milieu superacide, SbF₅ a la capacité d'arracher un atome de chlore au tétrachlorure de méthane afin de créer le cation CCl₃⁺. Le cation trichlorométhyle ainsi formé est notamment stabilisé par l'effet mésomère +M des atomes de chlore (Schéma 90).

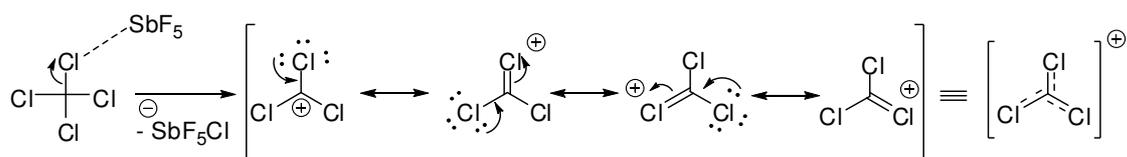


Schéma 90

La réactivité observée de différents chlorométhanés (CCl₄, CHCl₃, CH₂Cl₂) est particulière en milieu superacide : le caractère électrophile des espèces chargées formées dans le milieu est opposé au pouvoir abstracteur d'hydrure. Plus le cation est stabilisé par effet mésomère, meilleur est son pouvoir abstracteur. Les cations halogénés peuvent être classés selon ce pouvoir CCl₃⁺ > CHCl₂⁺ >> CH₂Cl⁺.¹⁶ Une activation complémentaire par le milieu superacide est proposée dans le Schéma 91 afin de justifier cette réactivité singulière.

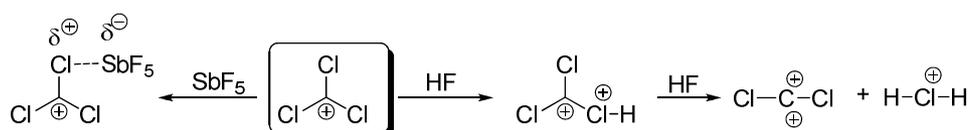


Schéma 91

Les dérivés dicationiques CHCl₃²⁺ ainsi que CCl₂²⁺ sont hautement réactifs et sont responsables du pouvoir abstracteur puissant de l'espèce CCl₃⁺. En présence d'hydrocarbures, donneurs d'hydrures en milieu superacide, ces espèces chargées vont entraîner des réactions totalement inédites en créant notamment divers carbocations impossibles à observer dans des réactions classiques de chimie organique.

L'exemple le plus spectaculaire d'utilisation de chlorométhane en tant qu'espèce superélectrophile est celui de la synthèse de la vinflunine à partir de la Navelbine[®].¹⁷

Les alcaloïdes de *Vinca* monomériques et dimériques ont dévoilé des réactivités spécifiques en milieu superacide HF/SbF₅, en fonction notamment des superélectrophiles utilisés.

A.2 - Réactivité des alcaloïdes de *Vinca* en milieu superacide

Cette partie traitera des résultats obtenus suite à l'introduction d'alcaloïdes monomériques puis dimériques en milieu HF/SbF₅. Par souci de simplicité d'écriture, les espèces dicationiques hautement réactives présentées dans le Schéma 91 et dérivées du cation trichlorométhyle seront notées CCl₃⁺. Il en sera de même pour tous les autres superélectrophiles.

A.2.a - Les alcaloïdes monomériques

A.2.a.1 - La catharanthine

Les laboratoires Pierre Fabre ont tenté la fluoration directe de la catharanthine **9** en milieu superacide. Cependant, cette dernière n'est pas fluorée dans le milieu HF/SbF₅. Le seul produit formé a été caractérisé par spectrométrie de masse qui indique une masse supérieure de 28 u.m.a. à celle de la catharanthine **9**. Ce produit correspond à la formylation du cycle aromatique **170** (Schéma 92).

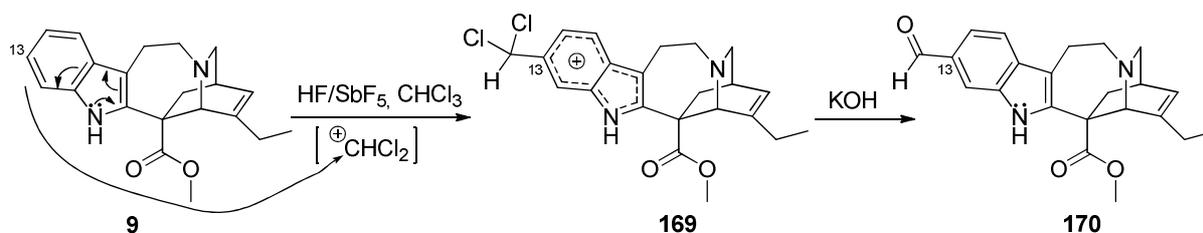
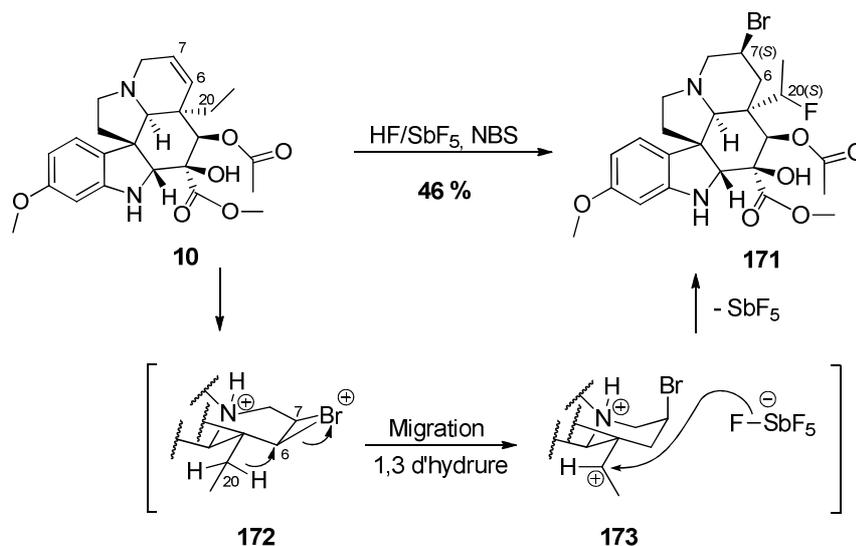


Schéma 92

Le cation dichlorométhyle généré *in situ* vient s'additionner sur le cycle aromatique. Cette substitution électrophile aromatique en position C₁₃, assistée par l'azote indolique conduit intermédiairement au composé **169** qui après réaromatisation et hydrolyse en milieu basique conduit à la 13-formylcatharanthine **170**.

A.2.a.2 - La vindoline

La vindoline **10**, introduite en milieu superacide en présence de NBS, conduit au composé bromofluoré **171** (Schéma 93).^{18, 19}



L'addition par la face β de Br^+ sur la liaison $\text{C}_6\text{-C}_7$ conduit au bromonium **172** qui subit un transfert 1,3 d'hydruure de la position C_{20} vers la position C_6 . Le carbocation secondaire **173** ainsi formé est piégé par un ion fluorure apporté par l'espèce hautement réactive SbF_6^- pour aboutir au composé **171** avec 46% de rendement.

Ces résultats préliminaires mettent en évidence la réactivité particulière de chaque substrat introduit en milieu superacide et ne présagent en rien de la réactivité des alcaloïdes dimériques de *Vinca* dans le mélange HF/SbF_5 .

A.2.b - Alcaloïdes dimériques (AVLB, vinorelbine)

Jacquesy *et al.* ont montré que l'introduction de la Navelbine[®] **105** ou de l'anhydrovinblastine (AVLB) **17** en milieu superacide en présence d'un excès de chlorométhane conduisait respectivement aux dérivés *gem*-difluorés en position C_{20} **107** et **108** (Schéma 94). Les deux atomes de fluor sont introduits régiosélectivement sur cette position et dans les deux cas, l'insaturation $\text{C}_3\text{-C}_4$ est réduite de façon concomitante.¹⁷

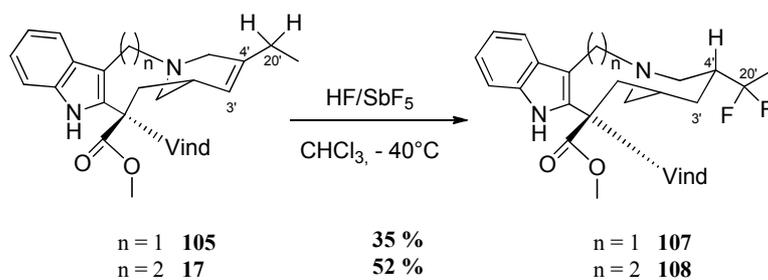


Schéma 94

Ce résultat est surprenant lorsqu'on le compare aux réactivités observées des alcaloïdes monomères dans des conditions similaires. Seul le fragment Nord est affecté par la réaction de fluoration, le fragment Sud restant inerte dans ces conditions réactionnelles. La conformation du dimère pourrait expliquer cette observation en supposant un effet protecteur du fragment Nord sur l'insaturation C₆-C₇ du motif vindolinique.

Lors de cette étude, l'équipe de Jacquesy a montré que le rendement final en composé *gem*-difluoré était plus important dans le cas de l'AVLB (n=2) que dans celui de la Navelbine[®]. Ce résultat a été directement exploité industriellement dans le cadre de la synthèse de la vinflunine **107**, qui passe séquentiellement par la fluoration de l'ALVB **17** pour conduire à **108** puis par une réaction de contraction de cycle du fragment Nord de **108** (cf. Chapitre II, § A.1).

Dans la suite de ce chapitre, les différentes réactions de fluoration seront présentées sur l'AVLB **17**, mais sont aussi opérantes sur la Navelbine[®] **105**. En outre, le produit résultant de la fluoration de l'AVLB **17** sera nommé « AVLBF₂ » **108** par souci de simplification.

Bien que cette réaction de *gem*-fluoration soit extrêmement efficace, le mécanisme réactionnel n'a pas été complètement élucidé à ce jour. Différents intermédiaires réactionnels, supposés ou avérés ont été mis en évidence et ont permis d'apporter quelques éléments de réponse. La prochaine partie se focalisera sur l'étude mécanistique de la fluoration en milieu superacide d'alcaloïdes dimériques de *Vinca*.

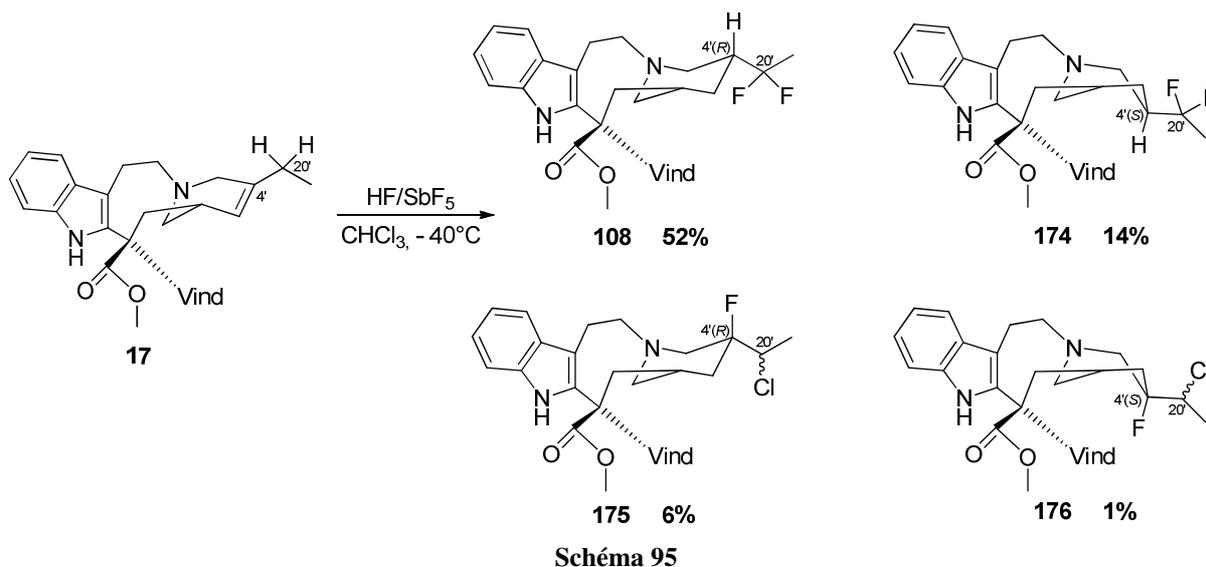
B – Considérations mécanistiques sur la réaction de fluoration des dimères de *Vinca* en milieu superacide

B.1 - Expériences de fluoration en milieu superacide

Fahy et al. ont mené des investigations supplémentaires afin d'identifier des intermédiaires réactionnels impliqués dans la réaction de fluoration en milieu superacide HF/SbF₅.¹⁷

B.1.a - Réaction classique de fluoration en milieu HF/SbF₅

Le traitement de l'anhydrovinblastine **17** en milieu superacide conduit à la formation du produit majoritaire de fluoration attendu **108** et de trois sous-produits dihalogénés **174**, **175** et **176** (Schéma 95).



L'AVLBF₂ **108** est obtenue majoritairement (52% de rendement). Le sous-produit majoritaire, isolé avec un rendement de 14% est l'épimère en C_{4'} de l'AVLBF₂ **174**. Deux sous-produits **175** et **176** sont formés lors de la réaction à hauteur respectivement de 6% et 1%. Il s'agit de composés 20'-chloro-4'-fluorés épimères en C_{4'}. L'apparition des dimères chlorofluorés **175** et **176** soulève l'importance détenue par le chlore dont le rôle central lors de la fluoration a notamment été démontré dans les expériences suivantes.

B.1.b - Réaction de fluoration sans chlorométhane

La 3',4'-anhydrovinblastine **17** a été soumise aux conditions superacides en absence d'agent électrophile. Dans ces conditions réactionnelles, il ne se forme pas de produit fluoré **108**, mais un mélange 1/1 de stéréoisomères *E/Z* **177** et **178** a été obtenu avec un rendement de 42%. Ces derniers incorporent une insaturation exocyclique en position C_{4'}-C_{20'} qui résulte d'une isomérisation de la double liaison du fragment Nord d'une position endocyclique vers une position exocyclique (Schéma 96).

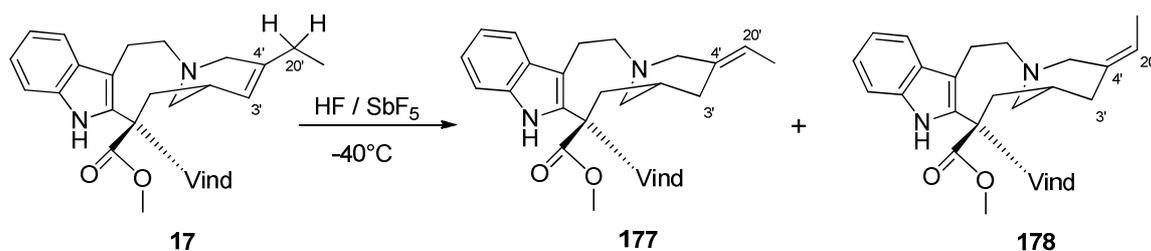


Schéma 96

La réaction d'isomérisation de l'insaturation C_{3'}-C_{4'} vers les positions C_{4'}-C_{20'} laisse supposer que les produits exocycliques **177** et **178** puissent être des intermédiaires lors de la réaction de fluoration. En outre, ce résultat met en évidence que la présence de chlorométhane est indispensable à la fluoration de la position C_{20'}.

Lorsque la réaction est conduite en présence d'un seul équivalent de chlorométhane à basse température, les produits obtenus diffèrent de ceux classiquement formés.

B.1.c - Réaction en présence d'un équivalent de chlorométhane à basse température

L'anhydrovinblastine **17** a été introduite à basse température (- 60°C) en présence d'un équivalent de CCl₄. Une étude cinétique de la réaction a montré l'apparition dans le milieu réactionnel d'un mélange d'épimères chlorés **179** dans un ratio 1/1 sur la chaîne latérale (Schéma 97).

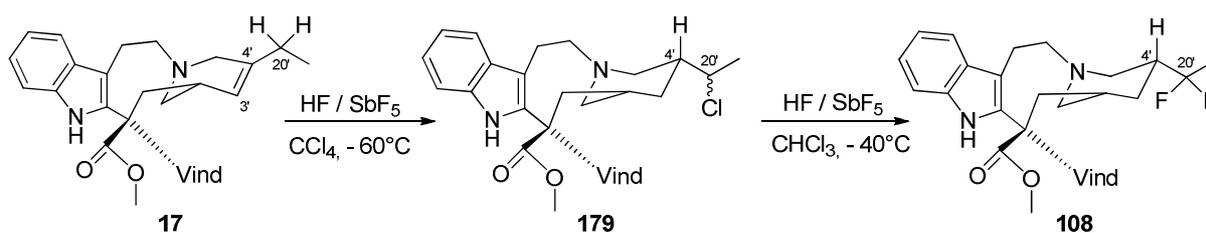


Schéma 97

Lorsque **179** est traité en milieu superacide en présence d'une source électrophile, (CHCl₃), le dérivé *gem*-difluoré **108** est obtenu, accompagné des sous-produits habituellement observés dans ces conditions réactionnelles. Cette expérience séquentielle permet d'identifier le dérivé chloré **179** comme un intermédiaire probable de la réaction de fluoration.

B.1.d - Hydrogénation des alcaloïdes dimères

Jacquesy *et al.* ont testé le comportement de différents alcaloïdes dimériques (Navelbine[®] **105**, AVLB **17**, ainsi que la vinblastine **6**) en milieu HF/SbF₅ en présence d'un donneur d'hydrure, le méthylcyclopentane.²⁰ Les trois dimères mènent aux produits de réduction de l'insaturation C_{3'}-C_{4'} de configuration (4'*R*) (Schéma 98).

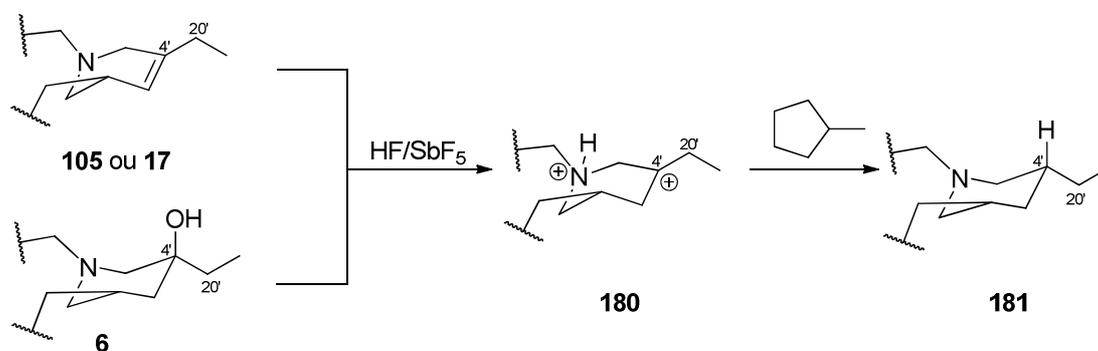


Schéma 98

La synthèse du produit réduit **181** suggère la formation intermédiaire du carbocation tertiaire **180**. Ce dernier résulterait de la protonation de la double liaison C_{3'}-C_{4'} par le milieu superacide, puis serait réduit par un transfert d'hydrure provenant du méthylcyclopentane.

Une expérience complémentaire pour vérifier la formation de **180** a été effectuée en présence d'un donneur de deutériure, le perdeutéro-cyclohexane (Schéma 99).

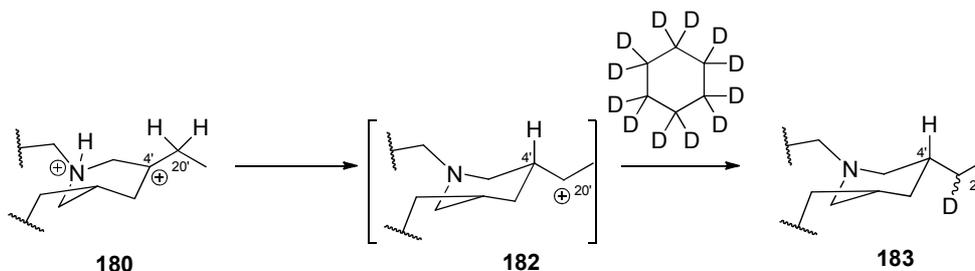


Schéma 99

La nouvelle réduction conduit aux produits monodeutérés épimères en position C_{20'} avec 95% d'incorporation isotopique. Ce résultat met en évidence la formation d'un carbocation secondaire **182** qui n'avait jamais été suggéré jusqu'à présent. La protonation du dimère conduit préalablement au carbocation tertiaire **180**, plus stable thermodynamiquement. Deux hypothèses mécanistiques peuvent alors être envisagées pour la formation de **182** à partir de **180** (Schéma 100).

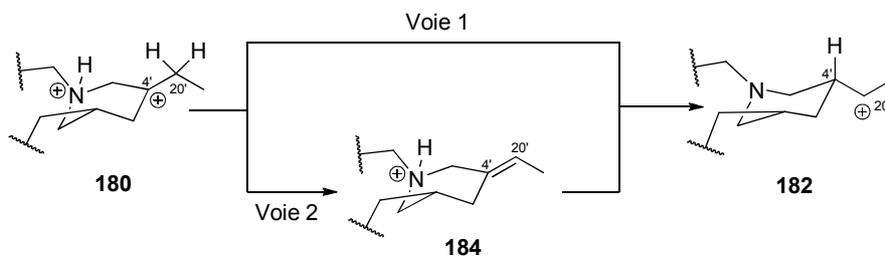


Schéma 100

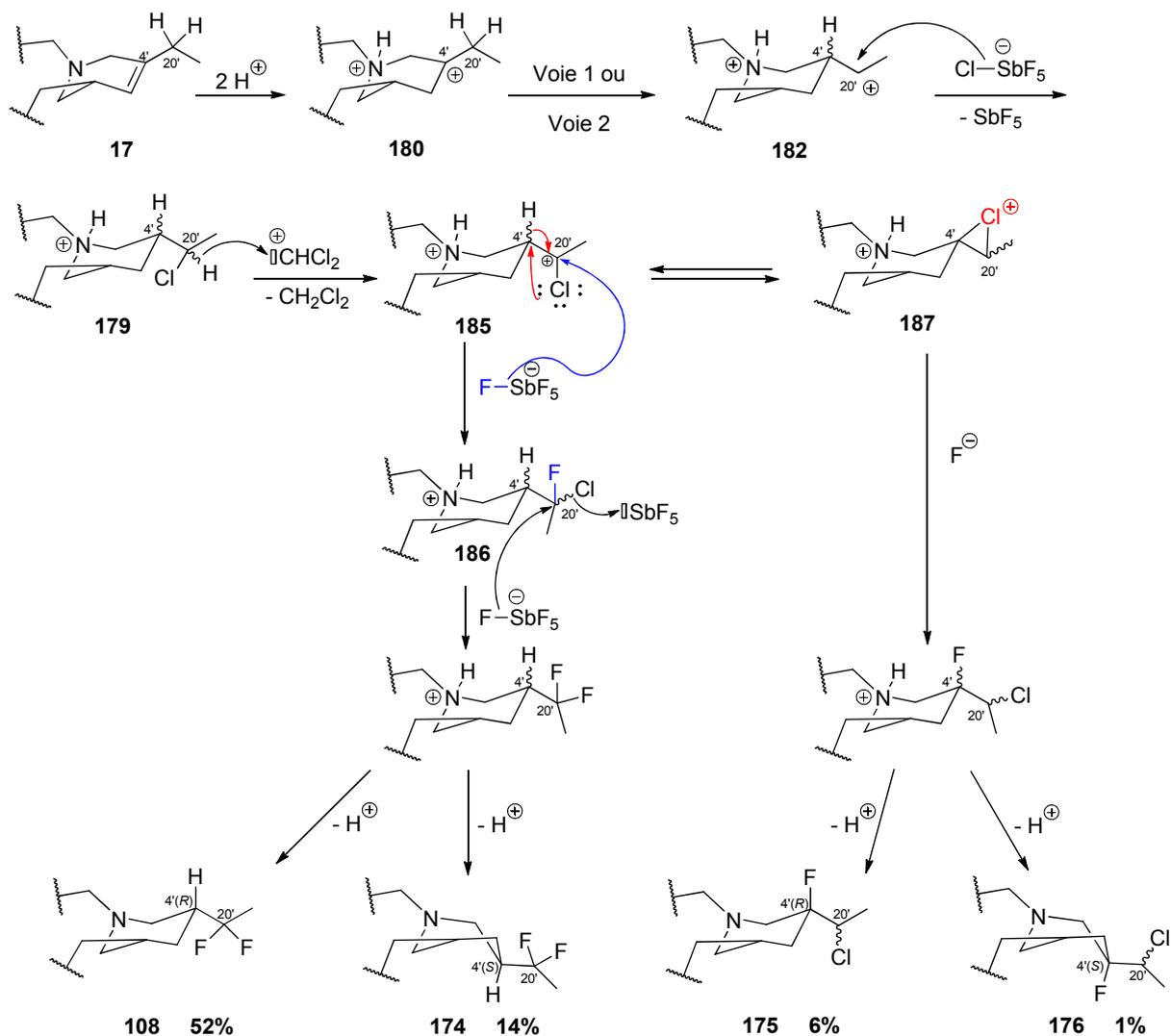
- Une migration 1,2 d'hydrure de la position C_{20'} vers la position C_{4'} décrite dans la voie 1 pourrait expliquer transformation de **180** en **182**.
- L'élimination d'un des deux protons de la position C_{20'} mènerait intermédiairement à l'oléfine exocyclique **184** et serait suivie par une reprotoation par le milieu réactionnel de la position C_{4'} (voie 2). Cette hypothèse s'appuie notamment par la formation du mélange isomérique $\Delta^{4'-20'}$ -exocyclique **177** et **178** obtenus lorsque la réaction est conduite en absence de chlorométhane.

Ces différentes expériences ont permis d'établir une hypothèse mécanistique de la réaction de fluoration de l'AVLB ou de la Navelbine[®] en milieu superacide.

B.2 - Mécanisme postulé de fluoration

Le schéma 101 résume la voie mécanistique postulée de la réaction de fluoration de l'anhydrovinblastine.^{17, 21-23} Seul le fragment Nord du dimère a été dessiné.

En présence du système HF/SbF₅/CHCl₃, le fragment Nord de l'AVLB **17** est doublement protoné pour conduire au carbocation tertiaire **180**. La transformation de ce dernier en carbocation secondaire **182** peut être effectuée selon les deux voies présentées dans le Schéma 101.



L'ion SbF_5Cl^- vient piéger le carbocation secondaire **182** pour conduire au mélange des épimères chlorés **179** en position $\text{C}_{20'}$ (ces derniers ont été isolés lorsque le superélectrophile est CCl_4 à basse température). L'espèce superélectrophile CHCl_2^+ présente dans le milieu vient alors abstraire l'hydrure en position $\text{C}_{20'}$ pour conduire à l' α -chlorocarbénium **185**, stabilisé par l'effet mésomère +M des atomes de chlore. Deux voies sont alors opérantes à partir de **185**.

Dans un premier cas, l' α -chlorocarbénium **185** peut être piégé par un ion fluorure apporté par l'espèce SbF_6^- pour conduire à l'intermédiaire gem-chlorofluoré **186**. La seconde incorporation de fluor sur le dimère s'effectue alors par substitution nucléophile de l'atome de chlore, activé par l'espèce SbF_5 . L'introduction séquentielle des deux atomes de fluor sur la position $\text{C}_{20'}$ du fragment Nord conduit à la formation des deux alcaloïdes gem-difluorés **108** et **174**, épimères en C_4 .

Dans le second cas, l' α -chlorocarbénium **185** peut subir un réarrangement par migration 1,2 d'hydrure de C_{20'} vers C_{4'} pour générer le chloronium **187**. Ce dernier subit alors une addition nucléophile par attaque d'un ion fluorure en position C_{4'} conduisant à son ouverture régiosélective et à la formation des sous-produits 20'-chloro-4'-fluorés **175** et **176**, épimère en C_{4'}.

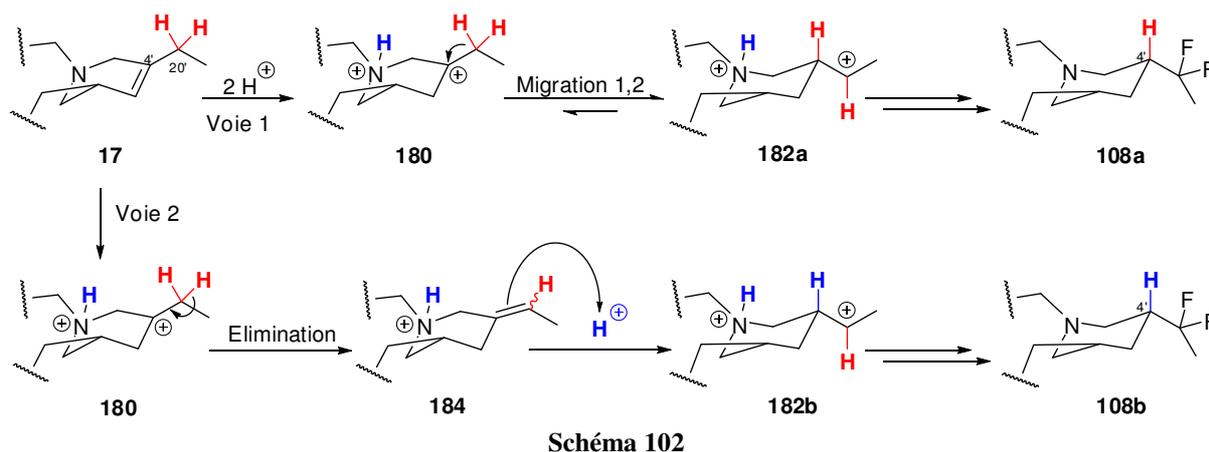
Les différents produits **108**, **174**, **175** et **176** obtenus au cours de la réaction de fluoration proviennent tous du carbocation secondaire **182** dont la formation peut s'opérer selon deux voies distinctes. Nous avons donc élaboré une stratégie afin de mieux comprendre la formation de cet intermédiaire-clé.

C – Vers l'élucidation du mécanisme de fluoration en milieu superacide

C.1 - Présentation de la stratégie employée

C.1.a - Recours au marquage isotopique

Les deux voies mécanistiques envisagées expliquant la formation du carbocation secondaire **182** se différencient notamment par l'origine du proton en position C_{4'} sur le produit difluoré **108** (Schéma 102).



A l'issue de la formation du carbocation tertiaire **180**, deux voies peuvent être envisagées pour expliquer l'origine du proton en C_{4'} sur le carbocation secondaire **182** :

- Le proton peut être apporté par la molécule elle-même par migration intramoléculaire d'hydrure, de la position C_{20'} vers C_{4'} pour donner accès à **182a** puis à **108a** (voie 1).
- L'élimination d'un des deux protons de la position C_{20'} sur **180** conduit à la formation de la double liaison exocyclique du composé **184**. Le milieu réactionnel superacide peut alors protoner l'insaturation de **184** pour conduire à **182b** puis à **108b** (voie 2).

L'origine du proton en position C_{4'} sur le dimère difluoré **108** a été exploité afin de discriminer les deux voies mécanistiques postulées pour la formation du carbocation secondaire **182**. Pour ce faire, nous avons introduit du marquage isotopique au deutérium sur la position C_{20'} conduisant à la synthèse de la 3',4'-anhydrovinblastine-20',20'-d₂ **188** (Schéma 103).

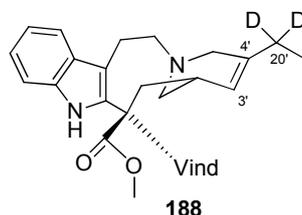


Schéma 103

Dans la voie 1, une migration 1,2 de deutérum sur le carbocation tertiaire **180** donnerait accès au carbocation secondaire deutéré sur la position C_{4'}. Ce dernier évoluerait dans les conditions réactionnelles vers le produit *gem*-difluoré et deutéré en C_{4'}. Dans la voie 2, l'élimination d'un atome de deutérium, mènerait à l'isomérisation de l'oléfine en double liaison exocyclique. L'oléfine nouvellement créée serait protonée par le milieu pour conduire au carbocation secondaire cette fois-ci non marqué en position C_{4'}. La fluoration de ce carbocation conduirait à l'AVLBF₂ non marquée **108b**.

Le recours au marquage isotopique nous permettrait de discriminer les deux hypothèses mécanistiques postulées *via* une éventuelle incorporation de deutérium sur le produit final. La synthèse de la 3',4'-anhydrovinblastine-20',20'-d₂ **188** a donc été envisagée et sera présentée dans la prochaine partie.

C.1.b - Schéma rétrosynthétique du dimère dideutéroté **188**

Le dimère dideutéroté **188** diffère structurellement de l'AVLB **17** par la présence de deux atomes de deutérium en position C_{20'}.

Nous nous sommes inspirés de la méthode classique de formation des dimères de *Vinca* par couplage biomimétique entre la vindoline et un précurseur adéquatement modifié du fragment Nord, la catharanthine-20,20- d_2 **189**, pour la synthèse de **188** (Schéma 104).

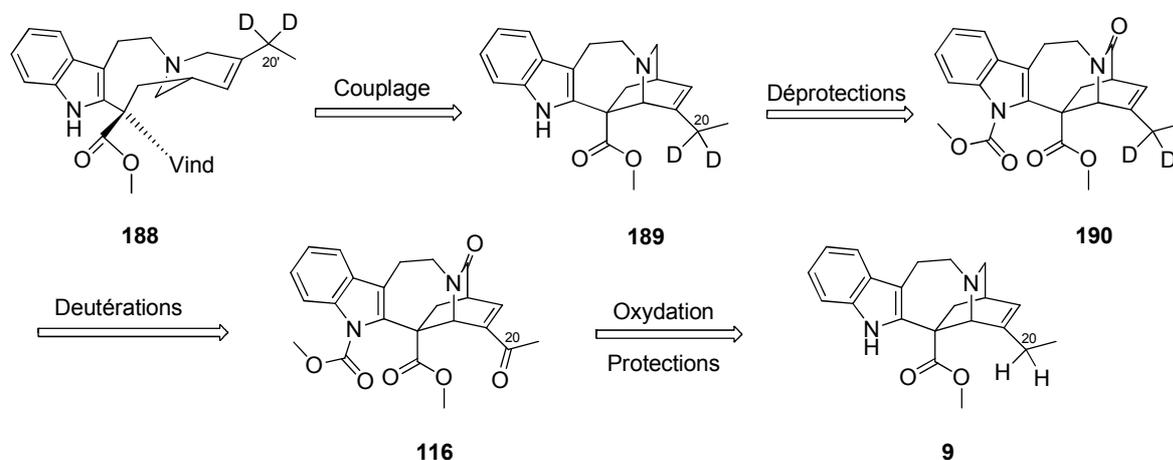


Schéma 104

L'introduction des deux atomes géminés de deutérium sur la position C_{20} de la catharanthine nous a naturellement poussés à envisager l'énone **116** comme intermédiaire-clé pour la synthèse de **189**. Nous nous sommes pour cela inspirés de la synthèse de la 20,20-difluorocatharanthine (cf. Chapitre II) au cours de laquelle les deux atomes de fluor étaient introduits par une réaction de *gem*-fluoruration nucléophile en partant de l'énone.

La présence de la fonction ester en position C_{18} nous a contraints à choisir scrupuleusement le réducteur. Cette fonction nous a conduits à limiter la source de deutérure à utiliser pendant la synthèse : $LiAlD_4$, N_2D_4/KOD (réaction de Wolf-Kischner) ou Zn/DCl (réduction de Clemmensen) ont été automatiquement écartés pour deutérer la position C_{20} car ces conditions ont été jugées trop drastiques pour éviter la réduction de l'ester.

Nous avons donc opté pour une option alternative dans le but d'introduire les atomes de deutérium sur le squelette de la catharanthine, qui nécessite des conditions opérationnelles plus douces que les celles évoquées ci-dessus. La prochaine partie s'intéressera en premier lieu à la synthèse de la catharanthine dideutérée **189** puis à la réaction de couplage de cette dernière avec la vindoline pour conduire à l'AVLB dideutérée **188**.

C.2 - Synthèse de la catharanthine-20,20-d₂ 189

Nous avons décidé d'opter pour une introduction séquentielle des deux atomes de deutérium : l'énone sera d'abord réduite en alcool allylique deutéré puis ce dernier sera converti en groupement méthylène dideutéié.

C.2.a - Deutération de l'énone **116**

Luche et al. ont développé une méthodologie efficace dans le but de réduire les énonés en alcool allylique en présence du couple NaBD₄/CeCl₃.²⁴ Le sel de terre rare permet d'activer le carbonyle par complexation afin de favoriser l'addition 1,2 au détriment de l'addition 1,4. Luche a alors montré que la cyclohexènone **191** était convertie en l'alcool deutéré correspondant **192** à l'aide du système NaBD₄/CeCl₃ (Schéma 105).

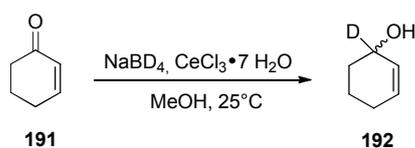


Schéma 105

Nous avons transposé cette méthodologie sur l'énone **116**. La réduction par le système NaBD₄/CeCl₃ conduit quantitativement à la formation des deux alcools allyliques épimères en position C₂₀ (Schéma 106). Une analyse par spectrométrie de masse montre une incorporation en deutérium de 96 % sur la position C₂₀.

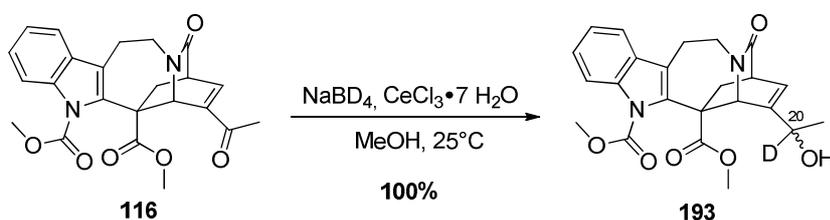


Schéma 106

Cette première étape de synthèse nous a permis d'incorporer un atome de deutérium sur le squelette de la catharanthine. La seconde introduction de deutérium implique la réduction du mélange des alcools allyliques deutérés **193**.

C.2.b - Deutération des alcools allyliques deutérés 193

Nous avons exploré deux types de réaction de désoxygénation « douce » : les méthodes radicalaires par la réaction de Barton-McCombie ainsi que les méthodes ioniques utilisant des sources de deutérum telles que le silane Et_3SiD associé à un acide (CF_3COOH ou $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$) ou NaBD_4 , même si leur emploi est généralement restreint aux cétones aromatiques.^{25, 26}

C.2.b.1 - Désoxygénation de Barton-McCombie

La réaction de Barton-McCombie est une méthode très efficace pour réduire une fonction hydroxylée primaire ou secondaire en alcane correspondant.²⁷ Cette dernière est effectuée en deux temps, puisque l'alcool est préalablement activé sous forme de xanthate ou de thiocarbonate. L'étape de désoxygénation radicalaire est initiée à l'aide de $n\text{-Bu}_3\text{SnH}$. Différents exemples sont décrits dans la littérature, parmi lesquels les alcools allyliques. Ainsi, lorsque l'alcool allylique **194** est préalablement activé sous la forme du xanthate **195**, sa réaction avec $n\text{-Bu}_3\text{SnH}$ conduit au dérivé désoxygéné **196** (Schéma 107).²⁸

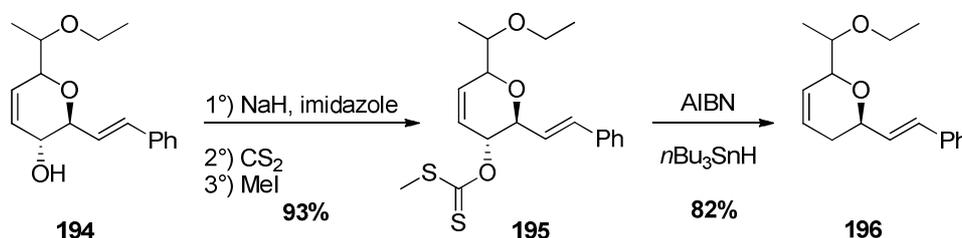


Schéma 107

Nous avons transposé ces conditions réactionnelles au squelette de la catharanthine. Cependant, nous avons initialement travaillé sur la catharanthine hydroxylée non deutérée **115** afin de ne pas consommer un intermédiaire à forte valeur ajoutée (Schéma 108).

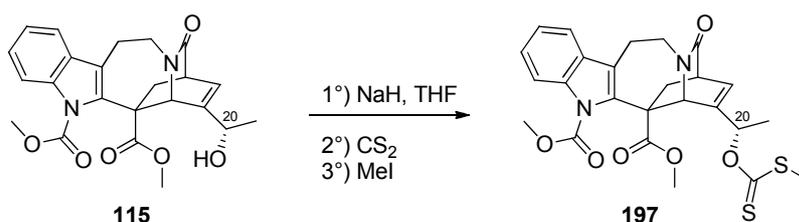


Schéma 108

L'hydroxycatharanthine **115** reste inerte dans toutes conditions réactionnelles testées. Aucune trace de **197** n'a été détectée et lorsque le milieu réactionnel est chauffé, nous observons la lactonisation de **115** résultant de l'addition de l'alcoolate en C₂₀ sur l'ester en position C₁₈ pour conduire **198** (Schéma 109).

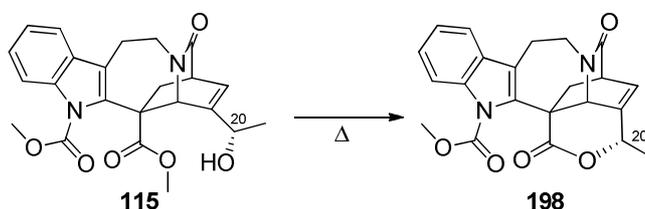


Schéma 109

Nous avons alors choisi de tester le 1,1'-thiocarbonyldiimidazole qui possède deux groupements imidazoles.^{29, 30} L'hydroxycatharanthine **115** est dans ce cas-ci consommée quantitativement après quelques heures dans le dichlorométhane à température ambiante (Schéma 110).

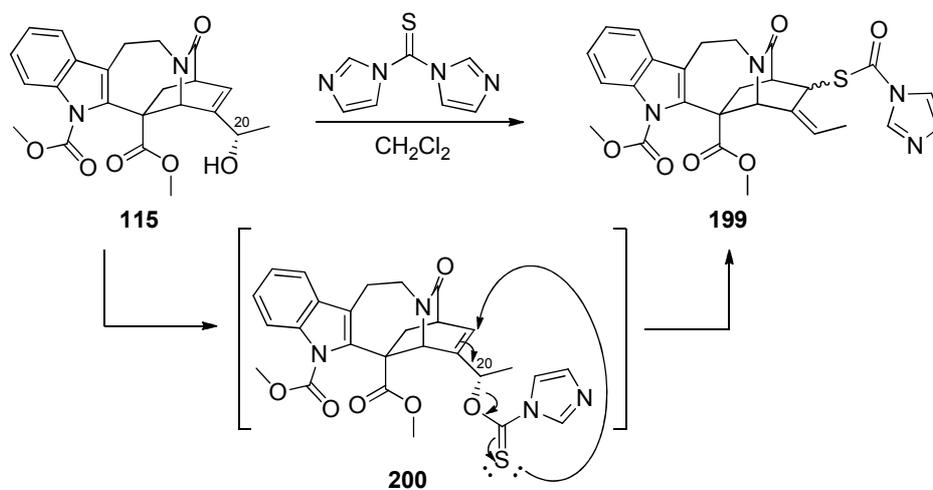
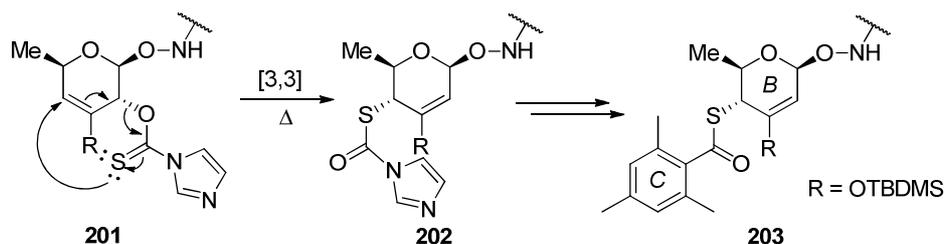


Schéma 110

Un nouveau produit est majoritaire, mais une analyse des spectres RMN ¹H et ¹³C montre que ce dernier n'est pas le xanthate **200** attendu mais un produit de réarrangement sigmatropique [3,3] **199**.

Ce type de réarrangement avait déjà été étudié notamment par Nicolaou *et al.* lors de la synthèse totale de la Calicheamicin γ_1 ¹. Nicolaou exploite ce réarrangement sigmatropique sur **201** dans le but d'installer une fonction thiol sur **202** qui sera engagée dans une réaction de couplage au cycle B de la Calicheamicin γ_1 **203** (Schéma 111).³¹

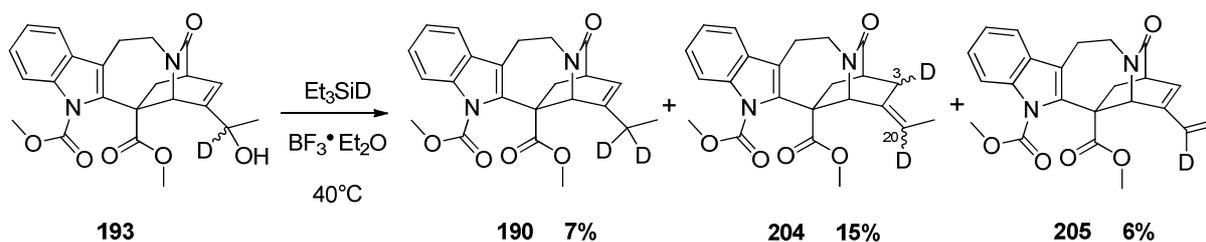


L'introduction du second atome de deutérium *via* la réaction de désoxygénation de Barton-McCombie n'a pas été opérante. L'alcool est resté inerte dans la plupart des conditions réactionnelles testées, hormis avec le thiocarbodiimidazole en présence duquel un réarrangement sigmatropique [3,3] a eu lieu. Nous nous sommes par la suite intéressés à la réduction de l'alcool par une méthode, impliquant une réduction par voie ionique.

C.2.b.2 - Méthode ionique en présence de silanes

Nous nous sommes inspirés des travaux de Grieco^{32, 33} et Pearson,³⁴ Wustrow³⁵ qui ont travaillé sur la désoxygénation sélective d'alcools allyliques secondaires cycliques en utilisant le système EtSiH/LiClO₄, la substitution étant activée par le caractère acide de Li⁺. Malheureusement, la transposition de ces conditions réactionnelles sur l'hydroxycatharanthine **115** n'a pas abouti à la désoxygénation désirée.

L'activation de l'alcool a été modifiée en changeant la nature de l'acide de Lewis. Le cation métallique Li⁺ a été remplacé par le trifluoroborane dans l'éther, dont le caractère activant avait été démontré pour la réduction d'alcools.³⁶ Ces conditions réactionnelles ont alors été appliquées sur le mélange des alcools deutérés **193**. Ces derniers ont été traités en milieu réducteur en présence de BF₃•OEt₂ pour conduire à un mélange complexe contenant le produit *gem*-dideutéié **190** attendu mais minoritaire ainsi que les sous-produits **204** et **205** (Schéma 112).



Le sous-produit **204** correspond aux différents isomères dideutérés en positions C₃ et C₂₀. L'addition 1,4 du deutérum suivant un mécanisme S_N2' est à l'origine de leur formation. Le diène conjugué **205** est le produit résultant de la déshydratation de la fonction alcool. Les produits deutérés **190** et **204** ne sont pas séparables par chromatographie sur gel de silice étant donné la polarité extrêmement proche de tous ces produits. **190** a cependant été isolé de ses isomères de position dideutérés par HPLC préparative. Le rendement isolé de **190** est de 7 %.

Bien que le produit gem-dideutééré **190** ait été obtenu grâce au traitement des alcools monodeutérés **193** en présence du couple Et₃SiD/ BF₃•OEt₂, le rendement en produit isolé est trop faible pour poursuivre la synthèse de la catharanthine gem-dideutéérée **189** (étapes de déprotection puis couplage). Nous avons donc envisagé une nouvelle alternative à la synthèse de **190**, plus efficace et permettant de minimiser la formation de **204** et **205**. Nous avons ainsi exploré la réduction de l'alcool allylique préalablement activé sous forme d'acétate par une réaction en voie ionique utilisant le système NaBD₄/Pd(PPh₃)₄.

C.2.b.3 - Méthode ionique en présence de NaBD₄

Keinan a étudié la substitution de l'acétate allylique **206** qui, en présence du système NaBD₄/Pd(PPh₃)₄ dans le THF, conduit au produit deutéré **208** (Schéma 113).³⁷

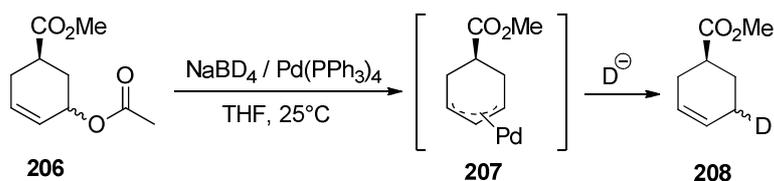


Schéma 113

Le mécanisme réactionnel passe par un processus de type Tsuji-Trost dans lequel le nucléophile est D⁻.³⁸ L'addition du deutérum sur le complexe π-allylique s'effectue préférentiellement en position 1,2. Forts de cette constatation, nous avons envisagé de transposer cette réaction sur la catharanthine monodeutéérée **193** afin d'introduire le second atome de deutérium. L'alcool monodeutééré **193** a été préalablement activé sous forme d'acétate en présence d'anhydride acétique avec un rendement de 95% (Schéma 114).

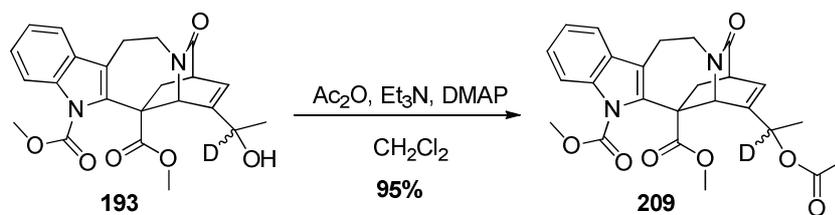


Schéma 114

Les acétates **209** ont été ensuite traités par le système NaBD₄/Pd(PPh₃)₄ dans le THF. Deux ajouts successifs de réducteur permettent une conversion optimale. Dans ces conditions opératoires, seuls les produits **190** et **204** ont été formés, le produit d'élimination **205** n'ayant pas été détecté (Schéma 115).

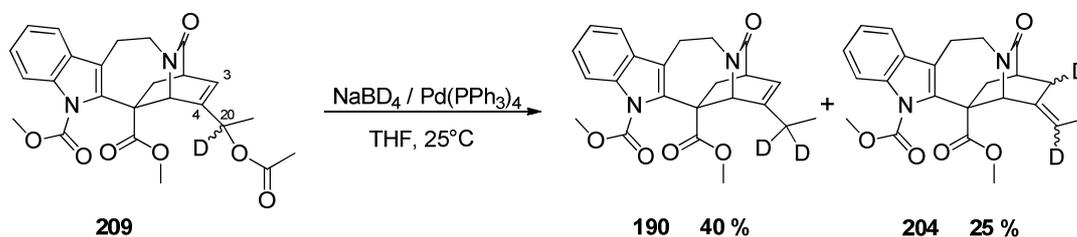


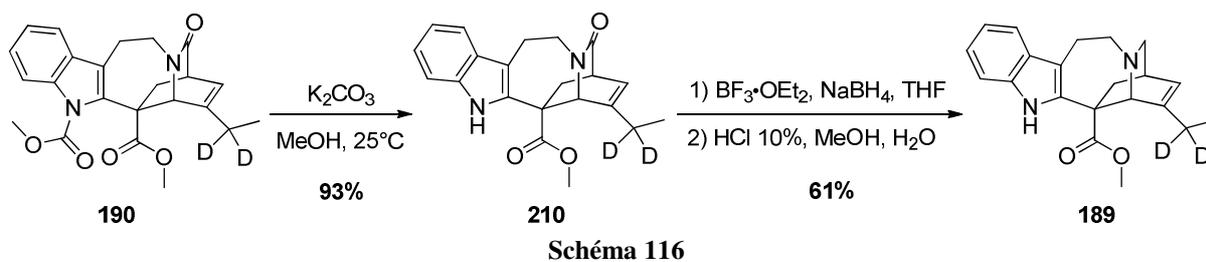
Schéma 115

Le sel de palladium permet une addition 1,2 préférentielle du deutériure sur le complexe π -allylique formé et conduit à la formation majoritaire de **190**. Néanmoins, la présence de **204** montre que l'addition 1,4 est opérante mais proportionnellement moins importante que lors des essais en présence de Et₃SiD. Ces conditions réactionnelles ont permis de minimiser la formation des isomères parasites **204** et d'optimiser le rendement à 40% après purification par HPLC préparative.

A ce stade, nous avons réussi à incorporer régiosélectivement les deux atomes de deutérium sur **190**. Il ne reste plus qu'à effectuer les deux étapes de déprotection des fonctions azotées pour obtenir la catharanthine-20,20-d₂ **189**.

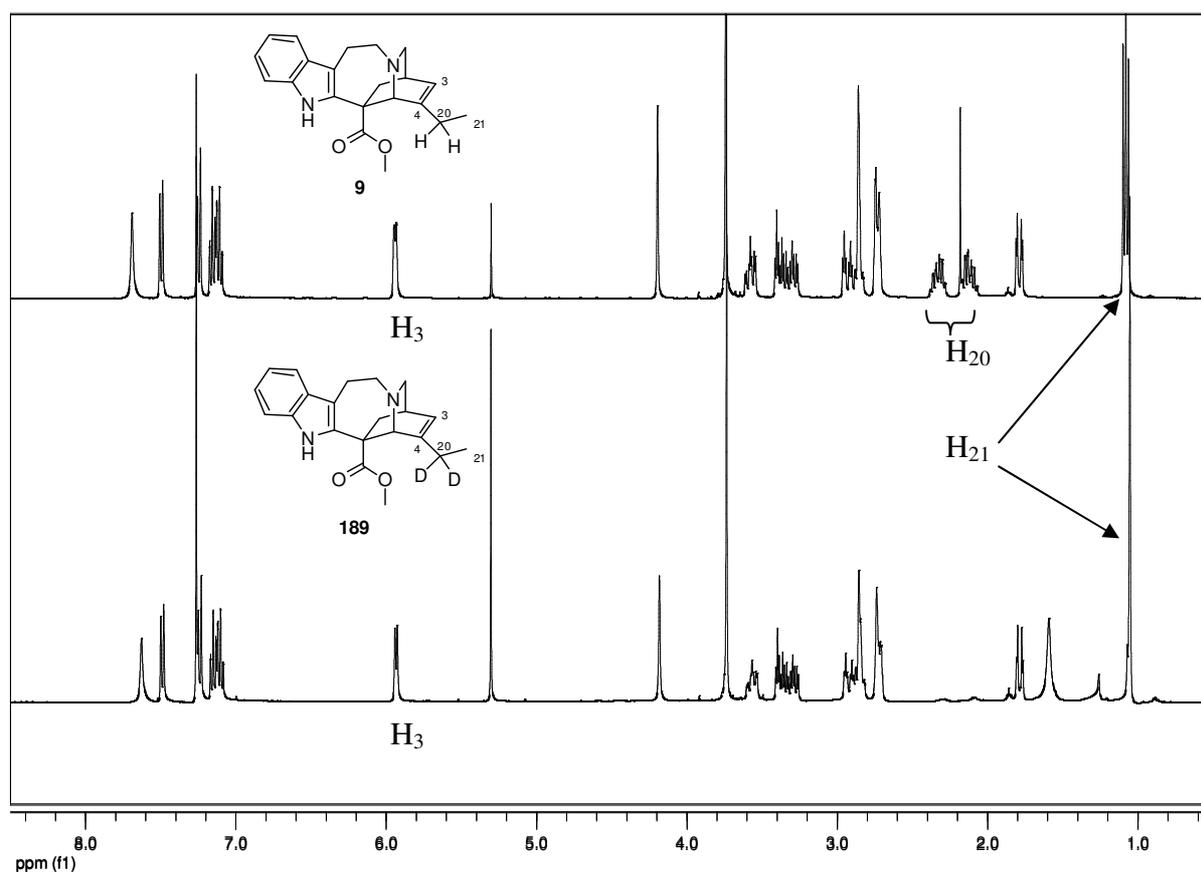
C.2.c - Etapes de déprotection des fonctions azotées

La partie indolique et l'amine tertiaire ont été déprotégées séquentiellement selon les conditions opératoires usuelles qui ont mené successivement aux produits **210** puis **189** avec des rendements respectifs de 93% et 61% (Schéma 116).



La comparaison des spectres RMN ^1H de **7** et **189** montre explicitement la substitution des deux atomes d'hydrogène en position C_{20} par deux atomes de deutérium sur le squelette de la catharanthine (Figure 9).

- Les signaux caractéristiques des protons en position C_{20} ont disparu.
- Les protons en C_{21} ont changé de multiplicité ($t \rightarrow s$) et la multiplicité du proton vinylique C_3 s'est simplifiée ($ddd \rightarrow d$).
- L'effet isotopique est visible sur le déplacement en position C_{21} ($-0,05$ ppm).



La distribution isotopique du composé *gem*-dideutééré **189** mesurée par spectrométrie de masse est la suivante : 10,7% d_0 , 7,6% d_1 , 81,7% d_2 , correspondant ainsi à une incorporation moyenne de 1,71 atomes de deutérium par molécule de catharanthine-20,20- d_2 **189**.

La synthèse de la catharanthine deutérée **189** clôture la synthèse du précurseur du fragment Nord de la 3',4'-anhydrovinblastine-20',20'- d_2 **188**. A cette étape, il reste à effectuer le couplage biomimétique avec la vindoline afin d'obtenir le dimère marqué **188** qui sera notre substrat d'étude de la réaction de fluoration en milieu superacide HF/SbF₅.

C.3 - Synthèse de la 3',4'-anhydrovinblastine-20',20'- d_2

Nous avons transposé le protocole de la synthèse classique de l'AVLB **17** dans le but d'obtenir la 3',4'-anhydrovinblastine-20',20'- d_2 **188**. La catharanthine-20,20- d_2 **189** a été engagée dans une réaction de couplage ferrique avec la vindoline. Le rendement de la réaction (80%) est similaire à celui de la réaction de couplage conduisant à l'AVLB **17** (Schéma 117).

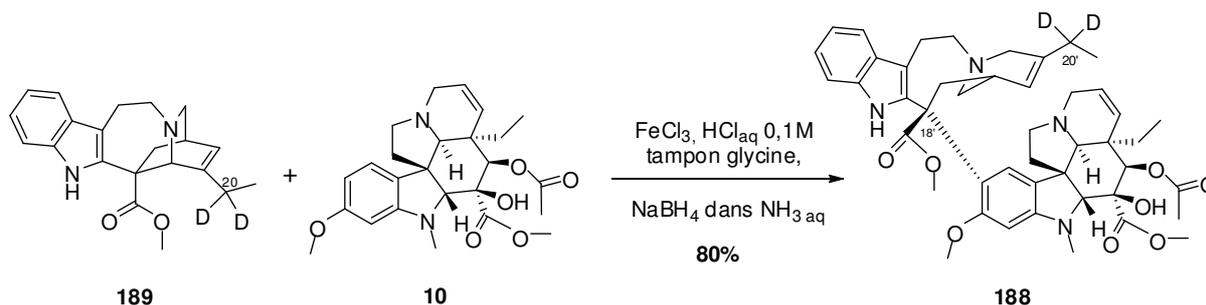


Schéma 117

La comparaison des spectres RMN ¹H de l'AVLB-H₂ **17** et l'AVLB-D₂ **188** montre une homologie structurale avec quelques zones variables due à l'incorporation des atomes de deutérium en position C_{20'} sur **188** (Figure 10 : **comparaison des spectres RMN 1H de 17 et 188**).

- Les signaux caractéristiques des protons en position C₂₀ ont disparu.
- Les protons en C₂₁ ont changé de multiplicité (t → s).
- L'effet isotopique est visible sur le déplacement en position C₂₁ (- 0,15 ppm).

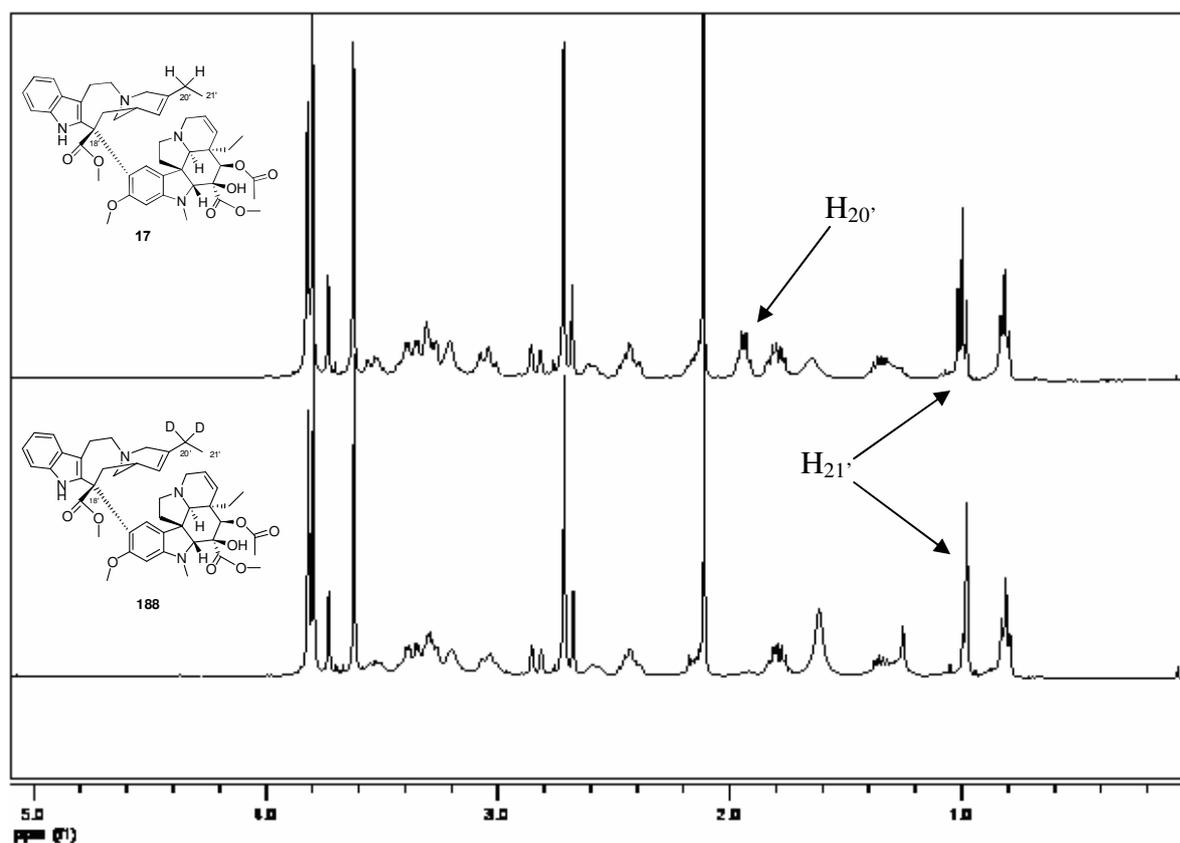


Figure 10 : comparaison des spectres RMN 1H de **17** et **188**.

Le dimère marqué **188** a été obtenu en dix étapes avec un rendement global de 8,6% à partir de la catharanthine **9**. A ce stade, toutes les conditions sont en place pour l'étude mécanistique de la réaction de fluoration en milieu superacide HF/SbF₅.

Nous avons synthétisé en parallèle l'ALVB non deutérée **17** à partir de la catharanthine **9** et de la vindoline. **17** sera fluorée parallèlement afin d'obtenir le dimère *gem*-difluoré **108**, qui servira de référence pour les analyses d'incorporation isotopique à l'issue de l'étape de fluoration.

C.4 - Fluoration de la 3',4'-anhydrovinblastine-20',20'-d₂

C.4.1 - Etape de fluoration

La synthèse en milieu superacide nécessite la manipulation du système HF/SbF₅ qui est extrêmement délicate à mettre en œuvre, ceci étant dû au caractère particulièrement corrosif et toxique du système superacide. La réaction de fluoration n'a pas pu être effectuée au laboratoire pour des questions de logistique. Nous avons ainsi collaboré avec le Pr. Jean-

Marie Coustard ainsi que le Dr. Hélène Carreyre du laboratoire « synthèse et réactivité des substances naturelles » (SRSN) de Poitiers afin de fluorer notre substrat dimérique *gem*-dideutéié **188**. Ce laboratoire possède le matériel adéquat à la mise en place de la réaction de fluoration (réactifs et sorbonne spécialement aménagée) ainsi qu'une expertise établie dans le domaine des milieux superacides puisque que la vinflunine a été découverte en 1997 au SRSN par l'équipe de Jacquesy.

L'AVLB *gem*-dideutéiée **188** a été introduite dans le mélange HF/SbF₅ en présence de CHCl₃ à -35°C. La réaction a été stoppée après 25 minutes puis hydrolysée à 0°C en milieu alcalin afin de neutraliser le milieu superacide (Schéma 118). Le rendement en AVLBF₂ après purification sur gel de silice est de 40%.

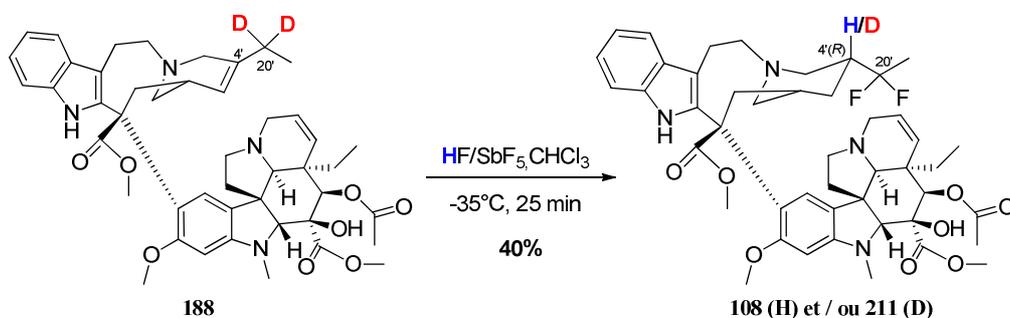


Schéma 118

Les analyses par RMN ¹H et ¹⁹F confirment la présence des deux atomes de fluor en position C_{20'}. Néanmoins, ces premières analyses ne permettent pas de mesurer une incorporation éventuelle de deutérium sur le dimère fluoré. En effet, le déplacement chimique du proton C_{4'} avoisine d'autres massifs en RMN ¹H aux alentours de 2,7 ppm. La mesure de l'incorporation de deutérium, qui se traduirait par une diminution de l'intégration des protons, est difficilement quantifiable à cause de la complexité du spectre RMN dans cette gamme de déplacement chimique.

Nous avons alors mesuré la distribution isotopique sur la position C_{4'} par deux procédés analytiques, quantitativement par utilisation de la spectrométrie de masse et qualitativement par RMN du deutérium.

C.4.2 - Etude du mécanisme de fluoration

C.4.2.a - Analyses de l'incorporation isotopique

L'incorporation isotopique a été mesurée par deux méthodes analytiques complémentaires :

➤ **Mesure quantitative par spectrométrie de masse :**

La distribution isotopique des produits d'arrivée a pu être calculée par la méthode spectrométrique illustrée dans la Figure 11. Notons M le poids moléculaire du dimère fluoré non deutéré **108**, le produit fluoré marqué **211** aura donc un poids moléculaire égal à M+1.

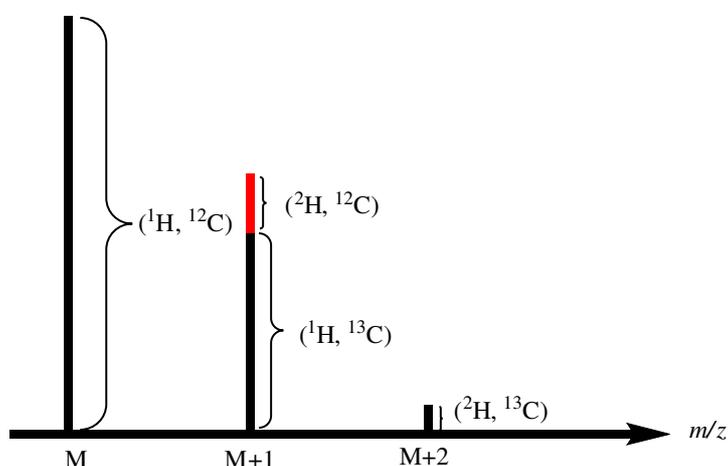


Figure 11 : calcul de l'incorporation isotopique. La contribution de chaque isotope de l'hydrogène et du carbone pour chaque produit est indiquée entre parenthèse.

La méthode de mesure s'est basée sur la mesure de l'intensité du pic correspondant aux rapports m/z M+1 du produit isolé après fluoration de **188**. Or, il faut également considérer la contribution isotopique naturelle du ^{13}C (1,1%) qui ne peut pas être négligée pour une molécule possédant 46 atomes de carbone. Cette contribution est notamment détectable par la présence d'un pic à M+1 avec une intensité voisine de 50% par rapport à celle du pic moléculaire. Il est nécessaire de mesurer en premier lieu l'intensité relative du pic M+1 sur le produit **108** (non marqué) qu'il faut par la suite retrancher à la valeur de l'intensité du pic M+1 de **211**, potentiellement marqué.

Par cette méthode, nous avons mesuré un enrichissement isotopique de 20%. Ce résultat met évidence la présence de deutérium sur l'AVLBF₂ **211**. Néanmoins, nous ne

pouvons pas conclure à ce stade que le mécanisme passant par la migration 1,2 d'hydrure soit opérant. En effet, l'analyse n'indique en aucun cas le site d'incorporation du deutérium sur le squelette de **211**.

➤ **Analyse par RMN du deutérium :**

Le spectre RMN ^2H découplé du proton de **211** indique une unique position marquée dont le déplacement chimique est à 2,60 ppm. Cette valeur est conforme au déplacement chimique attendu de la position du proton en C_4 .

Cependant, la multiplicité observée (singulet) n'est pas en adéquation avec la multiplicité attendue (triplet) étant donné la présence des deux atomes de fluor en α . Deux hypothèses ont été formulées dans le but d'expliquer ce résultat :

- Dans le cas de la vinflunine, la constante de couplage décrite entre le proton en position C_4 et les atomes de fluor en position C_{20} est $J_{\text{H}_4\text{-F}_{20}} = 6,0 \text{ Hz}$.³⁹ Or le facteur gyromagnétique du deutérium est six fois moins important que celui du proton. Nous nous attendons donc à une constante de couplage dans le cas de l'AVLBF₂ deutérée **211** $J_{\text{H}_4\text{-F}_{20}} = 1,0 \text{ Hz}$. Cette très faible constante de couplage n'est pas nécessairement détectable, d'où la multiplicité du signal observée (singulet).
- Une seconde explication serait l'existence d'un angle dièdre entre les liaisons $\text{C}_4\text{-D}$, $\text{C}_4\text{-C}_{20}$ et $\text{C}_{20}\text{-F}$, minimisant ainsi le couplage fluor-deutérium. Si cette hypothèse s'avérait juste, ce résultat donnerait une information supplémentaire sur la conformation du bras éthylénique du fragment Nord dont la position serait figée.

Les résultats obtenus par spectrométrie de masse et RMN ^2H permettent de conclure que 20% du dimère *gem*-difluoré résultant de la fluoration de l'AVLB *gem*-dideutérée **188** incorporent un atome de deutérium en position C_4 . Nous avons ainsi prouvé que la contribution du mécanisme passant par la migration 1,2 d'hydrure intervient au moins à hauteur de 20% pour la formation du carbocation secondaire **182**. Ce résultat sous-entend que le mécanisme passant par l'élimination/reprotonation contribue à hauteur de 80% à la formation de **182**.

Néanmoins, le caractère labile du proton en position C_{4'} exalté par la présence du groupement CF₂ en α associé à la drasticité du milieu superacide soulève la question d'un échange possible deutérium/proton. Nous nous sommes ainsi demandés si la valeur de 80% de produit difluoré non-marqué reflétait convenablement la formation du carbocation secondaire **182** par le mécanisme passant par l'élimination/reprotonation par le milieu ou s'ils étaient générés partiellement par l'échange deutérium/proton dans le milieu superacide. En d'autres termes, y a-t'il phénomène de dilution isotopique (échange du proton en position C_{4'} avec le milieu) pendant la réaction de fluoration (Schéma 119) ?

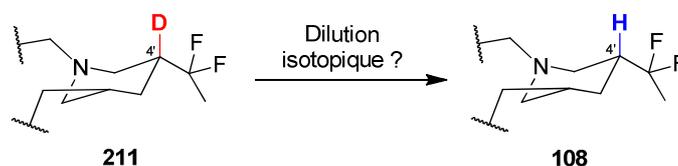


Schéma 119

C.4.2.b - Dilution isotopique

Une approche pour vérifier cette hypothèse aurait été d'introduire le dimère fluoré non marqué **108** dans le milieu superacide DF/SbF₅ en présence de CDCl₃. L'incorporation de deutérium en position C_{4'} nous aurait permis de quantifier une éventuelle dilution isotopique. Cependant, DF est un composé dont la synthèse et la manipulation sont très délicates et extrêmement onéreux. Ces difficultés opératoires nous ont poussés à réengager l'AVLBF₂ deutérée à 20% **211** dans les mêmes conditions expérimentales de fluoration (HF/SbF₅, CHCl₃) et de vérifier une éventuelle dilution isotopique (Schéma 120).

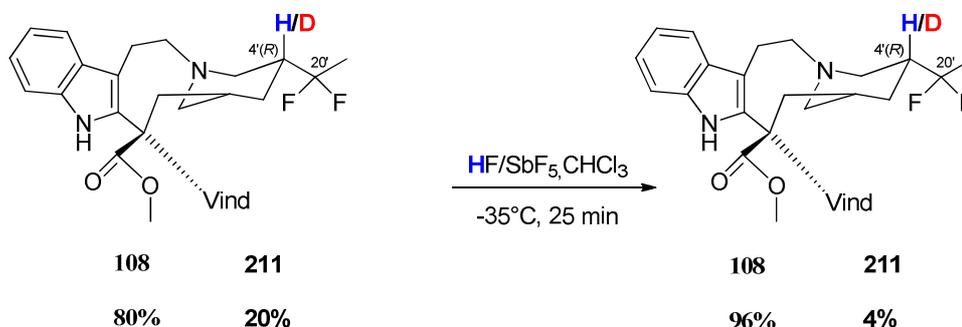


Schéma 120

Après 25 minutes, le milieu est traité, puis purifié sur gel de silice. Nous avons observé très peu de dégradation du dimère fluoré. A l'issue de la purification, une analyse par

spectrométrie de masse du mélange final a montré que les proportions de **108** et **211** ont changé après incubation en milieu superacide. Il reste encore du produit deutéré **211**, mais sa proportion a diminué pour aboutir à 4%. La quasi-totalité (96%) du mélange final n'incorpore plus d'atome de deutérium.

Cependant, il est nécessaire de nuancer ce résultat qui explicite clairement qu'un échange de proton entre position C_{4'} et le milieu réactionnel rentre en jeu lors de la réaction de fluoration en milieu superacide. Le phénomène de dilution isotopique ne permet donc pas de discriminer complètement la contribution des deux mécanismes envisagés.

Nous pouvons conclure que les 20% de produit deutéré difluoré reflètent la contribution *a minima* du mécanisme par migration 1,2 d'hydrure après 25 minutes de réaction. Il aurait été nécessaire de travailler sur des temps plus courts. Cependant, les quantités disponibles d'AVLB dideutérée **188** ne nous ont pas permis d'effectuer cette vérification.

D – Conclusion

La synthèse de la vinflunine par fluoration d'alcaloïdes dimériques de *Vinca* (Navelbine® **105** ou anhydrovinblastine **17**) est une application spectaculaire des milieux superacides. La caractérisation d'intermédiaires réactionnels de la réaction de fluoration a permis d'imaginer deux chemins réactionnels non exclusifs l'un de l'autre pour cette réaction. Nous nous sommes ainsi intéressés à la synthèse de la 3',4'-anhydrovinblastine-20',20'-d₂ **188** dans le but de discriminer les deux voies envisagées (Schéma 121).

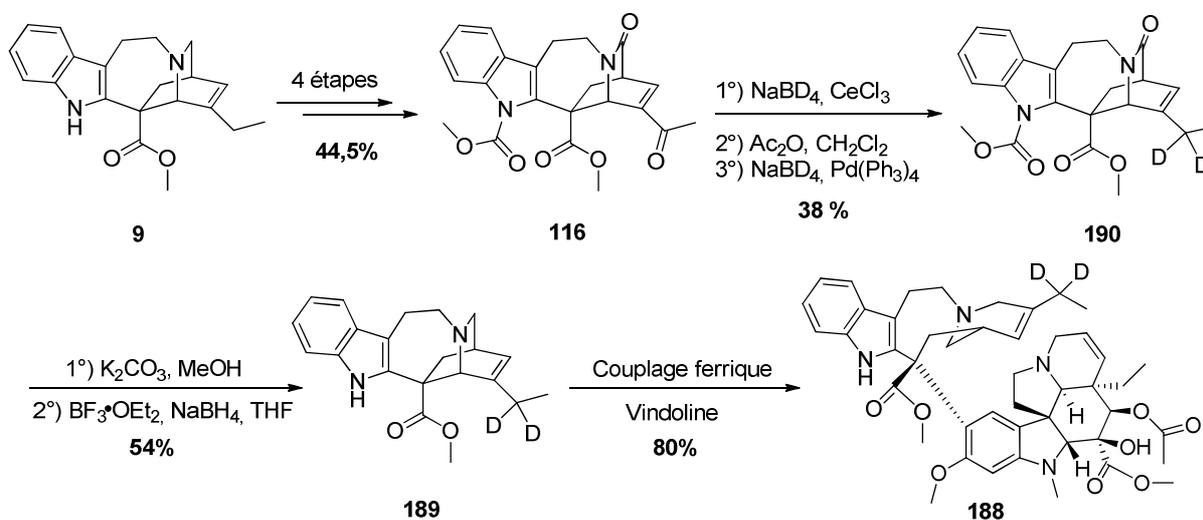
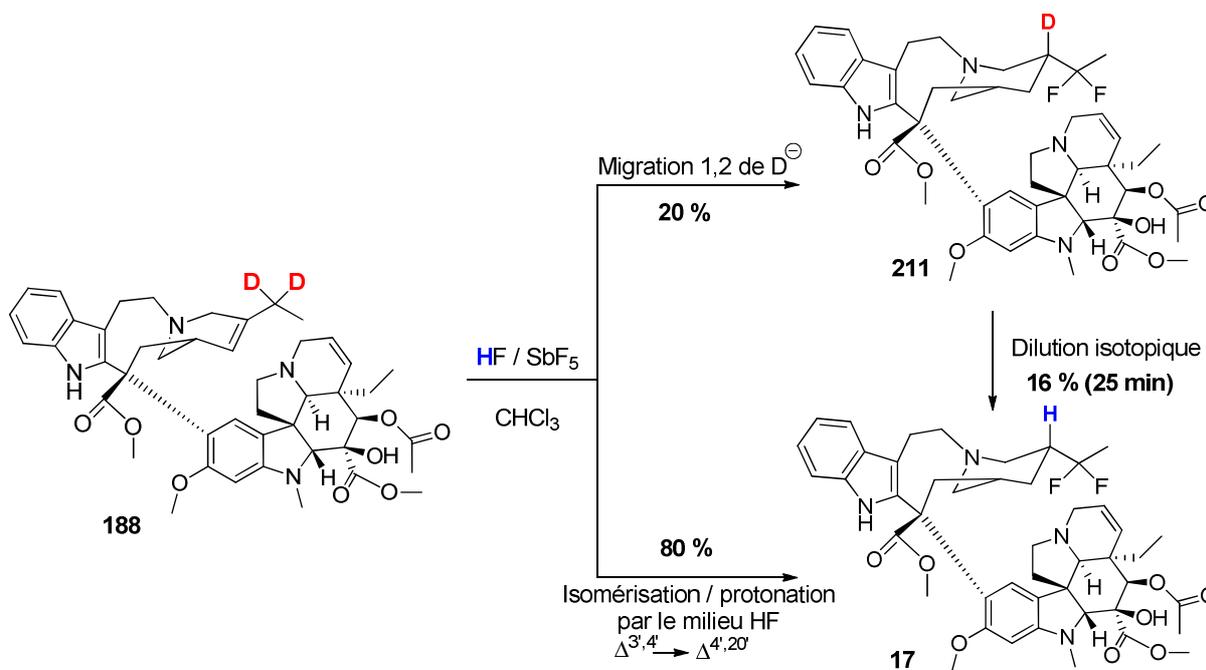


Schéma 121

La synthèse de **188** a été élaborée par un couplage biomimétique entre la vindoline et la catharantine-20,20-*d*₂ **189**. La synthèse de cette dernière s'est appuyée sur deux réactions de réduction successives de l'énone **115**. L'utilisation du couple NaBD₄/CeCl₃ puis du système NaBD₄/Pd(PPh₃)₄ a permis d'incorporer régiosélectivement les deux atomes de deutérium en position C₂₀. La déprotection des fonctions azotées a conduit à la formation de **189** avec un rendement de 9,1 % à partir de la catharantine **9**. Les conditions de couplage ferrique ont permis d'obtenir le substrat dimérique dideutééré **188** souhaité avec un très bon rendement de 80%.

La fluoration en milieu HF/SbF₅/CHCl₃ a conduit à la formation de l'AVLBF₂ dont 20% de produit sont monodeutéérés (Schéma 122). Ce résultat suggère que la fluoration passe par les deux voies mécanistiques postulées.



Cependant, nous avons mis en évidence le phénomène de dilution isotopique dans le milieu au cours de la réaction qui a nuancé la contribution du mécanisme passant par l'isomérisation/reprotonation. Ce résultat pourrait laisser penser que la contribution du mécanisme passant par la migration 1,2 d'hydrure soit plus importante mais reste indéfinie à ce jour. Nous pouvons seulement confirmer sa contribution *a minima* s'élevant à 20%.

Bibliographie du chapitre III

1. Bronsted, J. N., *Acid and Basic Catalysis. Chemical Reviews* **1928**, 5, 231-338.
2. Lewis, G. N.; Randall, M., *J. Am. Chem. Soc.* **1921**, 43, 1112-1154.
3. Hall, N. F.; Conant, J. B., *J. Am. Chem. Soc.* **1927**, 49, 3047-3061.
4. Olah, G. A., "My search for carbocations and their role in chemistry", Nobel Lecture, 1994.
5. Gillespie, R. J., *Acc. Chem. Res.* **1968**, 1, 202-209.
6. Gillespie, R. J.; Peel, T. E.; Robinson, E. A., *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 5083-5087.
7. Gillespie, R. J.; Peel, T. E., *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 5173-5178.
8. Hammett, L. P., *J. Am. Chem. Soc.* **1928**, 50, 2666-2673.
9. Olah, G. A.; Surya Prakash, G. K.; Sommer, J., *Superacids* **1985**, John Wiley and Sons, Ins., New-York, ISBN 0-471-88469-3.
10. Christe, K. O.; Dixon, D. A.; McLemore, D.; Wilson, W. W.; Sheehy, J. A.; Boatz, J. A., *J. Fluorine Chem.* **2000**, 101, 151-153.
11. Gillespie, R. J.; Liang, J., *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 6053-6057.
12. "Organofluorine compounds. Chemistry and application" T. Hiyama, S.-V., **2000**, pp 3-10.
13. Gold, V.; Laali, K.; Morris, K. P.; Zdunek, L. Z., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1985**, 865-870.
14. Bonnet, B.; Mascherpa, G., *Inorganic Chemistry* **1980**, 19, 785-788.
15. Culmann, J.-C.; Fauconet, M.; Jost, R.; Sommer, J., *New Journal of Chemistry* **1999**, 23, 863-867.
16. Sommer, J.; Bukala, J., *Acc. Chem. Res.* **1993**, 26, 370-376.
17. Fahy, J.; Duflos, A.; Ribet, J.-P.; Jacquesy, J.-C.; Berrier, C.; Jouannetaud, M.-P.; Zunino, F., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 8576-8577.
18. Berrier, C.; Jacquesy, J.-C.; Jouannetaud, M.-P.; Lafitte, C. c.; Vidal, Y.; Zunino, F.; Fahy, J.; Duflos, A., *Tetrahedron* **1998**, 54, 13761-13770.
19. Lafitte, C.; Jouannetaud, M.-P.; Jacquesy, J.-C.; Duflos, A., *Tetrahedron* **1999**, 55, 1989-2000.
20. Lafitte, C.; Jouannetaud, M.-P.; Jacquesy, J.-C.; Fahy, J.; Duflos, A., *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 8281-8282.
21. Fahy, J., *Curr. Pharm. Design* **2001**, 7, 1181-1197.
22. Jacquesy, J.-C.; Berrier, C.; Jouannetaud, M.-P.; Zunino, F.; Fahy, J.; Duflos, A.; Ribet, J.-P., *J. Fluorine Chem.* **2002**, 114, 139-141.
23. Jacquesy, J.-C., *J. Fluorine Chem.* **2006**, 127, 1484-1487.
24. Luche, J. L., *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 2226-2227.
25. Hashimoto, M.; Hatanaka, Y., *Chem. Pharm. Bull.* **2004**, 52, 1385-1386.
26. Manring, L. E.; Peters, K. S., *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 6452-6458.
27. Barton, D. H. R.; McCombie, S. W., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1* **1975**, 1574-1585.
28. Honda, T.; Kametani, T.; Kanai, K.; Tatsuzaki, Y.; Tsubuki, M., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1* **1990**, 1733-1737.
29. Horton, D.; Chen, K.; No, Z.; Lee, H. C., *Carbohydrate Research* **2007**, 342, 259-267.
30. Abe, M.; Kenmochi, A.; Ichimaru, N.; Hamada, T.; Nishioka, T.; Miyoshi, H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 779-782.
31. Groneberg, R. D.; Miyazaki, T.; Stylianides, N. A.; Schulze, T. J.; Stahl, W.; Schreiner, E. P.; Suzuki, T.; Iwabuchi, Y.; Smith, A. L.; Nicolaou, K. C., *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 7593-7611.

32. Grieco, P. A.; Clark, J. D.; Jagoe, C. T., *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5488-5489.
33. Grieco, P. A.; Collins, J. L.; Henry, K. J., *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 4735-4738.
34. Pearson, W. H.; Schkeryantz, J. M., *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2986-2987.
35. Wustrow, D. J.; Smith, W. J.; Wise, L. D., *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 61-64.
36. Herz, W.; Tsutsumi, T.; Prasad, J. S., *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 3035-3037.
37. Keinan, E.; Greenspoon, N., *Tetrahedron* **1982**, *23*, 241-244.
38. Hutchins, R. O.; Learn, K.; Fulton, R. P., *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 27-30.
39. Ribet, J., P.; Zalavari, P.; Fahy, J.; Duflos, A.; Beltran, T., *Magn. Reson. Chem.* **2001**, *39*, 43-48.

PARTIE EXPERIMENTALE

THEMATIQUE « ALCALOÏDES DE VINCA »

Généralités

Solvants et réactifs

Toutes les expériences nécessitant des conditions anhydres sont réalisées dans des montages secs (verrerie placée préalablement à l'étuve ou flambée sous vide) sous atmosphère d'azote séché sur carbonate de sodium et gel de silice.

Les solvants anhydres sont obtenus par distillation sous atmosphère d'azote en présence d'agents dessiccants: l'hydruure de calcium pour le dichlorométhane et le sodium couplé à la benzophénone pour l'éther diéthylique et le tétrahydrofurane.

Les réactifs commerciaux sont utilisés sans purification.

Purifications et analyses

Les purifications par chromatographie sur colonne de gel de silice sont réalisées soit par gravité, soit sous pression d'azote ou d'air en utilisant de la silice MERCK (granulométrie 40-63 μm). Le mélange éluant est précisé pour chaque purification.

Les chromatographies analytiques sur couche mince (CCM) sont réalisées sur des plaques de silice MERCK 60 F254 sur support en verre. Les produits sont révélés soit par illumination ultraviolette à 254 nm, soit par réaction en présence de vapeurs d'iode, d'une solution aqueuse de permanganate de potassium et de carbonate de potassium ou encore d'une solution d'acide phosphomolybdique à 5% en masse dans l'éthanol.

Les points de fusion sont mesurés en capillaire avec un appareil Büchi 535.

Les spectres de résonances magnétiques nucléaires (RMN) ^1H et ^{13}C ainsi que les expériences complémentaires (DEPT 135, COSY, HSQC, NOESY) ont été enregistrés sur un spectromètre à ondes pulsées BRUKER DPX 400 MHz équipé d'un ordinateur Advanced. Les fréquences de résonances des noyaux sont respectivement égales à 400,13 MHz pour le proton et 100,61MHz pour le carbone 13.

Les déplacements chimiques δ sont exprimés en parties par million (ppm) et les constantes de couplage J en Hertz (Hz). Les références utilisées sont respectivement le proton du chloroforme ($\delta = 7,26$ ppm) ou ceux du tétraméthylsilane ($\delta = 0,00$ ppm) en RMN ^1H et le carbone 13 du chloroforme deutéré ($\delta = 77,0$ ppm) en RMN ^{13}C .

Dans la description des spectres, les multiplicités des signaux sont abrégées comme suit: s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), quint (quintuplet), dd (doublet de doublets), ddd

(doublet de doublets dédoublé), dddd (doublet dédoublé de doublets dédoublés), dt (doublet de triplets), td (triplet de doublets), m (multiplet de nature indéterminée ou massif résultant de la superposition de différents signaux). Les autres abréviations utilisées concernent la forme des signaux ou la nature des noyaux auxquels ils correspondent: l (signal élargi), app. (signal apparent), arom. (aromatique), quat. (quaternaire), sp2(trigonal).

La numérotation utilisée pour l'attribution des différents signaux correspond aux recommandations de l'IUPAC. Elle est reportée sur la structure des différents produits. Chaque proton porte le numéro de l'atome de carbone ou d'azote auquel il est attaché.

Les spectres d'absorption infrarouge (IR) sont enregistrés sur un spectromètre PERKIN ELMER System 2000 FT-IR. Les composés, solides, sont inclus dans une pastille de KBr. Les nombres d'onde des bandes d'absorption correspondant aux différentes vibrations sont exprimés en cm^{-1} , à leurs intensités maximales.

Les spectres de masse (SM) sont obtenus par électrospray sur un spectromètre ESI TOF MARINER. Dans la description des spectres, « M » représente la molécule analysée. Lorsqu'un atome de brome est présent, « M' » et « M'' » sont les deux formes isotopomères principales de la molécule, différant par leur atome de brome.

Les mesures des enrichissements isotopiques au deutérium sont réalisés à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN) de Gif-sur-Yvette par électrospray sur un spectromètre ESI TOF Waters LCT. L'injection a été faite en mode FIA (Flow Injection Analysis) à l'aide d'une chaîne HPLC Waters Alliance 2795.

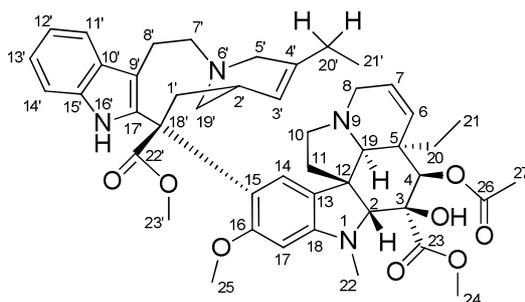
Les spectres de masse haute résolution (SMHR) sont réalisés à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN) de Gif-sur-Yvette.

Les pouvoirs rotatoires sont mesurés à l'aide d'un polarimètre PERKIN ELMER 341 en utilisant comme source lumineuse monochromatique la raie D du sodium à 589 nm. Ils sont calculés selon la loi de Biot :

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{l \times c}$$

$[\alpha]_D^{20}$: pouvoir rotatoire spécifique à 20°C
 α : pouvoir rotatoire lu sur le polarimètre
 l : longueur de la cuve (dm)
 c : concentration (g pour 100 mL de solvant)

Les structures moléculaires sont déterminées par diffraction des rayons X, sur monocristaux au Laboratoire de Cristallographie du Service de Chimie Moléculaire (DSM/DRECAM) du CEA/Saclay.

Anhydrovinblastine (17)

M = 792,96 g.mol⁻¹

100 mg de catharanthine **9** (0,30 mmol, 1 équiv.) est mise en solution dans 6 mL d'une solution tampon à la glycine (préparée par dissolution de 0,75 g de glycine et de 0,585 g de NaCl pour 100 mL d'eau) et 10 mL d'une solution aqueuse 0,1 M d'acide chlorhydrique y sont ajoutés. Après dissolution complète, 136 mg de vindoline **10** (0,30 mmol, 1 équiv.) sont additionnés en une seule portion. Lorsque la solution est limpide, 243 mg de FeCl₃ (1,5 mmol, 5 équiv.) sont ajoutés en une seule fois et le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 18 heures. 17,2 mg de NaBH₄ (0,45 mmol, 1,5 équiv.) en solution dans 1,5 mL d'une solution d'ammoniaque à 28% sont ajoutés pour réduire et neutraliser le milieu, placé sous forte agitation pendant 10 minutes. Puis 3 mL de CH₂Cl₂ et 3 mL d'une solution aqueuse saturée en tartrate de sodium et de potassium sont additionnés. Au bout d'une heure d'agitation vigoureuse, le mélange réactionnel est extrait par 3x5 mL de CH₂Cl₂. Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂/MeOH 97/3) pour donner 190 mg du dimère **17** (0,24 mmol, 80%) sous la forme d'un solide blanc.

R_f 0,22 (CH₂Cl₂/MeOH 97/3).

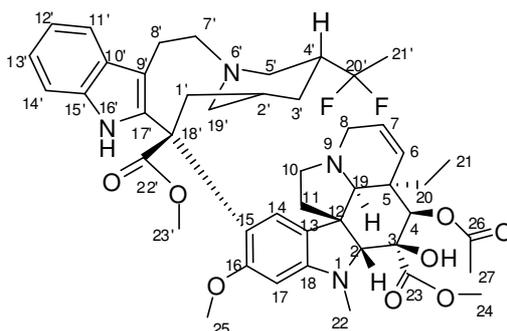
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 9,86 (sl, 1H, OH) ; 8,01 (s, 1H, NH) ; 7,51 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H, H_{11'}) ; 7,16-7,10 (m, 3H, H_{12'}, H_{13'} et H_{14'}) ; 6,61 (s, 1H, H₁₄) ; 6,11 (s, 1H, H₁₇) ; 5,84 (dd, *J* = 10,1 Hz, *J* = 4,0 Hz, 1H, H₇) ; 5,45 (sl, 2H, H₄ et H_{3'}) ; 5,30 (d, *J* = 6,1 Hz, 1H, H₆) ; 3,81 (s, 3H, 3xH_{23'} ou 3xH₂₄) ; 3,79 (s, 3H, 3xH_{23'} ou 3xH₂₄) ; 3,72 (s, 1H, H₂) ; 3,61 (s, 3H, 3xH₂₅) ; 3,52 (d app., *J* = 16,5 Hz, 1H, H_{5'}) ; 3,39-3,17 (m, 7H, H₈, H₁₀, H_{5'}, 2xH_{7'}, H_{8'} et H_{19'}) ; 3,11-2,96 (m, 2H, H_{1'} et H_{8'}) ; 2,82 (d app., *J* = 16,5 Hz, 1H, H₈) ; 2,70 (s, 3H, 3xH₂₂) ; 2,67 (s, 1H, H₁₉) ; 2,55 (d app., *J* = 13,4 Hz, 1H, H_{19'}) ; 2,47-2,36 (m, 2H, H₁₀ et H_{1'}) ; 2,15-2,08 (m, 1H, H₁₁) ; 2,10 (s, 3H, 3xH₂₇) ; 1,92 (dd, *J* = 14,9 Hz, *J* = 7,6 Hz, 2H, 2xH_{20'}) ; 1,84-1,74 (m, 2H,

H₁₁ et H₂₀) ; 1,37-1,21 (m, 2H, H₂₀ et H₂) ; 0,98 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H, 3xH₂₁) ; 0,80 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H, H₂₁).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 174,7 (C₂₂) ; 171,7 (C₂₆) ; 170,0 (C₂₃) ; 158,1 (C₁₆) ; 152,8 (C₁₈) ; 140,1 (C₄) ; 135,0 (C₁₅) ; 131,0 (C₁₇) ; 130,1 (C₆) ; 129,5 (C₁₀) ; 124,5 (C₇) ; 123,9 (C₃) ; 123,6 (C₁₄) ; 122,9 (C₁₃) ; 122,3 (C₁₂) ; 121,2 (C₁₅) ; 118,9 (C₁₃) ; 118,4 (C₁₁) ; 117,3 (C₉) ; 110,5 (C₁₄) ; 94,3 (C₁₇) ; 83,4 (C₂) ; 79,7 (C₃) ; 76,5 (C₄) ; 65,6 (C₁₉) ; 55,9 (C₂₅) ; 55,5 (C₁₈) ; 54,5 (C₇) ; 53,3 (C₁₂ et C₂₃) ; 52,2 (C₂₄) ; 52,1 (C₅) ; 50,3 (C₈ et C₁₀) ; 45,9 (C₁₉) ; 44,6 (C₁₁) ; 42,7 (C₅) ; 38,4 (C₂₂) ; 34,4 (C₁) ; 33,0 (C₂) ; 30,8 (C₂₀) ; 27,8 (C₂₀) ; 25,9 (C₈) ; 12,3 (C₂₁) ; 8,4 (C₂₁).

SM (ESI+ TOF) : 794 [M+H]⁺ (100).

IR (pastille KBr) : 3458 ; 2963 ; 2878 ; 1739 ; 1732 ; 1660 ; 1615 ; 1505 ; 1462 ; 1434 ; 1372 ; 1232 ; 1040 ; 991 ; 732.

20',20'-difluoro-3',4'-dihydroanhydrovinblastine (108)

$$M = 830,96 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

Dans un ballon en téflon refroidi à -35°C , 0,8 mL du mélange HF/SbF₅ (3/1 v/v) est ajouté à 50 mg d'ALVB **17** (63,05 μmol , 1 équiv.). Le milieu est agité vigoureusement puis 0,1 mL de CHCl₃ est y ajouté goutte-à-goutte. Après 25 minutes à -35°C , le milieu est versé avec précaution dans un mélange de glace et d'une solution aqueuse (20 mL) de Na₂CO₃ (4 g, 37 mmol, 600 équiv.). Après hydrolyse, le mélange est extrait par 4x15 mL de CH₂Cl₂. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées puis concentrées sous pression réduite. Le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (Toluène/ Acétone 85/15) pour conduire à 21 mg du dimère **108** (25,2 μmol , 40%) sous la forme d'un solide blanc.

R_f 0,24 (Toluène/ Acétone 85/15).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 9,84 (s, 1H, OH) ; 8,02 (s, 1H, NH) ; 7,50 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H, H_{11'}) ; 7,20-7,09 (m, 3H, H_{12'}, H_{13'} et H_{14'}) ; 6,62 (s, 1H, H₁₄) ; 6,11 (s, 1H, H₁₇) ; 5,85 (dd, $J = 9,7$ Hz, $J = 3,6$ Hz, 1H, H₇) ; 5,46 (s, 1H, H₄) ; 5,31 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H, H₆) ; 3,81 (s, 3H, 3xH_{23'} ou 3x H₂₄) ; 3,79 (s, 3H, 3xH_{23'} ou 3x H₂₄) ; 3,75 (s, 1H, H₂) ; 3,62 (s, 3H, 3xH₂₅) ; 3,45-3,10 (m, 10H, H₈, H₁₀, H_{5'}, 2xH_{7'}, H_{1'}, H_{5'}, 2xH_{8'} et H_{19'}) ; 2,85-2,75 (m, 2H, H_{4'} et H₈) ; 2,72 (s, 3H, 3xH₂₂) ; 2,68 (s, 1H, H₁₉) ; 2,54-2,40 (m, 2H, H_{1'} et H₁₀) ; 2,31-2,10 (m, 2H, H₁₁ et H_{19'}) ; 2,11 (s, 3H, 3xH₂₇) ; 1,82-1,60 (m, 3H, H₁₁ et 2xH_{3'}) ; 1,52 (dd, $J = 18,0$ Hz, $J = 18,0$ Hz, 3H, 3xH_{21'}) ; 1,45-1,30 (m, 2H, 2xH₂₀) ; 0,90-0,80 (m, 1H, H₂) ; 0,82 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H, H₂₁).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 174,8 (C_{22'}) ; 171,6 (C₂₆) ; 170,9 (C₂₃) ; 158,0 (C₁₆) ; 152,7 (C₁₈) ; 135,0 (C_{15'}) ; 130,5 (C_{17'}) ; 130,0 (C₆) ; 129,2 (C_{10'}) ; 125,1 (t, $J = 220$ Hz, C_{20'}) ; 124,5 (C₇) ; 123,3 (C₁₄) ; 122,7 (C₁₃) ; 122,4 (C_{12'}) ; 120,9 (C₁₅) ; 118,9 (C_{13'}) ; 118,3 (C_{11'}) ; 117,0 (C_{9'}) ; 110,5 (C_{14'}) ; 94,1 (C₁₇) ; 83,3 (C₂) ; 79,7 (C₃) ; 76,4 (C₄) ; 65,4 (C₁₉) ; 56,7 (C_{7'}) ; 55,8

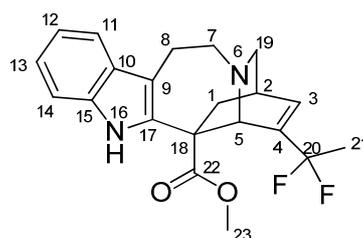
(C₂₅) ; 55,4 (C_{18'}) ; 53,3 (C_{5'}) ; 53,2 (C₁₂) ; 52,4 (C_{23'}) ; 52,2 (C₂₄) ; 50,2 (C₈) ; 50,2 (C₁₀) ; 47,3 (C_{19'}) ; 44,6 (C₁₁) ; 42,6 (C₅) ; 38,7 (t, 21 Hz, C_{4'}) ; 38,3 (C₂₂) ; 33,3 (C_{8'}) ; 31,2 (C_{3'}) ; 30,8 (C₂₀) ; 29,2 (C_{2'}) ; 29,1 (C_{1'}) ; 21,3 (t, $J = 24\text{Hz}$, C_{21'}) ; 21,1 (C₂₇) ; 8,3 (C₂₁).

RMN ¹⁹F (400 MHz, CDCl₃) : -95,4 (d, $J = 268,0\text{ Hz}$, 1F) ; -97,24 (d, $J = 268,0\text{ Hz}$, 1F)

IR (pastille KBr) : 3461, 2944, 1758, 1621, 1532, 1467, 1428, 1379, 1020, 887.

SM (ESI+ TOF) : 832 [M+H]⁺ (100).

SMHR (ESI+TOF) :	Masse calculée pour [C ₄₆ H ₅₇ F ₂ N ₂ O ₂] ⁺	831,4144
	Masse trouvée	831,4148

20',20'-difluorocatharanthine (110)

C₂₁H₂₂F₂N₂O₂

M = 372,41 g.mol⁻¹

R_f 0,54 (CH₂Cl₂/MeOH 95/5)

F = 70°C-72°C

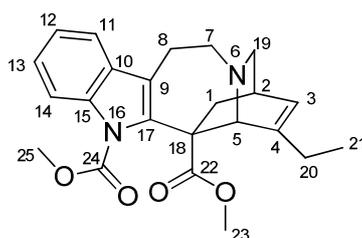
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 7,68 (s, 1H, H₁₆) ; 7,52 (d app., *J* = 8,0 Hz, 1H, H₁₁) ; 7,26 (d app., *J* = 8,0 Hz, 1H, H₁₄) ; 7,18 (ddd, *J* = 8,0 Hz, *J* = 7,0 Hz, *J* = 1,0 Hz, 1H, H₁₃) ; 7,12 (ddd, *J* = 8,0 Hz, *J* = 7,0 Hz, *J* = 1,0 Hz, 1H, H₁₂) ; 6,63-6,58 (m, 1H, H₃) ; 4,63 (d, *J* = 1,0 Hz, 1H, H₅) ; 3,70 (s, 3H, 3xH₂₃) ; 3,61 (ddd, *J* = 14,0 Hz, *J* = 10,5 Hz, *J* = 4,5 Hz, 1H, H₇) ; 3,41 (ddd, *J* = 14,0 Hz, *J* = 5,0 Hz, *J* = 4,5 Hz, 1H, H₇) ; 3,30 (ddd, *J* = 16,5 Hz, *J* = 10,5 Hz, *J* = 5,0 Hz, 1H, H₈) ; 3,00 (ddd, *J* = 16,5 Hz, *J* = 4,5 Hz, *J* = 4,5 Hz, 1H, H₈) ; 2,90-2,83 (m, 3H, H₂ et 2xH₁₉) ; 2,79 (ddd, *J* = 13,0 Hz, *J* = 3,0 Hz, *J* = 2,5 Hz, 1H, H₁) ; 1,82 (dd, *J* = 18,0 Hz, *J* = 18,0 Hz, 3H, 3xH₂₁) ; 1,79 (d app., *J* = 13,0 Hz, 1H, H₁).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 173,5 (C₂₂) ; 143,3 (t, *J* = 28,0 Hz, C₄) ; 136,2 (C quat. arom.) ; 135,3 (C quat. arom.) ; 132,1 (t, *J* = 9,0 Hz, C₃) ; 128,8 (C quat. arom.) ; 122,1 (C₁₃) ; 119,8 (dd, *J* = 232,0 Hz, C₂₀) ; 119,5 (C₁₂) ; 118,4 (C₁₁) ; 110,6 (C quat. arom.) ; 110,4 (C₁₄) ; 57,1 (C₅) ; 55,3 (C₁₈) ; 52,8 (C₂₃) ; 52,4 (C₇) ; 47,1 (C₁₉) ; 37,0 (C₁) ; 30,8 (C₂) ; 22,6 (t, *J* = 28,0 Hz, C₂₁) ; 21,6 (C₈).

IR (pastille KBr) : 3373, 2849, 1714, 1461, 1275, 1172, 743.

SM (ESI+ TOF) : 353 [M-HF+H]⁺ (4) ; 373 [M+H]⁺ (100).

SMHR (ESI+TOF) :	Masse calculée pour [C ₂₁ H ₂₃ F ₂ N ₂ O ₂] ⁺	373,1728
	Masse trouvée	373,1728

N-méthoxycarbonylcatharantine (113)

M = 394,46 g.mol⁻¹

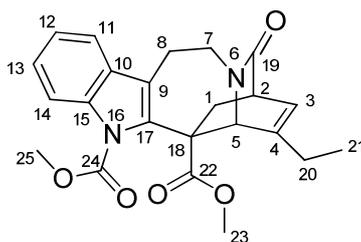
De l'hydrure de potassium en suspension dans de l'huile minérale (5,00 g, 30% en masse de KH, 37,0 mmol, 2,5 équiv.) est lavé à l'heptane, séché sous vide et suspendu dans 30 mL de THF. Une solution de 5,00 g de catharantine **9** (14,8 mmol, 1 équiv.) dans 50 mL de THF y est ajoutée goutte-à-goutte à 0°C. Après 30 min sous agitation à cette température, 2,9 mL de chloroformate de méthyle (37,0 mmol, 2,5 équiv.) sont additionnés goutte-à-goutte. La réaction est poursuivie pendant 1 h à 0°C puis 18 h à température ambiante. Elle est stoppée par ajout de 30 mL d'une solution aqueuse saturée en K₂CO₃ et 30 mL d'une solution aqueuse saturée en NaCl. Le milieu est extrait par 2x40 mL de Et₂O puis 2x40 mL de CH₂Cl₂. Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et évaporées sous vide. Le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : CH₂Cl₂/MeOH 97/3) pour aboutir à 5,04 g de **113** (12,7 mmol, 86%) sous la forme d'un solide blanc.

R_f 0,47 (CH₂Cl₂/MeOH 95/5)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 8,12 (d app., *J* = 8,0 Hz, 1H, H₁₄) ; 7,51 (d app., *J* = 7,0 Hz, 1H, H₁₁) ; 7,35-7,25 (m, 2H, H₁₂ et H₁₃) ; 6,00 (d app., *J* = 5,5 Hz, 1H, H₃) ; 4,23 (s, 1H, H₅) ; 3,89 (s, 3H, 3xH₂₅) ; 3,66 (ddd, *J* = 12,0 Hz, *J* = 5,0 Hz, *J* = 3,0 Hz, 1H, H₇) ; 3,55 (s, 3H, 3xH₂₃) ; 3,25 (ddd, *J* = 16,0 Hz, *J* = 13,5 Hz, *J* = 5,0 Hz, 1H, H₈) ; 3,05 (ddd, *J* = 8,0 Hz, *J* = 3,0 Hz, *J* = 2,5 Hz, 1H, H₁₉) ; 3,01 (ddd, *J* = 16,0 Hz, *J* = 4,0 Hz, *J* = 3,0 Hz, 1H, H₈) ; 2,91 (ddd, *J* = 13,5 Hz, *J* = 12,0 Hz, *J* = 4,0 Hz, 1H, H₇) ; 2,69 (ddd, *J* = 10,5 Hz, *J* = 3,0 Hz, *J* = 3,0 Hz, 1H, H₁) ; 2,68-2,62 (m, 1H, H₂) ; 2,49 (d app., *J* = 8,0 Hz, 1H, H₁₉) ; 2,26 (dq, *J* = 17,0 Hz, *J* = 7,5 Hz, *J* = 2,0 Hz, 1H, H₂₀) ; 1,92 (dq, *J* = 17,0 Hz, *J* = 7,5 Hz, *J* = 2,0 Hz, 1H, H₂₀) ; 1,73 (d app., *J* = 10,5 Hz, 1H, H₁) ; 1,09 (dd, *J* = 7,5 Hz, *J* = 7,5 Hz, 3H, 3xH₂₁).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 172,9 (C₂₂) ; 151,8 (C₂₄) ; 147,3 (C quat. Sp²) ; 138,5 (C quat. Sp²) ; 135,9 (C quat. Sp²) ; 129,5 (C quat. Sp²) ; 124,6 (C₁₃) ; 123,4 (C₃) ; 122,8 (C₁₂) ; 119,6

(C quat. Sp²) ; 118,2 (C₁₂) ; 115,5 (C₁₄) ; 58,6 (C₅) ; 55,9 (C₁₉) ; 55,8 (C₁₈) ; 53,1 (C₂₅) ; 52,7 (C₇) ; 52,1 (C₂₃) ; 38,3 (C₁) ; 31,5 (C₂) ; 26,7 (C₂₀) ; 21,9 (C₈) ; 10,4 (C₂₁).

N-méthoxycarbonyl-19-oxocatharanthine (114)

$$M = 408,46 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

A 30 mL d'une solution aqueuse de 6,71 g de Na_2CO_3 (63,2 mmol, 9,3 équiv.) sont ajoutés 2,68 g de **113** (6,8 mmol, 1 équiv.) dissous dans 30 mL de THF. Une solution de 8,0 g de I_2 (31,2 mmol, 4,6 équiv.) dans 40 mL de THF est additionnée goutte-à-goutte à 0°C. Le milieu réactionnel est ramené à température ambiante et agité pendant 18 h. 50 mL d'une solution aqueuse saturée en $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ sont ajoutés pour arrêter l'oxydation. Au bout de 30 minutes, le milieu est extrait par 3x50 mL de CH_2Cl_2 . Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na_2SO_4 , filtrées et concentrées sous pression réduite. Le brut est purifié par chromatographie sur silice (éluant: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98/2) pour conduire à 2,56 g de **114** (6,26 mmol, 92%) sous la forme d'un solide blanc.

R_f 0,53 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/5).

F = 154°C-156°C.

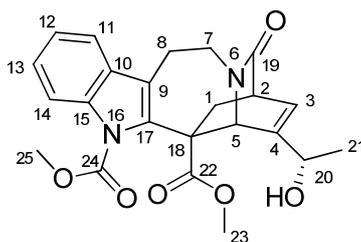
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : 8,05 (d app., $J = 8,0$ Hz, 1H, H_{14}) ; 7,51 (dd, $J = 7,0$ Hz, $J = 1,0$ Hz, 1H, H_{11}) ; 7,34 (ddd, $J = 8,0$ Hz, $J = 7,5$ Hz, $J = 1,0$ Hz, 1H, H_{13}) ; 7,29 (ddd, $J = 7,5$ Hz, $J = 7,0$ Hz, $J = 1,5$ Hz, 1H, H_{12}) ; 6,23 (dddd, $J = 6,5$ Hz, $J = 2,0$ Hz, $J = 2,0$ Hz, $J = 1,5$ Hz, 1H, H_3) ; 4,88 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, H_5) ; 4,18-4,08 (m, 1H, H_7) ; 3,95 (s, 3H, 3x H_{25}) ; 3,63 (s, 3H, 3x H_{23}) ; 3,44 (ddd, $J = 6,5$ Hz, $J = 2,5$ Hz, $J = 2,5$ Hz, 1H, H_2) ; 3,39-3,20 (m, 3H, H_7 et 2x H_8) ; 2,81 (dd, $J = 13,0$ Hz, $J = 2,5$ Hz, 1H, H_1) ; 2,18 (dq, $J = 17,0$ Hz, $J = 7,5$ Hz, $J = 2,0$ Hz, 1H, H_{20}) ; 2,04 (dq, $J = 17,0$ Hz, $J = 7,5$ Hz, $J = 1,5$ Hz, 1H, H_{20}) ; 1,97 (dd, $J = 13,0$ Hz, $J = 2,5$ Hz, 1H, H_1) ; 1,11 (dd, $J = 7,5$ Hz, $J = 7,5$ Hz, 3H, 3x H_{21}).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 174,5 (C_{19} ou C_{22}) ; 171,9 (C_{19} ou C_{22}) ; 151,8 (C_{24}) ; 144,1 (C quat. Sp^2) ; 136,7 (C quat. Sp^2) ; 135,3 (C quat. Sp^2) ; 129,3 (C quat. Sp^2) ; 125,6 (C_3) ; 125,0 (C_{13}) ; 123,0 (C_{12}) ; 118,3 (C_{11}) ; 116,8 (C quat. Sp^2) ; 115,7 (C_{14}) ; 59,0 (C_5) ; 57,7 (C_{18}) ; 53,4 (C_{25}) ; 52,4 (C_{23}) ; 44,1 (C_2) ; 41,0 (C_7) ; 37,8 (C_1) ; 26,5 (C_{20}) ; 21,1 (C_8) ; 11,0 (C_{21}).

SM (ESI+ TOF) : 431 [M+Na]⁺ (100) ; 839 [2M+Na]⁺ (14).

SMHR (ESI+ TOF) :	Masse calculée pour [C ₂₃ H ₂₄ N ₂ NaO ₅] ⁺	431,1583
	Masse trouvée	431,1365

$[\alpha]_D^{20} = + 141$ (c = 1,9 ; CHCl₃).

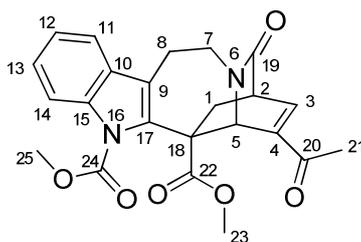
(20S)-N-méthoxycarbonyl-20(S)-hydroxy-19-oxocatharanthine (115)

$$M = 424,45 \text{ g.mol}^{-1}$$

Dans un tube en verre épais (« pressure tube ») de 30 mL, 2,0 g de catharanthine protégée **114** (4,90 mmol, 1 équiv.) sont dissous dans 20 mL d'éthanol à 95%. 2,72 g de dioxyde de sélénium (24,51 mmol, 5 équiv.) y sont ajoutés. Le tube est fermé hermétiquement à l'aide d'un bouchon en téflon (équipé d'un joint) et placé à 120°C (température du bain d'huile), sous agitation magnétique. Après 24 h, le tube est ramené à 25°C, 1,64 g de SeO₂ (14,74 mmol, 3 équiv.) sont ajoutés en une fois et le milieu est placé à nouveau sous pression à 120°C. Cette opération est répétée une fois, au bout de 24 h. Après 72 h de réaction au total, le produit de départ est entièrement consommé. Le milieu réactionnel est ramené à 25°C, dilué dans 90 mL de Et₂O et lavé à l'aide de 100 mL d'une solution aqueuse saturée en NaCl. La phase aqueuse est extraite par 3x50 mL de Et₂O. Les phases étherées réunies sont séchées sur Na₂SO₄, puis filtrées et évaporées sous pression réduite. Le brut est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : CH₂Cl₂/MeOH 98/2 puis 95/5) pour donner 1,26 g (2,97 mmol, 61 %) d'un solide blanc correspondant à l'alcool allylique **115**.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 8,02 (d app., $J = 8,0$ Hz, 1H, H₁₄) ; 7,51 (dd, $J = 7,0$ Hz, $J = 1,0$ Hz, 1H, H₁₁) ; 7,34 (ddd, $J = 8,0$ Hz, $J = 7,5$ Hz, $J = 1,0$ Hz, 1H, H₁₃) ; 7,29 (ddd, $J = 7,5$ Hz, $J = 7,0$ Hz, $J = 1,0$ Hz, 1H, H₁₂) ; 6,42 (dd, $J = 6,5$ Hz, $J = 2,0$ Hz, 1H, H₃) ; 5,26 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, H₅) ; 4,39 (qd, $J = 6,5$ Hz, $J = 3,5$ Hz, 1H, H₂₀) ; 4,17-4,06 (m, 1H, H₇) ; 3,96 (s, 3H, 3xH₂₅) ; 3,58 (s, 3H, 3xH₂₃) ; 3,45 (ddd, $J = 6,5$ Hz, $J = 3,0$ Hz, $J = 2,5$ Hz, 1H, H₂) ; 3,41-3,20 (m, 3H, H₇ et 2xH₈) ; 2,80 (dd, $J = 13,0$ Hz et $J = 2,5$ Hz, 1H, H₁) ; 2,04 (dd, $J = 13,0$ Hz et $J = 3,0$ Hz, 1H, H₁) ; 1,88 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H, OH) ; 1,34 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H, 3xH₂₁).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 174,2 (C₁₉ ou C₂₂) ; 173,8 (C₁₉ ou C₂₂) ; 152,1 (C₂₄) ; 145,3 (C quat. Sp²) ; 136,6 (C quat. Sp²) ; 135,3 (C quat. Sp²) ; 129,4 (C quat. Sp²) ; 128,6 (C₃) ;

N-méthoxycarbonyl-19,20-dioxocatharanthine (116)

M = 424,45 g.mol⁻¹

Une solution de 500 mg de l'alcool allylique **115** (1,18 mmol, 1 équiv.) dans 30 mL de CH₂Cl₂ est refroidie à 0°C. 7,0 g de dioxyde de manganèse activé (80,5 mmol, 68 équiv.) y sont additionnés en une seule fois. La suspension noire obtenue est agitée à 0°C pendant 3h00, puis ramenée à température ambiante. Le mélange réactionnel est filtré sur célite 545, lavée ensuite abondamment à l'aide de CH₂Cl₂. Le filtrat est concentré sous pression réduite pour conduire proprement à 425 mg de l'énone **116** (1,00 mmol, 85%) sous la forme d'un solide blanc.

R_f : 0,36 (CH₂Cl₂/MeOH 95/5)**F** = 108°C-110°C

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 8,04 (d app., *J* = 8,0 Hz, 1H, H₁₄) ; 7,52 (dd, *J* = 7,5 Hz, *J* = 1,0 Hz, 1H, H₁₁) ; 7,47 (dd, *J* = 6,5 Hz, *J* = 1,5 Hz, 1H, H₃) ; 7,34 (ddd, *J* = 8,0 Hz, *J* = 7,5 Hz, *J* = 1,0 Hz, 1H, H₁₃) ; 7,30 (ddd, *J* = 7,5 Hz, *J* = 7,5 Hz, *J* = 1,0 Hz, 1H, H₁₂) ; 5,82 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H, H₅) ; 4,12 (ddd, *J* = 13,5 Hz, *J* = 12,5 Hz, *J* = 6,0 Hz, 1H, H₇) ; 3,93 (s, 3H, 3xH₂₅) ; 3,68 (ddd, *J* = 6,5 Hz, *J* = 3,0 Hz, *J* = 2,5 Hz, 1H, H₂) ; 3,52 (s, 3H, 3xH₂₃) ; 3,44 (ddd, *J* = 15,5 Hz, *J* = 13,5 Hz, *J* = 7,0 Hz, 1H, H₈) ; 3,31-3,20 (m, 2H, H₇ et H₈) ; 2,83 (dd, *J* = 13,0 Hz et *J* = 2,5 Hz, 1H, H₁) ; 2,37 (s, 3H, 3xH₂₁) ; 2,09 (dd, *J* = 13,0 Hz et *J* = 3,0 Hz, 1H, H₁).

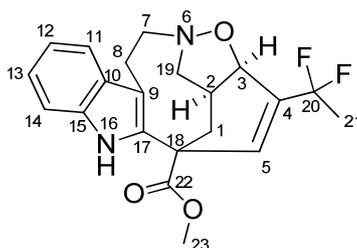
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 193,3 (C₂₀) ; 172,2 (C₁₉ ou C₂₂) ; 171,7 (C₁₉ ou C₂₂) ; 151,9 (C₂₄) ; 143,6 (C₃) ; 142,3 (C quat. Sp²) ; 135,8 (C quat. Sp²) ; 135,3 (C quat. Sp²) ; 129,2 (C quat. Sp²) ; 125,2 (C₁₃) ; 123,2 (C₁₂) ; 118,4 (C₁₁) ; 117,0 (C quat. Sp²) ; 115,8 (C₁₄) ; 57,3 (C₁₈) ; 53,5 (C₂₅) ; 52,6 (C₂₃) ; 52,5 (C₅) ; 45,5 (C₂) ; 41,3 (C₇) ; 37,4 (C₁) ; 24,6 (C₂₁) ; 20,9 (C₈).

IR (pastille KBr) : 2953, 1740, 1668, 1459, 1442, 1252, 751.

SM (ESI+ TOF) : 423 [M+H]⁺ (10) ; 445 [M+Na]⁺ (100) ; 867 [2M+Na]⁺ (32).

SMHR (ESI+ TOF) :	Masse calculée pour [C ₂₃ H ₂₃ N ₂ NaO ₆] ⁺	445,1376
	Masse trouvée	445,1357

$[\alpha]_D^{20} = +183$ (c = 1,8 ; CHCl₃).

Réarrangement de 110 en isoxazolidine (140)

$$M = 388,41 \text{ g.mol}^{-1}$$

Une solution d'oxone dans l'acétone (2 μL , 0,07 M, 134,2 μmol , 2,5 équiv.) est ajoutée goutte-à-goutte à une solution de **110** (20 mg, 53,70 μmol , 1 équiv.) dans 1 mL d'acétone à 0°C. Un contrôle par CCM après 5 minutes montre que la catharanthine difluorée **110** est entièrement consommée. L'agitation est alors arrêtée et le milieu concentré sous vide pour conduire quantitativement et proprement à 20,6 mg de **140** (53,70 μmol) sous la forme d'un solide blanc.

R_f 0,64 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/5)

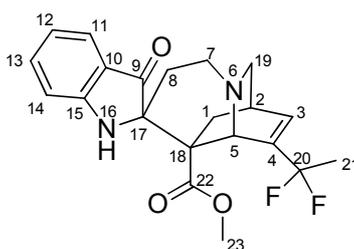
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : 8,71 (s, 1H, NH) ; 7,48 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, H₁₁) ; 7,34 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, H₁₄) ; 7,21 (ddd, $J = 8,2$ Hz, $J = 7,0$ Hz, $J = 1$ Hz, 1H, H₁₃) ; 7,12 (ddd, $J = 8,3$ Hz, $J = 7,0$ Hz, $J = 1$ Hz, 1H, H₁₂) ; 7,07 (s, 1H, H₅) ; 4,92 (d, $J = 10,9$ Hz, 1H, H₃) ; 3,86 (s, 3H, 3xH₂₃) ; 3,48-3,30 (m, 4H, H₂, H₇, H₈ et H₁₉) ; 3,07 (ddd, $J = 13,0$ Hz, $J = 10,1$ Hz, $J = 3,0$ Hz, 1H, H₇) ; 2,90 (m, 1H, H₈) ; 2,70 (dd, $J = 10,2$ Hz, $J = 4,7$ Hz, 1H, H₁₉) ; 2,43 (d, $J = 14,2$ Hz, 1H, H₁) ; 2,04 (dd, $J = 14,2$ Hz, $J = 5,9$ Hz, 1H, H₁₉) ; 1,97 (t, $J = 19,1$ Hz, 3xH₂₁).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 173,7 (C₂₂) ; 136,3 (t, $J = 25,0$ Hz, C₄) ; 135,2 (C quat. arom.) ; 128,4 (t, $J = 8,0$ Hz, C₅) ; 127,3 (C quat. arom.) ; 125,8 (C quat. arom.) ; 123,0 (t, $J = 230,0$ Hz, C₂₀) ; 121,6 (C₁₃) ; 119,7 (C₁₂) ; 118,4 (C₁₁) ; 113,6 (C quat. arom.) ; 110,9 (C₁₄) ; 72,4 (C₃) ; 55,6 (C₇) ; 55,5 (C₁₉) ; 53,4 (C₂₃) ; 46,6 (C₁₈) ; 40,3 (C₂) ; 32,7 (C₁) ; 24,2 (t, $J = 29,0$ Hz, C₂₁) ; 24,0 (C₈).

IR (pastille KBr) : 3408, 2951, 1650, 1460, 1268, 1236, 1167, 1132, 920, 746.

SM (ESI+ TOF) : 389 [M+H]⁺ (100) ; 411 [M+Na]⁺ (4).

SMHR (ESI+ TOF) :	Masse calculée pour [C ₂₁ H ₂₃ F ₂ N ₂ O ₃] ⁺	389,1677
	Masse trouvée	389,1681

20,20-difluoro-17-spiro-9-oxocatharanthine (143)

$$M = 388,41 \text{ g.mol}^{-1}$$

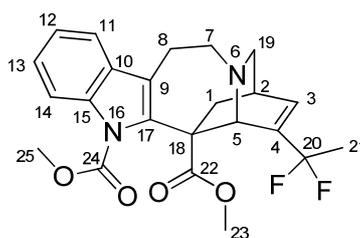
Une solution d'oxone dans l'acétone (1 μL , 0,07M, 83 μmol , 2,5 équiv.) est ajoutée goutte-à-goutte à une solution de **142b** (20 mg, 33,2 μmol , 1 équiv.) dans 0,5 mL d'acétone à 0°C. Un contrôle par CCM après 30 minutes montre que la catharanthine protégée **142b** est entièrement consommée. L'agitation est alors arrêtée et le milieu concentré sous vide pour conduire quantitativement et proprement à 12,8 mg de **143** (33,1 μmol) sous la forme d'un solide blanc.

R_f 0,45 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/5)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : 7,50 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, H_{11}) ; 7,39-7,31 (m, 2H, H_{13} et H_{14}) ; 7,25 (m, 1H, H_{12}) ; 6,63-6,58 (m, 1H, H_3) ; 4,92 (s, 1H, H_5) ; 3,82 (ddd, $J = 14,1$ Hz, $J = 10,3$ Hz, $J = 4,6$ Hz, 1H, H_7) ; 3,63 (s, 3H, $3 \times \text{H}_{23}$) ; 3,12 (ddd, $J = 14,1$ Hz, $J = 5,2$ Hz, $J = 4,6$ Hz, 1H, H_7) ; 2,91 (ddd, $J = 13,1$ Hz, $J = 3,2$ Hz, $J = 2,6$ Hz, 1H, H_1) ; 2,89-2,73 (m, 3H, H_2 et $2 \times \text{H}_{19}$) ; 2,21-2,10 (m, 2H, H_1 et H_8) ; 1,98 (m, 1H, H_8) ; 1,79 (t, $J = 18,1$ Hz, 3H, $3 \times \text{H}_{21}$).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : 189,2 (C_9) ; 171,2 (C_{22}) ; 153,7 (t, $J = 24,0$ Hz, C_4) ; 151,7 (C quat. arom.) ; 141,4 (C quat. arom.) ; 139,1 (t, $J = 8,9$ Hz, C_3) ; 129,6 (C_{14}) ; 125,8 (C_{12}) ; 125,1 (t, $J = 228,0$ Hz, C_{20}) ; 121,5 (C_{13}) ; 120,8 (C_{11}) ; 87,7 (C_{17}) ; 66,4 (C_5) ; 58,5 (C_{18}) ; 56,2 (C_7) ; 52,4 (C_{23}) ; 47,6 (C_{19}) ; 40,1 (C_1) ; 33,1 (C_8) ; 31,9 (C_2), 23,2 (t, $J = 29,0$ Hz, C_{21}).

SM (ESI+ TOF) : 389 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100).

N-méthoxycarbonyl-20,20-difluorocatharine (146a)

$$M = 430,44 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

De l'hydrure de potassium en suspension dans de l'huile minérale (288 mg, 30% en masse de KH, 2,15 mmol, 4 équiv.) est lavé à l'heptane, séché sous vide et suspendu dans 2 mL de THF. Une solution de 200 mg de **110** (0,537 mmol, 1 équiv.) dans 2 mL de THF y est ajoutée goutte-à-goutte à 0°C. Après 30 min sous agitation à cette température, 170 µL de chloroformate de méthyle (2,20 mmol, 4,1 équiv.) sont additionnés goutte-à-goutte. La réaction est poursuivie pendant 1 h à 0°C puis 18 h à température ambiante. Elle est stoppée par ajout de 2 mL d'une solution aqueuse saturée en K₂CO₃ et 2 mL d'une solution aqueuse saturée en NaCl. Le milieu est extrait par 2x10 mL de Et₂O puis 2x10 mL de CH₂Cl₂. Les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et évaporées sous vide. Le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant: CH₂Cl₂/MeOH 98/2) pour aboutir à 134 mg de **146a** (0,311 mmol, 58%) sous la forme d'un solide blanc.

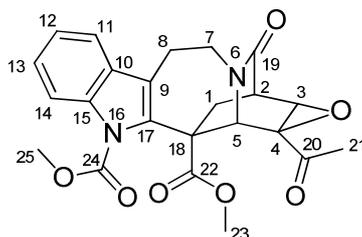
R_f 0,42 (CH₂Cl₂/MeOH 95/5)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 8,14 (d app., *J* = 8,0 Hz, 1H, H₁₄) ; 7,53 (dd, *J* = 7,0 Hz, *J* = 1,0 Hz, 1H, H₁₁) ; 7,34 (ddd, *J* = 8,0 Hz, *J* = 7,5 Hz, *J* = 1,0 Hz, 1H, H₁₃) ; 7,29 (ddd, *J* = 7,5 Hz, *J* = 7,0 Hz, *J* = 1,0 Hz, 1H, H₁₂) ; 4,78 (d, *J* = 1,0 Hz, 1H, H₅) ; 6,64-6,59 (m, 1H, H₃) ; 3,67 (ddd, *J* = 12,0 Hz, *J* = 5,5 Hz, *J* = 2,5 Hz, 1H, H₇) ; 3,92 (s, 3H, 3xH₂₅) ; 3,56 (s, 3H, 3xH₂₃) ; 3,32 (ddd, *J* = 16,0 Hz, *J* = 13,5 Hz, *J* = 5,5 Hz, 1H, H₈) ; 3,08 (ddd, *J* = 8,5 Hz, *J* = 3,0 Hz, *J* = 3,0 Hz, 1H, H₂) ; 3,03 (ddd, *J* = 16,0 Hz, *J* = 4,5 Hz, *J* = 2,5 Hz, 1H, H₈) ; 2,90 (ddd, *J* = 13,5 Hz, *J* = 12,0 Hz, *J* = 4,5 Hz, 1H, H₇) ; 2,80-2,75 (m, 1H, H₂) ; 2,75 (ddd, *J* = 13,0 Hz, *J* = 3,0 Hz, *J* = 3,0 Hz, 1H, H₁) ; 2,52 (d app., *J* = 8,5 Hz, 1H, H₁₉) ; 1,82 (dd, *J* = 18,0 Hz, *J* = 18,0 Hz, 3H, 3xH₂₁) ; 1,79 (d app., *J* = 13,0 Hz, 1H, H₁).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 172,4 (C₂₂) ; 151,7 (C₂₄) ; 142,0 (t, *J* = 27,0 Hz, C₄) ; 138,1 (C quat. arom.) ; 135,8 (C quat. arom.) ; 131,4 (t, *J* = 9,0 Hz, C₃) ; 129,4 (C quat. arom.) ; 124,7 (C₁₃) ; 122,8 (C₁₂) ; 119,9 (t, *J* = 230,0 Hz, C₂₀) ; 119,4 (C quat. arom.) ; 118,3 (C₁₁) ;

115,5 (C₁₄) ; 56,0 (C₁₈) ; 54,2 (C₁₉) ; 53,0 (C₂₅) ; 52,4 (C₅) ; 52,2 (C₂₃) ; 51,8 (C₇) ; 37,5 (C₁) ;
31,6 (C₂) ; 21,9 (t, $J = 28,0$ Hz, C₂₁) ; 21,9 (C₈).

SM (ESI+ TOF) : 431 [M+H]⁺ (100).

3,4-époxy-N-méthoxycarbonyl-19,20-dioxocatharanthine**(150)****C₂₃H₂₂N₂O₇****M = 438,43 g.mol⁻¹**

Une solution de perborate de sodium (126 mg, 0,82 mmol, 3 équiv.) dans l'eau (3mL) est ajoutée à une solution de l'énone **116** (115 mg, 0,27 mmol, 1 équiv.) dans du THF (5 mL). Le milieu est ensuite chauffé à 70°C pendant une heure puis ramené à température ambiante. Le mélange est dilué par 7 mL d'eau puis extrait par 3x10 mL de CH₂Cl₂. Les phases organiques sont réunies, séchées sur Na₂SO₄, filtrées puis concentrées *sou vide* pour conduire proprement et quantitativement à l'époxycétone **150** (117 mg, 0,27 mmol) sous la forme d'un solide blanc.

R_f 0,31 (CH₂Cl₂/MeOH 95/5)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : 8,01 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H₁₄) ; 7,51 (dd, *J* = 7,5 Hz, *J* = 1,1 Hz, 1H, H₁₁) ; 7,29-7,26 (m, 2H, H₁₂ et H₁₃) ; 5,39 (s, 1H, H₅) ; 4,21-4,14 (m, 2H, H₃ et H₇) ; 3,96 (s, 3H, 3xH₂₅) ; 3,56 (s, 3H, 3xH₂₃) ; 3,21-3,21 (m, 4H, H₂, H₇ et 2xH₈) ; 3,05 (dd, *J* = 14,3 Hz, *J* = 2,4 Hz, 1H, H₁) ; 2,12 (s, 3H, 3xH₂₁) ; 1,96 (dd, *J* = 14,3 Hz, *J* = 3,3 Hz, 1H, H₁).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : 201,6 (C₂₀) ; 172,1 (C₁₉ ou C₂₂) ; 169,2 (C₁₉ ou C₂₂) ; 152,0 (C₂₄) ; 136,2 (C₁₇) ; 135,1 (C₁₅) ; 129,3 (C₁₀) ; 125,3 (C₁₃) ; 123,3 (C₁₂) ; 118,5 (C₁₁) ; 117,1 (C₉) ; 115,9 (C₁₄) ; 58,9 (C₁₈) ; 56,3 (C₄) ; 54,5 (C₃) ; 53,6 (C₂₅) ; 52,8 (C₂₃) ; 50,8 (C₅) ; 42,6 (C₂) ; 41,0 (C₇) ; 34,7 (C₁) ; 23,1 (C₂₁) ; 21,3 (C₈).

SM (ESI+ TOF) : 439 [M+H]⁺ (45) ; 877 [2M+H]⁺ (100).