



HAL
open science

Etude d'une famille de diterpènes d'origine naturelle ayant une activité anti-inflammatoire

Emmanuelle Villedieu Villedieu-Percheron

► **To cite this version:**

Emmanuelle Villedieu Villedieu-Percheron. Etude d'une famille de diterpènes d'origine naturelle ayant une activité anti-inflammatoire. Autre. Université d'Orléans, 2011. Français. NNT : 2011ORLE2046 . tel-00687029

HAL Id: tel-00687029

<https://theses.hal.science/tel-00687029>

Submitted on 12 Apr 2012

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

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



UNIVERSITÉ D'ORLÉANS



ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Institut de Chimie Organique et Analytique

THÈSE présentée par :
Emmanuelle VILLEDIEU-PERCHERON

soutenue le : **23 Novembre 2011**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université d'Orléans**

Discipline : **Chimie Organique**

**ETUDE D'UNE FAMILLE DE DITERPENES
D'ORIGINE NATURELLE AYANT UNE
ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE**

THÈSE dirigée par :

Mme Sabine BERTEINA-RABOIN Professeur, Université d'Orléans

RAPPORTEURS :

Mme Laurence GRIMAUD Chargée de Recherches, ENSTA Paris

M. Jacques LEBRETON Professeur, Université de Nantes

JURY

Mme Marie-Claude VIAUD

Professeur, Université de Tours
Présidente du jury

Mme Sabine BERTEINA-RABOIN

Professeur, Université d'Orléans

M. Alain DE MESMAEKER

Syngenta Crop Protection, Stein AG

Mme Laurence GRIMAUD

Chargée de Recherches, ENSTA Paris

M. Jacques LEBRETON

Professeur, Université de Nantes

Remerciements

Ce travail de thèse a été effectué au sein de l'institut de Chimie Organique et Analytique de l'Université d'Orléans, sous la direction du Professeur Sabine Berteina-Raboin. Je voudrais ici lui exprimer tous mes remerciements pour m'avoir accueillie dans son équipe. Merci pour la confiance qu'elle m'a accordé sur ce sujet de thèse qui m'a tant apporté. Merci pour sa disponibilité et sa « positive attitude » quand tout semblait aller de travers. Merci pour ses conseils, sur la thèse, la recherche, et pour l'après thèse.

Je tiens à remercier Madame Marie-Claude Viaud en qualité de président du jury, ainsi que Madame Laurence Grimaud et Monsieur Jacques Lebreton d'avoir accepté de juger ce travail en tant que rapporteurs. Je remercie également Monsieur Alain De Mesmaeker d'avoir accepté de prendre part à mon jury de thèse.

Je remercie Madame Claire Elfakir de m'avoir accueillie au sein du labo plante, ainsi que Madame Emilie Destandeu de m'avoir encadrée sur la partie analytique. Merci à Thomas, Saïda et Christina pour leur aide sur les appareils, ainsi que pour les bons moments passés au labo plante.

Je tiens à remercier Madame Chantal Pichon de m'avoir accueillie dans son équipe du Centre de Biophysique Moléculaire d'Orléans. Merci à Loïc pour les tests biologiques.

Je tiens à remercier les professeurs qui m'ont fait confiance et qui ont cru en moi dès ma première année en licence de biologie, jusqu'au master de chimie. Grâce à eux, j'ai pu continuer ce parcours quelque peu inhabituel.

Merci à Madame Agnès Delmas et Monsieur Dominique Lelièvre avec qui effectué mon premier stage en chimie en synthèse peptidique. Merci à Isidore Decostaire de m'avoir encouragée dans cette voie au cours de ce stage.

Merci à Madame Fabienne Ricklin, avec qui j'ai effectué mon stage de recherche en chimie de Master 1 et qui m'a donné l'envie de faire une thèse.

Merci à Monsieur Jean-Claude Jacquinet et à Madame Chrystel Lopin-Bon pour mon année de Master 2, pour leur disponibilité et leurs conseils au cours des quatre dernières années.

Je n'oublie pas les membres du labo 4. Un grand merci à Sarah qui était là au commencement. Ses discussions animées rendaient le labo très vivant ! Merci à Oana, ma première stagiaire, même si rien n'a marché comme on le voulait. Merci à Amael d'avoir travaillé avec moi et d'avoir su me supporter. Désolée pour cette LN qui nous aura donné tant de fil à retordre, et pour toutes les autres manip aussi... Merci à Vanessa pour nos fous-rire, pour les craquages d'après 18h, et pour nos grandes discussions de filles. Merci à Nico pour ses conseils avisés. Merci aussi à Ahmed, Ibtissam, Camélia, Mouna. Merci à Marie-Aude et bon courage pour la reprise du sujet.

Merci à tous ceux avec qui j'ai partagé ces années à l'ICOA. A l'aile sud où la bonne ambiance nous mène souvent à des rassemblements de couloir : Sandrine (ma colloc de congrès), Sophie (elle aussi), Deimante, Ana-Cat, Marie (merci pour cette dernière année difficile...), Fabien (avec qui j'ai découvert les joies du monitorat), Magalie, Nico. Un merci particulier au labo 3 (Caryn, David, Jérôme, Mathieu) qui ont été très présents quand j'étais seule dans mon labo. Re-merci à Mathieu pour sa gentillesse, nous n'avons toujours pas goûté le pousse-rapière !

Un merci particulier à Emeline, pour son soutien, ses idées, ses conseils, nos séances de TP, parfois dans un état second, merci pour tout.

Un grand merci à Aude ma collègue de bureau au labo 8 pendant un an. Merci pour ces bons moments, pour nos séances de sport semées de fous-rire.

Merci aussi à Hélène pour les bons moments passés en TP d'abord, puis pour ta bonne humeur quand je passais au labo 8 et pendant nos soirées.

Je remercie aussi Véro avec qui les TP ont été un plaisir.

Je tiens aussi à remercier Nathalie pour les HPLC chirales et toutes nos longues discussions, Laétitia pour la masse, Jean-Marie.

J'adresse un grand merci à mes amis sans qui ces dernières années n'auraient pas été pareilles. Ma Krikri qui a toujours été là, dans les bons moments et les moins bons, et Joris. Merci aux TdB pour leur bonne humeur et pour toutes nos soirées, Poch et Val. Un grand merci à notre super voisine Julie, toujours là (facile, c'était à côté) pour une petite soirée et pour nos « réunions » très sympathiques.

Merci aussi à Dominique et Guy.

Je remercie de tout cœur ma mère et mes frères et sœurs. Merci pour leur soutien et d'avoir pu assister à ma soutenance, tous armés de patience.

Je remercie profondément Guillaume pour m'avoir toujours soutenue. Ça n'a pas été tous les jours faciles je m'en rends compte, mais il a toujours été présent pour m'encourager et s'est montré très patient. Merci.

Sommaire

Abréviations.....	1
Partie 1 : Bibliographie	4
1.1. Andrographis paniculata	5
1.1.1. Découverte de l'andrographolide	5
1.1.2. Analogues naturels	10
1.1.3. Propriétés biologiques associées aux dérivés d'andrographolide issus de la plante et aux analogues hémisynthétiques.....	15
1.1.3.1. Activités anti-virales.....	15
1.1.3.2. Activités anti-bactériennes.....	17
1.1.3.3. Inhibition de glucosidases.....	18
1.1.3.4. Activités anticancéreuses.....	18
1.1.4. Activités anti-inflammatoires : la voie NFκB	19
1.2. DITERPENES.....	23
1.2.1. Diterpènes labdanes.....	23
1.2.2. Biosynthèse des labdanes	25
1.2.2.1. Exemples de labdanes naturels.....	26
1.2.3. Méthodes de synthèse des labdanes	28
1.2.4. Synthèse à partir de précurseurs bicycliques.....	29
1.2.4.1. Hémisynthèse.....	29
1.2.4.2. Utilisation de la dicétone de Wieland-Miescher	31
1.2.5. Synthèse par cyclisation stéréocontrôlée	36
1.2.5.1. Cyclisation enzymatique.....	37
1.2.5.2. Cyclisation biomimétique.....	38
1.2.5.3. Cyclisation de Diels-Alder.....	43
1.2.5.4. Utilisation de métaux de transition	44
1.2.5.5. Autres méthodes.....	46
1.2.6. Conclusion sur les synthèses proposées par la bibliographie.....	48

Partie 2 : Etude des extraits d'Andrographis paniculata	49
2.1. EXTRACTIONS ET ANALYSES	50
2.1.1. Caractérisation de l'échantillon A	50
2.1.1.1. <i>Extraction</i>	50
2.1.1.2. <i>Profil HPLC-UV-DEDL</i>	51
2.1.1.3. <i>Identification des composés par LC-MS</i>	53
2.1.1.4. <i>Purification</i>	56
2.1.2. Méthode d'analyse quantitative	60
2.1.2.1. <i>Développement de la méthode d'analyse quantitative</i>	60
2.1.2.2. <i>Validation de la méthode de quantification</i>	63
2.1.2.3. <i>Application</i>	66
2.2. EVALUATION DE L'ACTIVITE INHIBITRICE DE LA VOIE NFκB	71
2.2.1. Préparation des composés hémi-synthétiques	71
2.2.2. Tests de viabilité	73
2.2.3. Principe général	74
2.2.4. Optimisation du test d'inhibition de la voie NFκB	76
2.2.5. Activités anti-inflammatoires des composés isolés et modifiés	78
2.2.5.1. <i>Composés naturels</i>	78
2.2.5.2. <i>Composés hémi-synthétiques</i>	79
2.2.6. Mécanisme d'inhibition du NFκB par AG	81
2.2.7. Activités anti-inflammatoires des mélanges commerciaux	82
2.2.7.1. <i>Extraits bruts et mélanges théoriques</i>	83
2.2.7.2. <i>Normalisation de la dose en andrographolide</i>	85
Partie 3 : Vers la synthèse totale de l'andrographolide	87
3.1. SYNTHÈSE BIOMIMÉTIQUE	89
3.1.1. Analyse rétro-synthétique	89
3.1.2. Etude modèle : la mono-cyclisation	90
3.1.2.1. <i>Approches préliminaires</i>	90
3.1.2.2. <i>Etude de la mono-cyclisation avec $R_1 = H$</i>	96

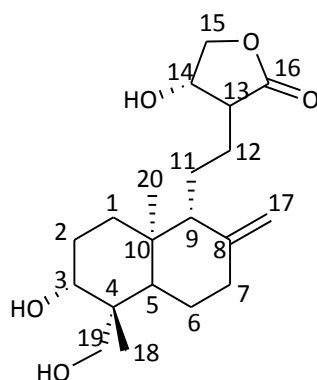
3.1.2.3.	<i>Etude méthodologique de mono-cyclisation d'un précurseur d'hydroxyméthyle.....</i>	<i>100</i>
3.1.2.4.	<i>Etude de la double cyclisation en cascade.....</i>	<i>103</i>
3.1.2.5.	<i>Préparation d'un précurseur hydroxyméthylé à partir du farnesol.....</i>	<i>105</i>
3.1.2.6.	<i>Préparation du précurseur à partir du géranylacétone.....</i>	<i>106</i>
3.2.	Synthèse <i>via</i> la cétone de Wieland-Miescher.....	111
3.2.1.	Analyse rétro-synthétique.....	111
3.2.2.	Fonctionnalisation du cycle A.....	112
3.2.2.1.	<i>Analyse rétro-synthétique et protection du cycle B.....</i>	<i>112</i>
3.2.2.2.	<i>Création du C₄ et réduction alkylante de Birch.....</i>	<i>113</i>
3.2.2.3.	<i>Réductions finales.....</i>	<i>122</i>
3.2.2.4.	<i>Bilan de la fonctionnalisation du cycle A.....</i>	<i>124</i>
3.2.3.	Fonctionnalisation du cycle B.....	125
3.2.3.1.	<i>Fonctionnalisation du cycle B par réarrangement de Claisen.....</i>	<i>127</i>
3.2.3.2.	<i>Fonctionnalisation du cycle B par allongement de la chaîne en C₉.....</i>	<i>132</i>
3.2.3.3.	<i>Conclusion sur la fonctionnalisation du cycle B.....</i>	<i>143</i>
3.2.4.	Préparation de la cétone de Wieland-Miescher énantio-pure.....	144
3.2.4.1.	<i>Cyclisation de Hajos-Parrish.....</i>	<i>144</i>
3.2.4.2.	<i>Dédoublement du mélange énantio-enrichi.....</i>	<i>148</i>
	Conclusion Générale	152
	Partie expérimentale.....	158
	Chimiothèque	267
	Références Bibliographiques	273

Abréviations

A.p.	<i>Andrographis paniculata</i>
A.L.	Acide de Lewis
Ac	Acétyle
ACS	Acide camphre-10-sulfonique
AG	Andrographolide
APTS	Acide <i>para</i> -toluène sulfonique
Bn	Benzyle
Boc	<i>Tert</i> butyl oxycarbonyle
BOM	Benzyloxyméthyl
Bu	Butyle
Bz	Benzoyle
C.V.	Coefficient de variation
CCM	Chromatographie sur couche mince
Cp	Cyclopentadiène
CPC	Chromatographie de partage centrifuge
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène
ddAG	14-déoxy-1,12-didéhydroandrographolide
DET	Diéthyltartrate
DibalH	Hydruure de diisobutylaluminium
DME	Diméthyléther
DMF	Diméthylformamide
DMP	Periodinane de Dess-Martin
DMSO	Diméthylsulfoxyde
éq.	Equivalent molaire
ESI	Ionisation par électrospray
Et	Ethyle
Fmoc	Fluorénylméthoxy-carbonyle
GA	Géranylacétone
Glc	Glucose
h	Heure
HMDS	1,1,1,3,3,3-hexaméthylsilazane
HMPA	Hexaméthylphosphoramide
HPLC	Chromatographie liquide haute performance
HQ	Hydroquinone
HSV	Virus de l'herpès Simplex
Hz	Hertz
IL	Interleukine
ImH	Imidazole
iPr	Isopropyle
IκB	Inhibiteur de κB
J	Constante de couplage
j	Jour

LDA	Diisopropylamidure de lithium
LN	Naphthalénure de lithium
LOD	Limite de détection
LOQ	Limite de quantification
LPS	Lipopolysaccharide
Me	Méthyle
min	Minute
Ms	Mésyle
MS	Spectrométrie de masse
MVK	Methylvinylketone
NAGs	Néoandrographolide
NBS	N-Bromosuccinimide
NF κ B	Facteur nucléaire κ B
nOe	Effet Overhauser nucléaire
Ph	Phényle
PIFA	Phényliodonium (III) bis(trifluoroacétate)
PMB	<i>Para</i> -méthoxybenzyl
ppm	Partie par million
PPTS	<i>Para</i> -toluène sulfonate de pyridinium
R ²	Coefficient de corrélation
RLU	Relative Light Unit (Unité relative de lumière)
RMN	Résonance magnétique nucléaire
RP	Phase inverse
rpm	Tour par minute
S.D.	Déviaton standard
SIM	Single Ion monitoring (Recherche d'un seul ion)
Ta	Température ambiante
TBDMS	<i>tert</i> Butyldiméthylsilyle
tBu	<i>tert</i> Butyle
TES	Triéthylsilyle
Tf	Triflate
TFA	Acide trifluoroacétique
TFAA	Anhydride trifluoroacétique
THF	Tetrahydrofurane
TIC	Courant ionique total
TMS	Triméthylsilyl
TNF α	Tumor Necrosis Factor α
t _R	Temps de rétention
TRIP	3,3'-bis(2,4,6-triisopropylphenyl)-2,2'-binaphtholate
Ts	Tosyle
UV	Ultra Violet
VIH	Virus d'immunodéficienc humaine
WMK	Cétone de Wieland-Miescher

Numérotation générale des diterpènes de type andrographolide :



Les composés issus de la littérature sont numérotés avec la lettre **L**. Les autres composés sont ceux isolés expérimentalement.

Partie 1 : Bibliographie

1.1. Andrographis paniculata

Andrographis paniculata est une plante appartenant à la famille des échinacées. Elle est largement cultivée dans le sud de l'Asie où elle est utilisée depuis plus de deux mille ans en médecine traditionnelle pour traiter des infections. La plupart de ces méthodes d'utilisation concernent les feuilles et les racines de la plante.

Les effets pharmacologiques dans lesquels elle est impliquée sont très variés : analgésiques, anti-inflammatoires, anti-bactériens, anti-pyrétiques, anti-viraux, cardioprotecteurs, hépatoprotecteurs, et bien d'autres.

C'est en considérant ses applications biologiques depuis une trentaine d'années que les scientifiques se sont intéressés à son étude.

Dans un premier temps, les recherches sur cette plante ont concerné sa composition chimique. Les biologistes se sont ensuite intéressés aux activités associées chez l'homme, puis aux mécanismes biologiques dans lesquels les différents composés qu'elle comporte sont impliqués.

1.1.1. Découverte de l'andrographolide

La détermination de la composition de l'*Andrographis paniculata* est rapportée pour la première fois par M.K. Gorter en 1911.¹ Il cherche alors à savoir d'où vient la saveur amère de la plante et publie une première ébauche de structure de la molécule principale, dénommée andrographolide, en émettant d'abord un doute sur le nombre de doubles liaisons qu'elle contient. Dans un deuxième rapport, il décrit comment il a poursuivi les investigations sur ce composé cristallin et donne des précisions sur les fonctions apparemment présentes dans la molécule.² Il mentionne une structure de formule brute $C_{20}H_{30}O_5$, comprenant deux doubles liaisons, trois hydroxyles dont un tertiaire et une lactone.

¹ Gorter, M.K. *Rec.Trav.Chim.* **1911**, 30, 151-160

² Gortrer, M.K. *Rec.Trav.Chim*, **1914**, 33, 239-243

En 1939, S.S. Guha-Sirca et A. Moktader remettent en cause la structure proposée par M.K. Gorter,³ et prétendent qu'il n'existe pas trois hydroxyles, mais un hydroxyle et un carbonyle.

En 1952, D. Chakravarti confirme la structure proposée par M.K. Gorter.⁴ Une hydrogénation de l'andrographolide dans l'acide acétique conduit à deux isomères de déoxytetrahydroandrographolide, indiquant la présence de deux doubles liaisons et d'un groupement hydroxyle labile. De plus, l'ozonolyse de l'andrographolide mène à la formation de formaldéhyde et d'une nouvelle cétone laissant présager la présence d'une double liaison exo-cyclique.

Par déshydrogénation au sélénium, M.P. Cava *et al.*⁵ ont montré que l'andrographolide possédait un squelette diterpénique bicyclique, avec un alcool tertiaire en position C₃ (Figure 1).

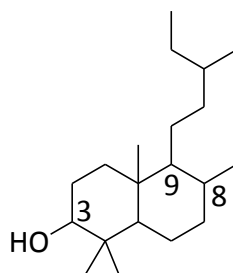


Figure 1 : Squelette diterpénique mis en évidence par Cava *et al.*

Cette équipe a enfin donné une première formule développée de l'andrographolide en compilant toutes les données effectuées auparavant ainsi que quelques résultats supplémentaires, à savoir :

- ✓ Un squelette de base présenté Figure 1
- ✓ La peracétylation de la molécule conduit à un composé triacétylé, indiquant la présence de trois hydroxyles.

³ Moktader, A.; Guha-Sirca, S.S. *J.Indian Chem.Soc.* **1939**, *16*, 333-338

⁴ Chakravarti, D.; Chakravarti, R.N. *J.Chem.Soc.* **1952**, 1697-1700

⁵ Cava, M.P.; Chan, W.R.; Haynes, L.J.; Johnson, L.F.; Weinstein, B. *Tetrahedron* **1962**, *18*, 397-403

- ✓ Le clivage au periodate du composé peracétylé conduit à la formation de formaldéhyde et d'une cétone de formule brute $C_{25}H_{34}O_9$, présageant un méthylène exocyclique (C_8).
- ✓ L'oxydation au permanganate de potassium du composé peracétylé conduit à la formation de l'ester méthylique de formule $C_{20}H_{30}O_7$, dérivé de l'acide **L1** (Schéma 1).

Le céto-acide **L1** traité avec du $NaBH_4$ conduit à la formation de la lactone **L2**.

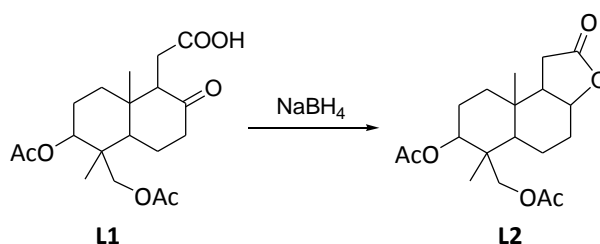


Schéma 1 : Mise en évidence de la relation entre le carbonyle et l'acide carboxylique

L'équipe aboutit dans un premier temps à une structure plus élaborée présentée Figure 2. Le positionnement exacte de la lactone n'est pas encore élucidé à ce moment des recherches.

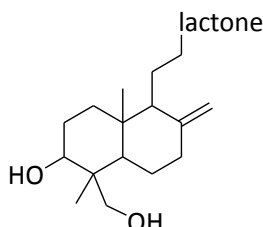


Figure 2 : Deuxième squelette proposé pour l'andrographolide

Les investigations suivantes leur permettent d'établir l'enchaînement d'atomes de la lactone, et aussi de donner quelques éléments de stéréochimie.

- ✓ La tritylation de l'andrographolide conduit à la formation d'un éther anhydrotritylique.
- ✓ Les premières investigations en RMN 1H sont enfin menées et les déplacements chimiques des protons permettent de déduire l'enchaînement des atomes aux alentours de la lactone (Figure 3).

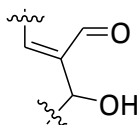


Figure 3 : Enchaînement des atomes aux alentours de la lactone

Ces informations ont amené les auteurs à proposer deux formules développées **L3** et **L4** pour la structure de l'andrographolide, isomères l'une de l'autre (Figure 4).

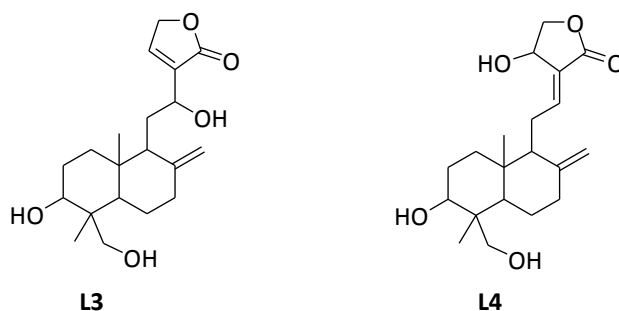


Figure 4 : Structures proposées pour l'andrographolide

La courbe de dispersion du pouvoir rotatoire de l'ester méthylique **L5** (Figure 5), dérivé de **L1** (Schéma 1, p7), indique qu'il s'agit d'une *trans*-décalone.⁵ Enfin, la configuration absolue de la jonction de cycle est étudiée.⁶ Le pouvoir rotatoire de l'ester méthylique **L5** est comparé à celui d'autres composés connus, comme l'acide labdanoïque de série décaline, et l'irésine, première *ent*-décaline isolée.

⁶ Djerassi, C.; Burstein, S. *Tetrahedron* **1959**, 7, 37-46

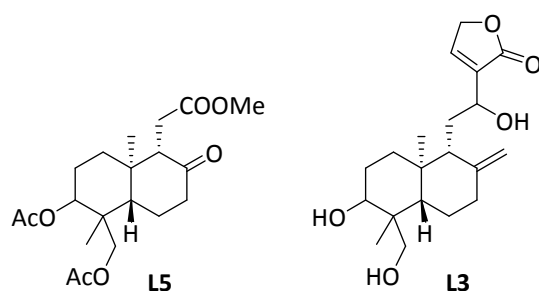


Figure 5 : Structure de l'ester L5 et stéréochimie proposée pour l'andrographolide

D'après ces investigations, l'andrographolide apparaît pour la première fois comme une lactone diterpénique en série *ent*-labdane. Des études RMN ^1H complémentaires ont permis de déterminer les configurations des C_3 et C_4 , et de confirmer un enchaînement correspondant à la structure **L4**.⁷

Finalement, la configuration du C_{14} établie par une analyse spectrale aux rayons X permet de confirmer la stéréochimie de la molécule présentée Figure 6.⁸

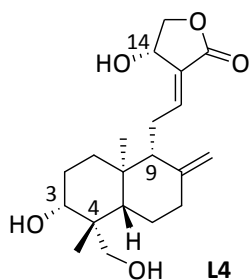


Figure 6 : Structure de l'andrographolide

D'autres structures cristallines d'analogues extraits de la plante ont confirmé les stéréochimies proposées.⁹

⁷ Cava, M.P.; Chan, W.R.; Stein, R.P.; Willis, C.R. *Tetrahedron* **1965**, *21*, 2617-2632

⁸ Fujita, T.; Fujitani, R.; Takeda, Y.; Takaishi, Y.; Yamada, T.; Kido, M.; Miura, I. *Chem.Pharm.Bull.* **1984**, *32*, 2117-2125

⁹ Medforth, C.J.; Chang, R.S.; Chen, G-Q.; Olmstead, M.M.; Smith, K.M. *J.Chem.Soc. Perkin Trans. 2*, **1990**, 1011-1016

1.1.2. Analogues naturels

En fonction de la saison et du lieu de cueillette, la plante ne présente pas tout à fait les mêmes composés. Ainsi, des études ont permis d'isoler un grand nombre de composés de structures proches.

Outre l'andrographolide, un certain nombre de dérivés d'*ent*-labdanes sont isolés de la plante, ainsi que des composés aromatiques (Figure 7) et des flavonoïdes (Figure 8).^{10,11,12}

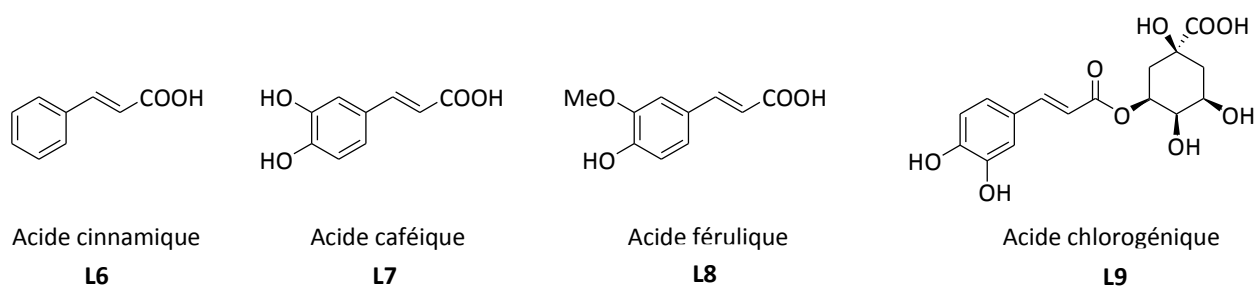


Figure 7 : Composés aromatiques extraits d'*Andrographis paniculata*

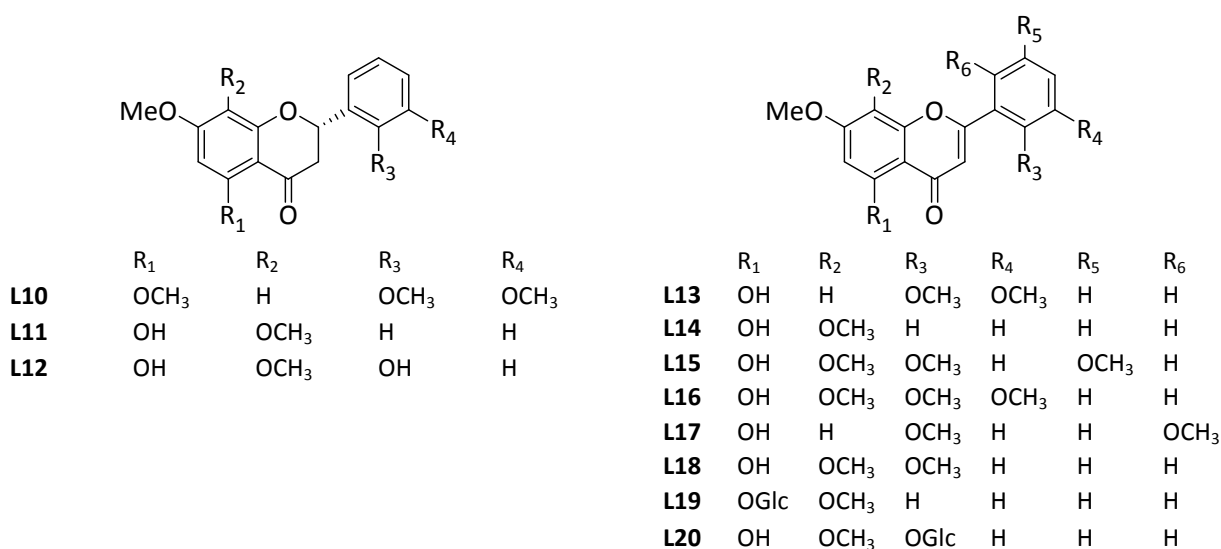


Figure 8 : Flavonoïdes extraits d'*Andrographis paniculata*

¹⁰ Jalal, M.A.F.; Overton, K.H.; Rycroft, D.S. *Phytochem.* **1979**, *18*, 149-151

¹¹ Kuroyanagi, M.; Sato, M.; Ueno, A.; Nishi, K. *Chem.Pharm.Bull.* **1987**, *35*, 4429-4435

¹² Gupta, K.K.; Taneja, S.C.; Dhar, K.L.; Atal, C.K. *Phytochemistry* **1983**, *22*, 314-315

Le β -sistérol **L21** est aussi isolé (Figure 9).

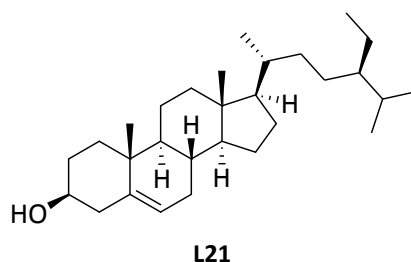


Figure 9 : β -sistérol

Ainsi, au cours des trente dernières années, plusieurs équipes se sont attelées à l'isolement de nouveaux composés dérivant de l'andrographolide.

Dans un premier temps, certains groupes ont pu identifier un premier analogue glycosylé de l'andrographolide : la néoandrographolide **L22** (Figure 10).^{13,14}

En 1973, l'équipe de J.D. Connolly rapporte l'extraction de cinq composés diterpéniques :¹⁵ l'andrographolide **L4** (Figure 6, p9), la néoandrographolide **L22**, la 14-déoxy-11-oxoandrographolide **L23**, la 14-déoxy-11,12-didéhydroandrographolide **L24** et la 14-déoxyandrographolide **L25** dont les structures sont présentées Figure 10.

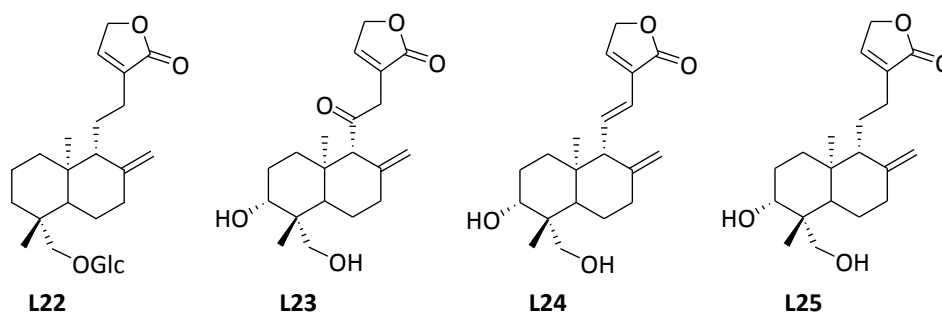


Figure 10 : Composés isolés par J.D. Connolly et al.

¹³ Chan, W.R.; Taylor, D.R.; Willis, C.R. *Tetrahedron Lett.* **1968**, 9, 4803-4806

¹⁴ Chan, W.R.; Taylor, T.R.; Willis, C.R.; Bodden, R.L.; Fehlhhaber, H.-W. *Tetrahedron* **1971**, 27, 5081-5091

¹⁵ Balmain, A.; Connolly, J.D. *J.Chem.Soc. Perkin Trans. 1* **1973**, 1247-1251

Les structures de ces composés ont été déterminées par les techniques utilisées précédemment, à savoir : acétylation, réduction et/ou oxydation des molécules, et analyses RMN ^1H . L'analyse du composé **L22** (Figure 10) montre qu'il s'agit d'un β -D-glucoside.

Au moment où ils ont effectué l'analyse cristallographique de l'andrographolide, T. Fujita *et al.*⁸ ont isolé d'autres composés analogues minoritaires : l'andrograpanine **L26**, l'andropanoside **L27** et la 14-déoxy-12-méthoxyandrographolide **L28** (Figure 11).

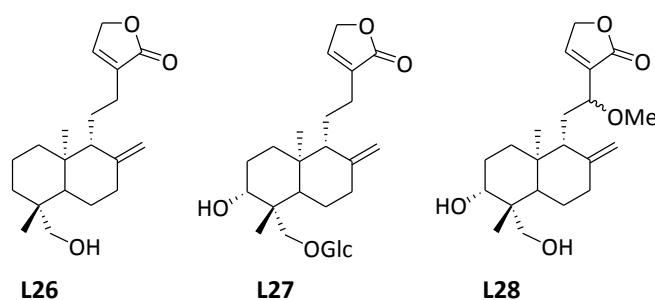


Figure 11 : Composés isolés par T. Fujita et al.

De la même manière, une peracétylation du composé **L27** montre qu'il s'agit d'un β -D-glucoside.

En 2004, l'équipe de Y.-M. Tzeng détermine la structure de nouveaux composés isolés d'*Andrographis paniculata*,¹⁶ dont trois analogues de l'andrographolide. Il s'agit de la 14-déoxy-15-isopropylidène-11,12-didéhydroandrographolide **L29**, la 14-déoxy-11-hydroxyandrographolide **L30** et l'andrographoside **L31** (Figure 12).

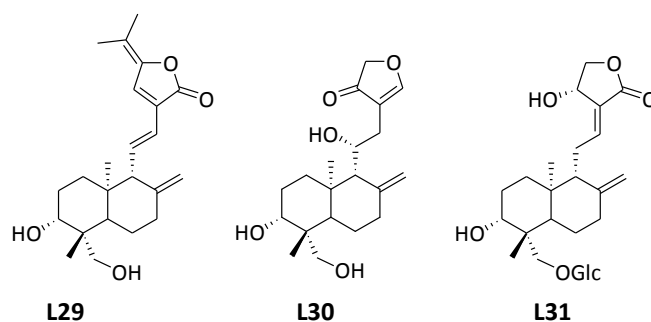


Figure 12 : Composés isolés par Y.-M. Tzeng et al.

¹⁶ Rao, Y.K.; Vimalamma, G.; Rao, C.V.; Tzeng, Y.-M. *Phytochem.* **2004**, *65*, 2317-2321

En 2006, S. Pramanick *et al.* isolent à leur tour deux autres isomères,¹⁷ l'andropanolide **L32**, isomère 12,13-*cis* de l'andrographolide, et l'isoandrographolide **L33** qui comporte un cycle supplémentaire (Figure 13).

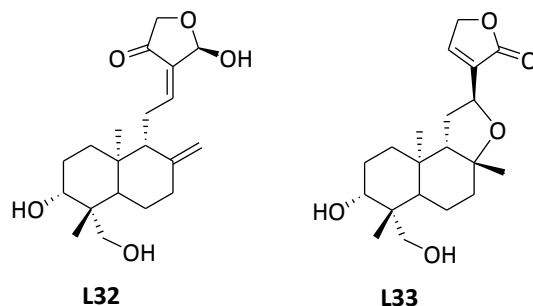


Figure 13 : Composés isolés par S. Pramanick *et al.*

En 2008, l'équipe de F. Qiu isole encore deux nouveaux analogues,¹⁸ la (7*R*)-hydroxy-14-déoxyandrographolide **L34** et la (7*S*)-hydroxy-14-déoxyandrographolide **L35** (Figure 14).

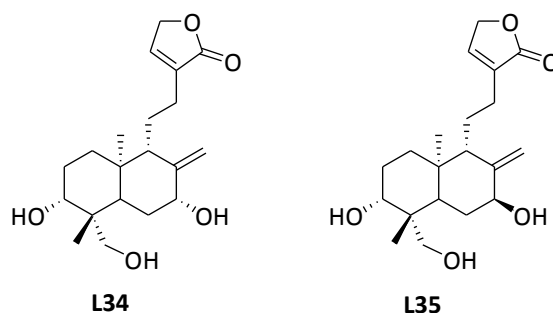


Figure 14 : Composés isolés par F. Qiu *et al.*

Enfin, très récemment, W.-W. Chao et B.-F. Lin ont rapporté trois autres structures isolées de la plante :¹⁹ la 14-déoxy-14,15-didéhydroandrographolide **L36**, la 14-acétylandrographolide **L37** et la 19-*O*-acétylanhydroandrographolide **L38** (Figure 15).

¹⁷ Pramanick, S.; Banerjee, S.; Achari, B.; Das, B.; Sen, A.K.; Mukhopadhyay, S.; Neuman, A.; Prangé, T. *J.Nat.Prod.* **2006**, *69*, 403-405

¹⁸ Chen, L.; Zhu, H.; Wang, R.; Zhou, K.; Jing, Y.; Qiu, F. *J.Nat.Prod.* **2008**, *71*, 852-855

¹⁹ Chao, W.-W.; Lin, B.-F. *Chinese Medicine* **2010**, *5*, 17-31

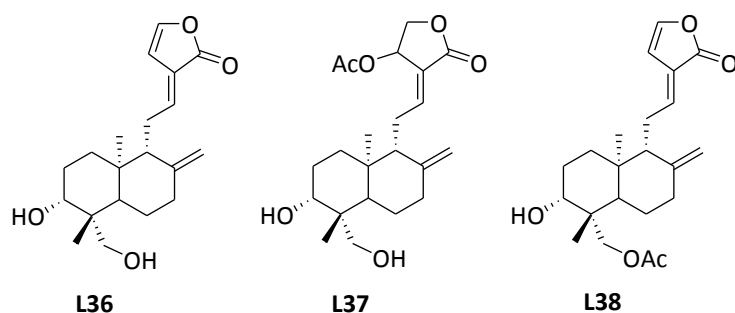


Figure 15 : Composés isolés par W.-W.Chao et B.-F.Lin

Par ailleurs, lors d'une étude métabolique de l'andrographolide chez le rat,²⁰ six métabolites ont pu être isolés à partir d'urines, de fèces et du petit intestin de rats (Figure 16).

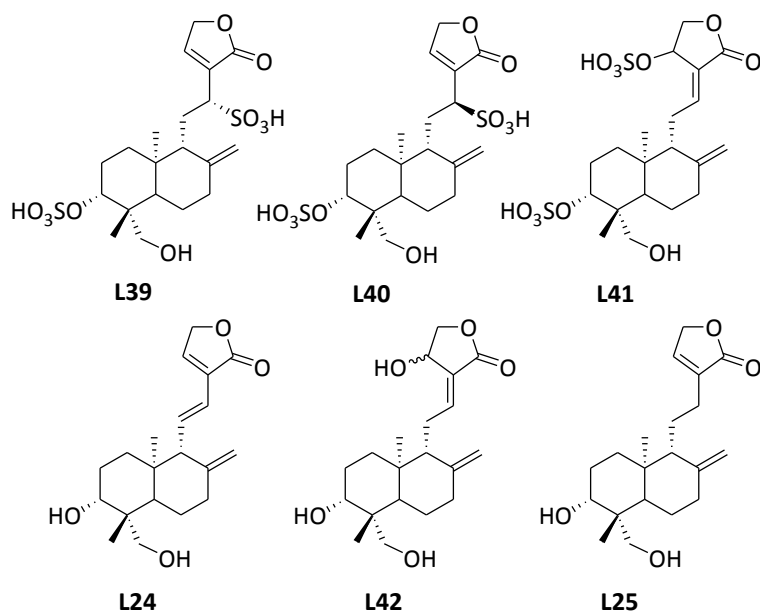


Figure 16 : Six métabolites issus de l'andrographolide

Trois des métabolites sont des sulfonates. Pour les trois autres, seule la position C₁₄ de l'andrographolide a été modifiée. D'après cette étude, les composés analogues isolés précédemment semblent en fait issus du catabolisme de l'andrographolide, comme les composés L24 et L25.

²⁰ He, X.; Li, J.; Gao, H.; Qiu, F.; Cui, X.; Yao, X. *Chem.Pharm.Bull.* **2003**, 51, 586-589

1.1.3. Propriétés biologiques associées aux dérivés d'andrographolide issus de la plante et aux analogues hémisynthétiques

De nombreuses propriétés biologiques sont attribuées à la plante, et depuis quelques années des équipes de biologistes étudient les activités, alors que d'autres essaient d'élucider les mécanismes d'action.

Tout d'abord, depuis plusieurs milliers d'années, *Andrographis paniculata* est utilisée pour traiter des maux de la vie courante, comme les piqûres d'insectes ou les morsures de serpents, mais aussi comme anti-pyrétique, analgésique, anti-viral et anti-bactérien, ou pour traiter les troubles gastro-intestinaux, urinaires ou respiratoires.¹⁹

De nos jours, les affections les plus étudiées sont les infections virales et bactériennes, et les cancers. Après un criblage à grande échelle dans divers laboratoires sur ces types de maladies, l'andrographolide s'est révélé le composé le plus actif parmi ceux isolés d'*Andrographis paniculata*. Nous pouvons rapporter plusieurs activités associées aux composés de la plante ci-dessous.

1.1.3.1. Activités anti-virales

Les activités anti-virales de l'andrographolide ont été étudiées sur plusieurs types de virus. Ce composé montre une inhibition de la transmission cellulaire et de la réplication virale dans les cellules infectées par le VIH.²¹ En 2000, l'équipe de C. Calabrese²² décrit un essai clinique de l'andrographolide sur treize individus porteurs du VIH, et cinq individus sains. Ils n'ont pas pu mettre en évidence de diminution significative du niveau viral, même à forte dose. Cependant, une augmentation significative de la production des lymphocytes a été remarquée au bout de trois semaines chez les individus infectés, ce qui prouve que l'inflammation a diminué.

²¹ Otake, T.; Mori, H.; Morimoto, M. *Phytother.Res.* **1995**, *9*, 6-10

²² Calabrese, C.; Berman, S.H.; Babish, J.G.; Ma, X.; Shinto, L.; Dorr, M.; Wells, K.; Wenner, C.A.; Standish, L.J. *Phytother.Res.* **2000**, *14*, 333-338

En 2005, les activités des composés isolés de la plante ont été évaluées *in vitro* contre le virus de l'herpès simplex HSV1.²³ En testant l'andrographolide **L4** (Figure 6, p9), la néoandrographolide **L22** et la 14-déoxy-11,12-didéhydroandrographolide **L23** (Figure 10, p11), l'équipe a montré que la néoandrographolide **L22** avait la meilleure activité des trois composés, avec un IC₅₀ de 7,97 µg/mL (IC₅₀ de l'acyclovir < 1 µg/mL). Cette activité est moins bonne, mais encourageante.

Plus récemment, T.P. Lin *et al.* ont montré que l'andrographolide inhibe le virus d'Epstein-Barr,²⁴ un autre virus de l'herpès. Ainsi, l'inhibition de la transcription du virus et de la production de virion a été mise en évidence pour l'andrographolide **L4** ainsi que pour des extraits éthanoliques de la plante.

Enfin, en 2009,²⁵ l'andrographolide, le 14-déhydroxyandrographolide-12-sulfonate de sodium **L43** et la 14-lipoyandrographolide **L44** ont été testés *in vitro* et *in vivo* contre plusieurs souches de virus Influenza (Figure 17).

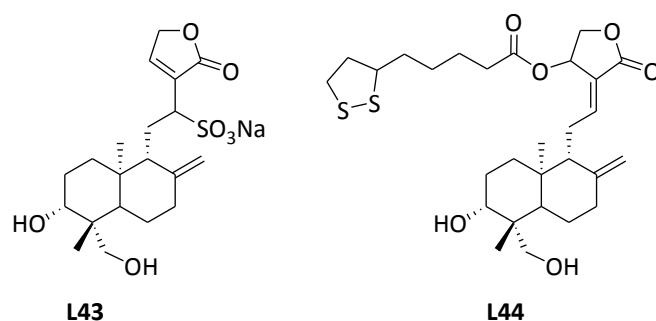


Figure 17 : Composés testés sur Influenza

Des trois composés testés, le composé **L44** s'est révélé être le plus actif, à la fois *in vivo* et *in vitro*, sur les souches H₅N₁, H₅N₉ et H₁N₁, et ce avec une activité proche de celle de la Ribavirine, un anti-viral connu pour ce virus.

²³ Wiant, C.; Kumar, K.; Yusof, M.Y.; Hamimah, H.; Fauzi, Z.M.; Sulaiman, M. *Phytother.Res.* **2005**, *19*, 1069-1070

²⁴ Lin, T.-P.; Chen, S.-Y.; Duh, P.-D.; Chang, L.-K.; Liu, Y.-N. *Biol.Pharm.Bull.* **2008**, *31*, 2018-2023

²⁵ Chen, J.-X.; Xue, H.-J.; Ye, W.-C.; Fang, B.-H.; Liu, Y.-H.; Yuan, S.-H.; Yu, P.; Wang, Y.-Q. *Biol.Pharm.Bull.* **2009**, *32*, 1385-1391

1.1.3.2. Activités anti-bactériennes

En 2009 et 2010,^{26,27} l'équipe de Z. Wang a préparé les dérivés **L45** à **L58** à partir d'andrographolide extraite (Figure 18, Figure 19) et a évalué leur activité anti-bactérienne, ainsi que celle de l'andrographolide et des composés **L43** et **L44** (Figure 17, p16) sur plusieurs souches bactériennes (*E.coli*, *P.aeruginosa*, *B.subtilis*, *S.aureus*).

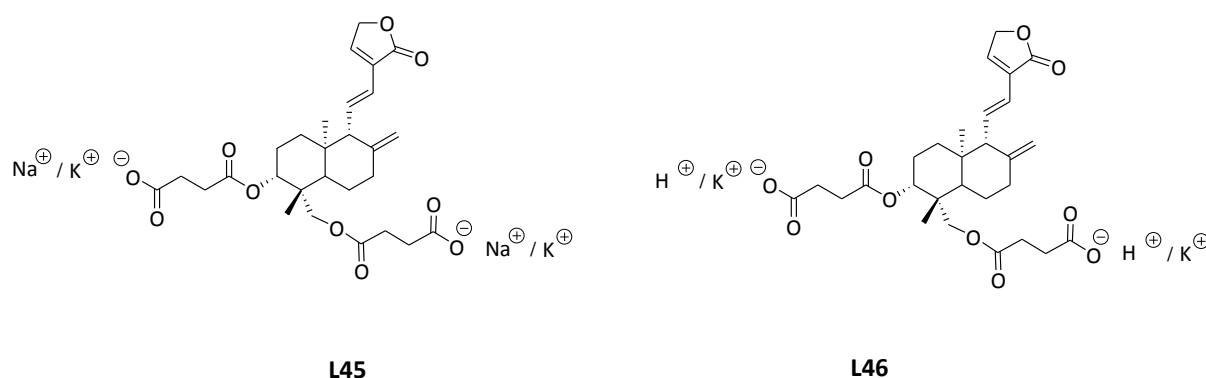


Figure 18 : Sels testés pour leur activité anti-bactérienne

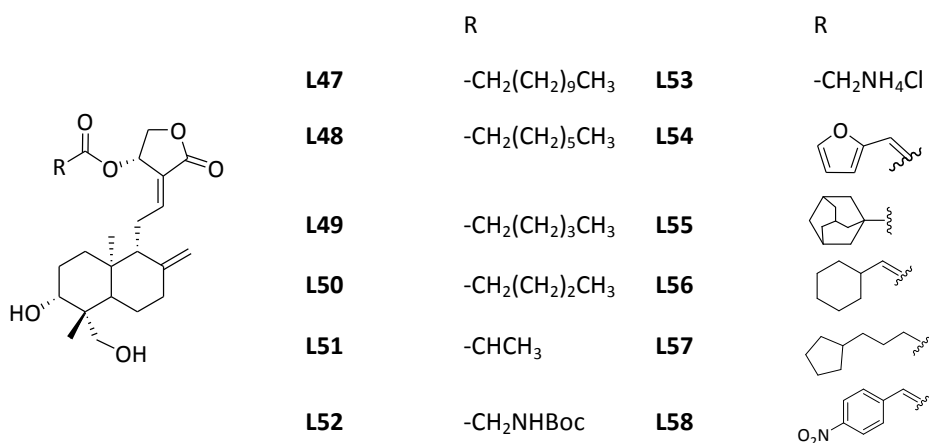


Figure 19 : Composés testés pour leur activité anti-bactérienne

²⁶ Jiang, X., Yu, P.; Jiang, J.; Zhang, Z.; Wang, Z.; Yang, Z.; Tian, Z.; Wright, S.C.; Larrick, J.W.; Wang, Y. *Eur.J.Med.Chem.* **2009**, *44*, 2936-2943

²⁷ Wang, Z.; Yu, P.; Zhang, G.; Xu, L.; Wang, D.; Wang, L.; Zeng, X.; Wang, Y. *Bioorg.Med.Chem.* **2010**, *18*, 4269-4274

Ces tests *in vitro* ont montré une fois encore une bonne activité pour le composé **L44**, ainsi que pour **L49**, **L54** et **L57**.

1.1.3.3. Inhibition de glucosidases

Les glucosidases étant impliquées dans de nombreux processus biologiques (cancer, infection, diabète), l'équipe de H.-M. Liu^{28,29} a cherché à optimiser la structure de l'andrographolide pour obtenir de meilleures activités inhibitrices de ces enzymes. Une série de dérivés protégés sur les positions O₃ et O₁₉ (sous forme d'acétals ou d'esters), ainsi que des dérivés du composé **L29** (Figure 12, p12) portant des substituants variés sur la double liaison en C₁₅ ont été préparés. Les dérivés testés ont donné une activité inhibitrice d' α -glucosidases. Cependant, les composés naturels se sont révélés les plus actifs, notamment le composé **L24** (Figure 10, p11).

1.1.3.4. Activités anti-cancéreuses

L'andrographolide a fait l'objet de tests d'activités anti-cancéreuses sur différentes lignées cellulaires. Elle a été comparée à d'autres inhibiteurs couramment utilisés sur des cellules leucémiques,³⁰ de carcinomes hépatocellulaire,³¹ de cancer du colon, du sein,³² et de la prostate.³³

Quelques dérivés benzylidènes protégeant les positions O₃ et O₁₉ ont été préparés et ont été testés avec l'andrographolide. Il apparaît que le produit naturel possède la meilleure activité : il diminue la croissance cellulaire et induit même parfois l'apoptose des cellules cancéreuses. Ainsi, il aurait une action sur la régulation cellulaire.

²⁸ Dai, G.-F.; Xu, H.-W.; Wang, J.-F.; Liu, F.-W.; Liu, H.-M. *Bioorg.Med.Chem.Lett.* **2006**, *16*, 2710-2713

²⁹ Xu, H.-W.; Dai, G.-F.; Liu, G.-Z.; Wang, J.-F.; Liu, H.-M. *Bioorg.Med.Chem.* **2007**, *15*, 4247-4255

³⁰ Manikam, S.T.; Stanslas, J. *J.Pharm.Pharmacol.* **2009**, *61*, 69-78

³¹ Yang, L.; Wu, D.; Luo, K.; Wu, S.; Wu, P. *Cancer Lett.* **2009**, *276*, 180-188

³² Jada, S.R.; Matthews, C.; Saad, M.S.; Hamzah, A.S.; Lajis, N.H.; Stevens, M.F.G.; Stanslas, J. *Br.J.Pharmacol.* **2008**, *155*, 641-654

³³ Wong, H.C.; Sagineedu, S.R.; Lajis, N.H.; Loke, S.C.; Stanslas, J. *Afr.J.Pharm.Pharmacol.* **2011**, *5*, 225-233

Toutes ces études ont montré que les composés issus d'*Andrographis paniculata* ont un large spectre d'activités biologiques et qu'ils représentent donc un intérêt thérapeutique important. C'est pourquoi certaines équipes se sont attelées à la détermination du mécanisme biologique dans lequel ces composés naturels sont impliqués.

Il s'avère qu'une maladie passe en général par un processus inflammatoire. Le processus biologique dans lequel sont engagés l'andrographolide et ses dérivés a été très recherché et les biologistes ont conclu à une action sur la voie NFκB.

Nous allons dans un premier temps décrire cette voie de signalisation, puis nous présenterons les constats qui ont abouti à cette conclusion.

1.1.4. Activités anti-inflammatoires : la voie NFκB

Le facteur nucléaire NFκB est un facteur de transcription.^{34,35} Il s'agit d'un complexe hétérodimérique qui joue un rôle important dans l'inflammation et la réponse cellulaire au stress. Il en existe cinq sous-types : NFκB1 (*p105/p50*), NFκB2 (*p100/p52*), RelA (*p65*), RelB et RelC. Chacun d'entre eux comporte un domaine d'environ 300 acides aminés avec une structure conservée pour les sites de liaison à l'ADN (nommé domaine Rel), de dimérisation ainsi que pour les interactions avec des facteurs cytoplasmiques inhibiteurs IκB.

En temps normal, NFκB (composé la plupart du temps des sous-unités *p50* et *p65*) est localisé dans le cytoplasme où il est séquestré par IκB (inhibiteur de NFκB) (Figure 20). Sous l'effet d'une stimulation cellulaire par des facteurs variés tels que les cytokines, lipopolysaccharides, facteurs de croissance, inducteurs de stress, agents chimiothérapeutiques, etc..., IκB est phosphorylé. Il est alors dégradé dans le protéasome et NFκB est libéré et importé dans le noyau. Il peut alors activer l'expression de gènes cibles en se liant à une séquence décarnérique de l'ADN (promoteur) portant un site de

³⁴ Delhalle, S.; Blasius, R.; Dicato, M.; Diederich, M. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* **2004**, *1030*, 1-13

³⁵ Li, Q.; Verma, I.M. *Nat.Rev.Immunol.* **2002**, *10*, 725-734

reconnaissance appelé κB . Un certain nombre de médiateurs pro-inflammatoires comme IL-1 (interleukine 1) et $TNF\alpha$ (Tumor Necrosis Factor) induisent la translocation nucléaire de $NF\kappa B$.

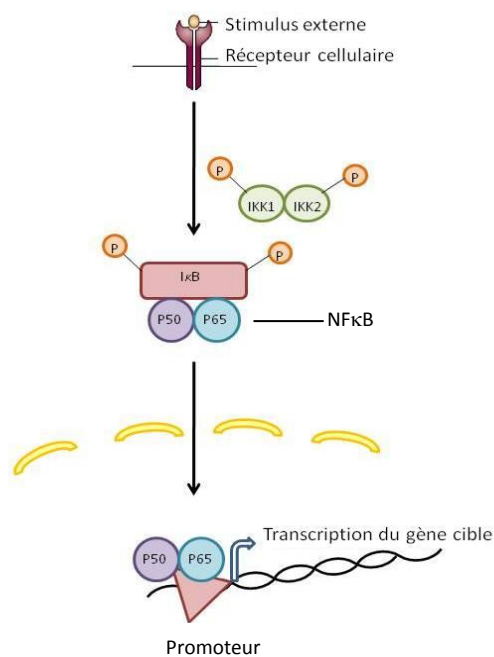


Figure 20 : Mécanisme d'action de la voie $NF\kappa B$ (dimère p50-p65)

$NF\kappa B$ induit la transcription de nombreux gènes pro-inflammatoires, dont les produits provoquent à leur tour la réponse inflammatoire, l'angiogénèse, ou encore l'adhésion cellulaire. Dans certains cas où l'activation de $NF\kappa B$ est persistante, la surexpression de ces gènes pro-inflammatoires mène à des maladies inflammatoires (asthme allergique, arthrite) et au développement de tumeurs.

Le $NF\kappa B$ est également impliqué dans le phénomène d'apoptose, une mort cellulaire programmée par la cellule dans certaines conditions (dommages de l'ADN, stress cellulaire...). L'activation de la voie $NF\kappa B$ conduit à l'expression de plusieurs gènes pro-apoptotiques, ce qui implique ce facteur de transcription dans la régulation du programme apoptotique et lui confère un rôle cytoprotecteur.

Une fois activée, la voie $NF\kappa B$ entraîne l'expression de molécules d'adhésion cellulaire (ICAM-1, VCAM-1, E-sélectine, ténascine C), de facteurs de croissance vasculaire

endothéliale (VEGF) et de métalloprotéases responsables de la dégradation de la matrice extracellulaire. Il est aussi impliqué dans l'expression de gènes codant des enzymes comme l'iNOS (inductible nitric oxide synthase), des cyclooxygénases (COX-2), des lipooxygénases, des chimiokines et cytokines (IL1, TNF α).

L'activité constitutive de NF κ B semble donc jouer un rôle important dans les maladies d'inflammation chronique comme la maladie de Crohn, l'arthrite rhumatoïde, et l'asthme. L'inhibition de cette voie apparaît comme une approche thérapeutique prometteuse pour combattre ce type de maladies. Des inhibiteurs existent déjà en thérapie (prostaglandines, flavonoïdes, glucocorticoïdes, oligonucléotides, peptides...), néanmoins, une meilleure compréhension des différentes étapes du processus est toujours en cours d'étude.

En 1993, l'équipe de J.S. Tandon³⁶ teste l'activité immunostimulante d'*Andrographis paniculata* (extrait éthanolique, AG, NAGs) et montre qu'il existe une réponse immunitaire non spécifique chez les souris traitées. De plus, la réponse est plus importante lors du traitement par l'extrait brut que par les composés purs. D'après eux, cela laisse supposer qu'un autre (ou plusieurs) composé de l'extrait permet d'augmenter l'activité immunostimulante de la plante.

Des résultats postérieurs ont montré plus précisément que les dérivés d'andrographolide sont impliqués dans une cascade inflammatoire, et ce, par la mise en évidence successive de processus reconnus :

- une inhibition de l'expression de molécules d'adhésion cellulaire (ICAM1) et de cytokines après induction des monocytes par le TNF α ,^{37,38}
- une diminution de l'expression de iNOS dans les macrophages stimulés au LPS,³⁹
- une diminution de la production d'oxyde nitrique NO et d'espèces oxygénées réactives comme les peroxydes ou l'anion superoxyde.⁴⁰

³⁶ Puri, A.; Saxena, R.; Saxena, R.P.; Saxena, K.C.; Srivastava, V.; Tandon, J.S. *J.Nat.Prod.* **1993**, *56*, 995-999

³⁷ Habtemariam, S. *Phytoter.Res.* **1998**, *12*, 37-40

³⁸ Qin, L.-H.; Kong, L.; Shi, G.-J.; Wang, Z.-T.; Ge, B.-X. *Biol. Pharm.Bull.* **2006**, *29*, 220-224

³⁹ Chiou, W.-F.; Lin, J.-J.; Chen, C.-F. *Br.J.Pharm.* **1998**, *125*, 327-334

⁴⁰ Shen, Y.-C.; Chen, C.-F.; Chiou, W.-F. *Br.J.Pharm.* **2002**, *135*, 399-406

D'après les études de l'équipe de J.-G. Geng,⁴¹ l'andrographolide se lierait de manière covalente à NFκB sur la sous unité p50. Les sous-unités étant bien conservées, l'inhibition est ubiquitaire.

Depuis cette mise en évidence, d'autres équipes ont confirmé l'activité anti-inflammatoire de l'andrographolide sur la voie NFκB.^{42,43,44,45,46}

⁴¹ Xia, Y.-F.; Ye, B.-Q.; Li, J.-G.; He, X.-J.; Lin, X.; Yao, X.; Ma, D.; Slungaard, A.; Hebbel, R.P.; Key, N.S.; Geng, J.-G. *J.Immunol.* **2004**, *173*, 4207-4217

⁴² Hidalgo, M.A.; Romero, A.; Figueroa, J.; Cortés, P.; Concha, I.I. ; Hancke, J.L. ; Burgos, R.A. *Br.J.Pharmacol.* **2005**, *144*, 680-686

⁴³ Bao, Z.; Guan, S.; Cheng, C.; Wu, S.; Wong, S.H.; Kemeny, D.M.; Leung, B.P.; Wong, W.S.F. *Am.J.Resp.Crit.Care Med.* **2009**, *179*, 657-665

⁴⁴ Levita, J.; Nawawi, A.; Mutalib, A.; Ibrahim, S. *Int.J.Pharmacol.* **2010**, *6*, 569-576

⁴⁵ Chao, W.-W.; Kuo, Y.-H.; Lin, B.-F. *J.Agric.Food Chem.* **2010**, *58*, 2505-2512

⁴⁶ Chao, C.-Y.; Lii, C.-K.; Tsai, I.-T.; Li, C.-C. ; Liu, K.-L. ; Tsai, C.-W. ; Chen, H.-W. *J.Agric.Food Chem.* **2011**, *59*, 5263-5271

1.2. DITERPENES

Les diterpènes représentent une large famille d'isoprénoïdes. Ils sont largement répandus et peuvent être trouvés dans les météorites, les huiles, les sédiments, ainsi que dans le milieu vivant terrestre et marin, végétal et animal. Leur structure est assez variable, ils peuvent être cycliques ou non.⁴⁷

Ces molécules, qu'on retrouve aussi sous le nom de phytanes, sont composés de quatre unités d'isoprène (2-méthylbutane) C_5H_8 , ce qui leur donne une formule générale $C_{20}H_{32}$. Dans la nature, ils sont souvent sous forme d'alcools ou de leurs dérivés glycosylés, d'éthers, d'aldéhydes, de cétones, d'acides carboxyliques ou d'esters.

1.2.1. Diterpènes labdanes

Le terme « labdane » vient d'un arbuste d'origine méditerranéenne (sud de la France, Italie, Espagne) le *Cistus labdaniferus*, qui excrète une résine brune ayant une odeur particulière. De cette résine ont été extraites les premières structures analogues alors nommées labdanediol **L59** et acide hydroxylabdanoïque **L60** (Figure 21).⁴⁸ De nombreux analogues ont aussi été découverts dans des conifères.

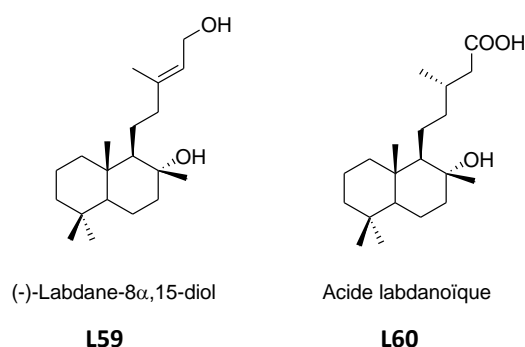


Figure 21 : Structure des premiers labdanes isolés

⁴⁷ Breitmaier, E. dans *Terpenes, Flavors, Fragences, Pharmaca, Pheromones*, Ed. Wiley-VCH, 2008, ISBN-13 978-3-527-31786-8

⁴⁸ Cocker, J.D.; Halsall, T.G.; Bowers, A. *J.Chem.Soc.* **1956**, 4259-4262

Les labdanes ont pour squelette une décaline bicyclique dont la numérotation est indiquée à la Figure 22.⁴⁷

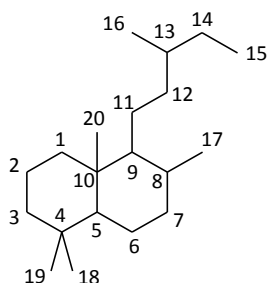


Figure 22 : Numérotation du squelette labdane

Le cycle de gauche sur la figure ci-dessus est désigné comme cycle A, le cycle de droite étant nommé cycle B.

Il existe deux éléments de structure pour classer les labdanes (Figure 23).

- Le premier élément concerne la stéréochimie relative du cycle décaline et la jonction des cycles. Si le méthyle C₂₀ et l'hydrogène en C₅ ont une configuration relative *trans*, alors il s'agit d'une *trans*-décaline. Dans le cas contraire, il s'agit d'une *cis*-décaline.
- Le second élément concerne la configuration absolue du méthyle C₂₀. Les labdanes possédant ce méthyle sur la face β du bicycle sont désignés sous le terme de labdanes et leurs énantiomères *ent*-labdanes.

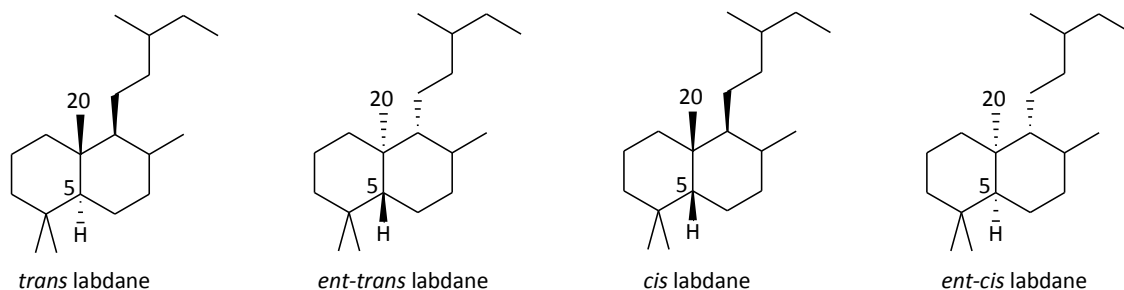


Figure 23 : Représentation et nomenclature des squelettes labdanes

On remarque aussi que les substituants portés par les carbones C₉ et C₁₀ sont toujours de configuration *cis*. Il n'existe pas à notre connaissance de labdane naturel possédant une liaison C₉-C₁₀ de configuration *trans*.

1.2.2. Biosynthèse des labdanes

L'acétylCoenzymeA **L61**, correspondant à l'acide acétique activé, est le précurseur utilisé en milieu biologique pour la formation de terpènes.^{47,49} A la manière d'une condensation de Claisen, deux acétylCoA s'assemblent pour donner un analogue biologique de l'acétoacétate (Schéma 2). En suivant ce schéma de condensation aldolique, l'acétoacétylCoA **L62** réagit de nouveau avec un acétylCoA. Cette condensation est suivie par une réduction enzymatique pour donner l'acide mévalonique **L63**. Une phosphorylation, suivie d'une décarboxylation permet d'obtenir l'isopenténylpyrophosphate IPP **L65** (isoprène activé) dont l'addition sur un isomère aboutit à un monoterpène **L66**. Deux additions successives de ce monoterpène sur IPP permettent d'obtenir un diterpène.

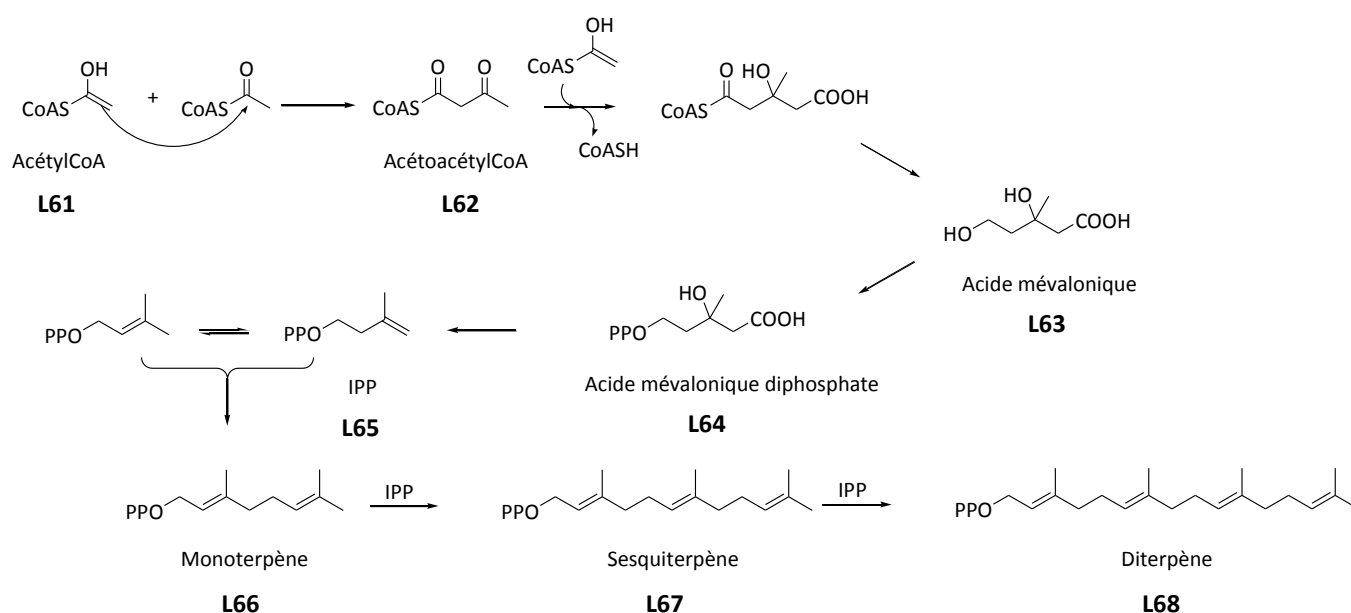


Schéma 2 : Biosynthèse des diterpènes

⁴⁹ Peters, R.J. *Nat.Prod.Rep.* **2010**, 27, 1521-1530

A partir du diterpène linéaire **L68** ainsi formé, une cyclisation enzymatique permet d'aboutir au noyau labdane étudié dans notre cas (Schéma 3).

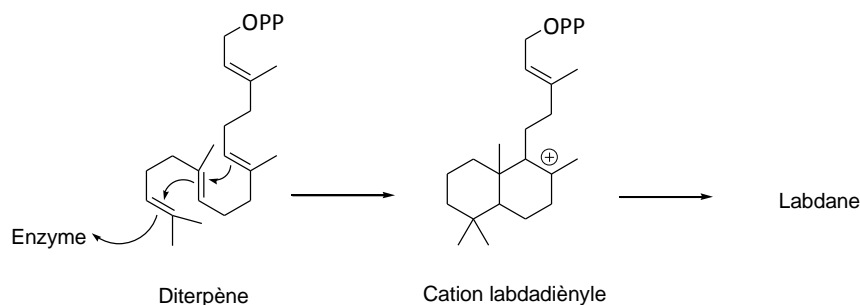


Schéma 3 : Biosynthèse des labdanes

1.2.2.1. Exemples de labdanes naturels

Cette famille de diterpènes propose une grande diversité de structures, en termes de fonctionnalisation et de stéréochimie. Cette large variété permet d'avoir une grande palette d'activités biologiques. Ainsi, biologistes et chimistes ont largement étudié ces composés.

La majorité des diterpènes ont un noyau de type *trans*-décàline. Les structures de type *ent*-labdane semblent moins répandues au sein de cette famille. Tous les carbones du squelette peuvent être fonctionnalisés (*i.e.* oxydés), mais certains labdanes sont peu fonctionnalisés (Figure 24).

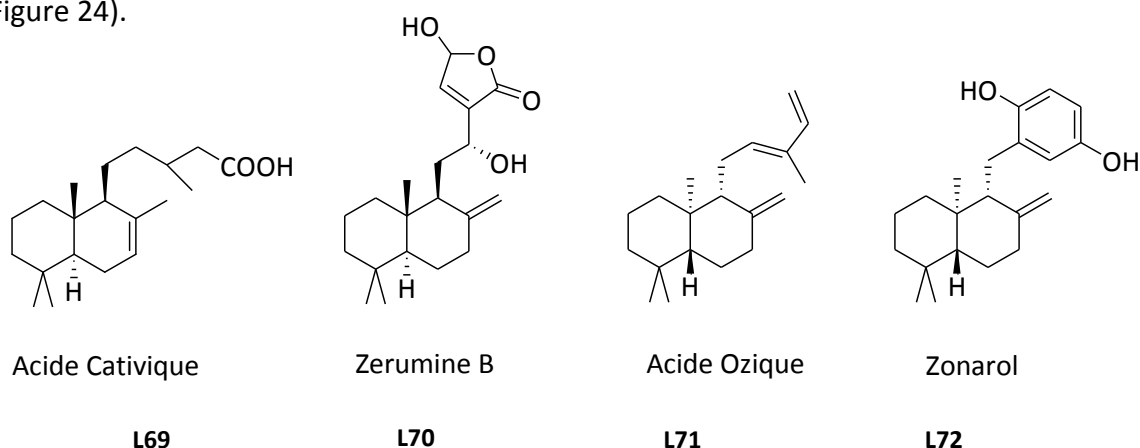


Figure 24 : Exemples de labdanes peu fonctionnalisés

D'autres labdanes peuvent être fonctionnalisés sur le cycle A ou sur le cycle B. La chaîne en position C₉ peut s'arranger de plusieurs manières. On retrouve à la fois des chaînes linéaires, des cycles aromatiques, et aussi des cycles issus de fonctions oxygénées (Figure 25).

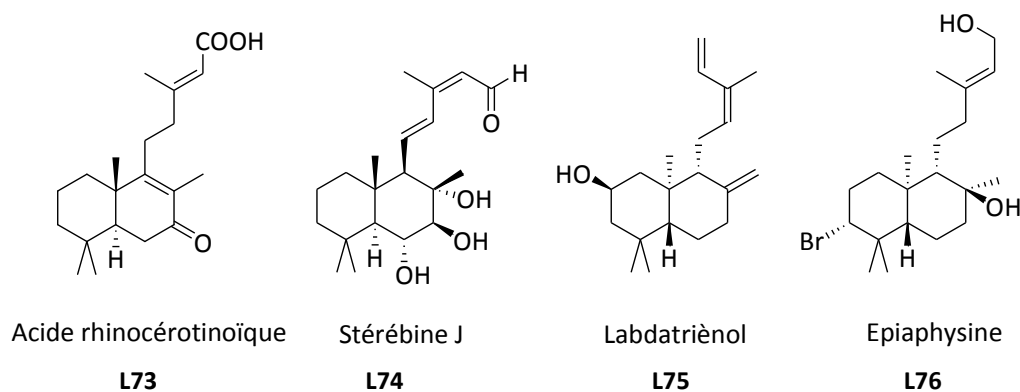


Figure 25 : Exemples de labdanes différemment substitués

Les structures peuvent encore se complexifier (Figure 26). En effet, cette chaîne peut à son tour réagir avec certaines fonctions portées par le bicyclic (en général en position C₈) pour donner des labdanes tricycliques voire tétracycliques et ainsi donner des composés hautement fonctionnalisés comme le siphonol A **L79**.

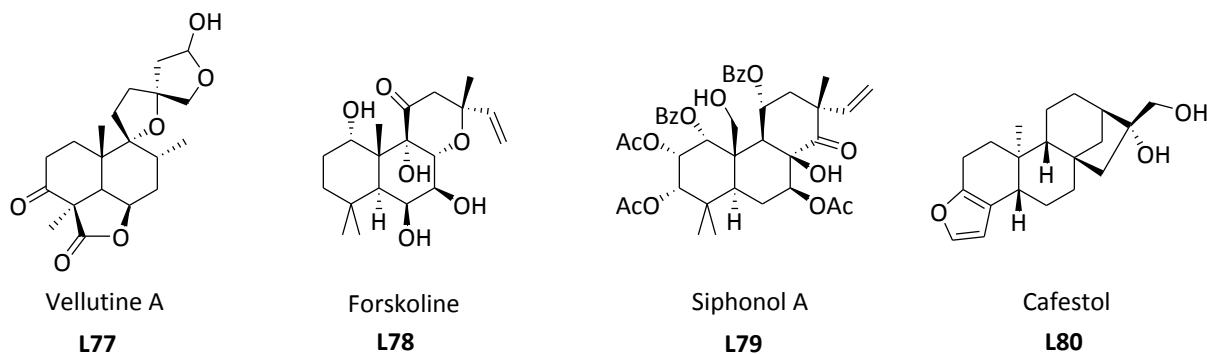


Figure 26 : Exemples de labdanes hautement fonctionnalisés

Les structures présentées ci-dessus ont mis en évidence des activités biologiques intéressantes. La zérumine B **L70** (Figure 24, p26) est reconnue comme inhibiteur de tumeur du cancer du sein.⁵⁰ L'acide rhinocerotinoïque **L73** (Figure 25) possède une activité anti-

⁵⁰ Boukouvalas, J.; Wang, J-X.; Marion, O.; Ndzi, B. *J.Org.Chem.* **2006**, *71*, 6670-6673

inflammatoire.⁵¹ Le labdatriénol **L75** représenté Figure 25, issu de *Plectranthus fruticosus*, a montré des activités antimicrobiennes.⁵²

1.2.3. Méthodes de synthèse des labdanes

La principale difficulté dans la synthèse de diterpènes est l'obtention du bicyclic de manière énantiosélective. La résolution de composés racémiques est en général difficile à mettre en oeuvre et échoue la plupart du temps. Il est donc avantageux d'utiliser des composés optiquement actifs dès le début de la synthèse.

Il existe deux voies principales pour la préparation de ce genre de composés :

- Soit le noyau décaline est obtenu à partir de réactifs de départ bicycliques. C'est le cas des méthodes utilisant l'hémisynthèse ou les dérivés de la dicétone de Wieland-Miescher. Ces méthodes permettent de mettre en place la configuration du méthyle angulaire très tôt dans la synthèse. Il faut ensuite ajouter les différents substituants avec les bonnes configurations, ce qui n'est pas toujours aisé.
- Soit le bicyclic est obtenu par cyclisation stéréocontrôlée, à partir de composés linéaires ou de précurseurs monocycliques plus ou moins fonctionnalisés. C'est le cas des cyclisations biomimétiques, de Diels-Alder ou celles utilisant des métaux de transition (Pd, Ru...). La configuration du méthyle angulaire ainsi que la nature de la décaline dépend alors à la fois de la méthode utilisée et aussi de la configuration des substituants déjà installés sur la chaîne.

Récemment, H. Hagiwara *et al.* ont consacré une revue très complète sur les synthèses totales de diterpènes labdanes.⁵³ Un grand nombre de synthèses pour la série labdane sont

⁵¹ Karioti, A.; Heilmann, J.; Skaltsa, H. *Phytochem.* **2005**, *66*, 1060-1066

⁵² Gaspar-Marques, C.; Simoes, M.F. ; Duarte, A. ; Rodrigues, B. *J.Nat.Prod.* **2003**, *66*, 491-496

⁵³ Awen, B.Z.S.; Nozawa, M.; Hagiwara, H. *Org.Prep.Proced.Int.* **2008**, *40*, 317-363

déjà décrites, cependant la série *ent*-labdane reste moins explorée. Nous avons donc choisi de présenter quelques exemples représentatifs de chaque méthodologie de synthèse qui peut être employée, nous attardant surtout sur les voies permettant d'obtenir un bicyclic de type *trans*-décaline. Aussi, dans la mesure du possible, nous présenterons les synthèses de composés de la série *ent*-labdane qui pourraient être les plus utiles pour notre étude.

1.2.4. Synthèse à partir de précurseurs bicycliques

1.2.4.1. Hémisynthèse

L'hémisynthèse est une voie largement privilégiée pour la synthèse de terpènes, les autres voies de synthèse étant en général complexes et coûteuses à cause du nombre important d'étapes nécessaires. De plus, elle permet d'utiliser des composés abondants dans la nature et/ou commercialement disponibles. Enfin, on obtient plus facilement les stéréochimies recherchées en utilisant le matériel de départ adéquat.

C.A.M. Afonso *et al.* ont récemment publié une revue présentant une grande partie des labdanes qui ont été obtenus par hémisynthèse.⁵⁴ D'après eux, il existe cinq composés commerciaux de base qui permettent d'obtenir de nombreux labdanes (Figure 27).

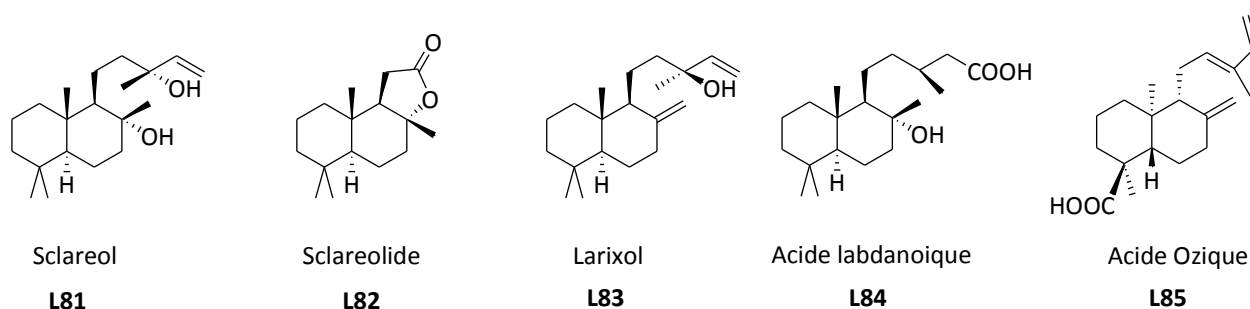


Figure 27 : Composés de squelette basique utilisés pour l'hémisynthèse de labdanes

⁵⁴ Frijia, L.M.T.; Frade, R.F.M.; Afonso, C.A.M. *Chem.Rev.* **2011**, DOI:10.1021/cr100258k

L'acide ozique **L85** permet d'obtenir des *ent*-labdanes. Il s'agit d'un composé extrait de *Hymenaea courbaril*⁵⁵ qui a été utilisé par l'équipe de P.M. Imamura pour la synthèse de l'*ent*-Ambrox **L94** (Schéma 4).⁵⁶

L'Ambrox est un dérivé de l'ambre gris naturel (extrait du sperme de cachalot) qui a été largement utilisé en parfumerie pour ses propriétés odorantes. Le cachalot étant une espèce protégée, il a fallu trouver un moyen de remplacer le composé naturel. L'élaboration de l'Ambrox par hémisynthèse permet donc de l'obtenir en grande quantité. En préparant l'*ent*-Ambrox, l'équipe espérait obtenir des propriétés similaires.

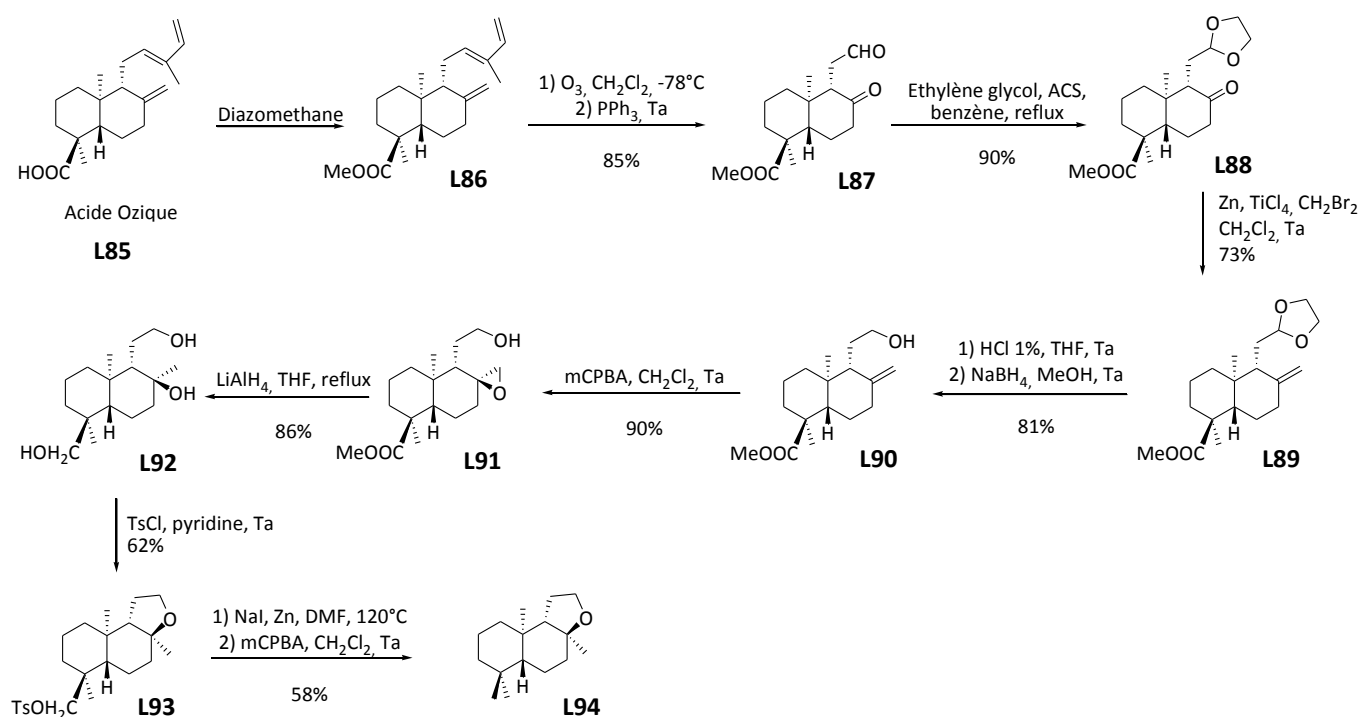


Schéma 4 : Synthèse de l'*ent*-Ambrox à partir de l'acide ozique

La synthèse commence par l'estérification de l'acide ozique par un traitement avec du diazométhane. La réaction de l'ester **L86** avec l'ozone suivie d'un traitement avec PPh₃ fournit le cétoaldéhyde **L87** correspondant avec 85% de rendement. Après la protection sélective de l'aldéhyde, cet intermédiaire **L88** est utilisé dans une réaction d'oléfination en

⁵⁵ Nogueira, R.T.; Giacomini, R.A.; Sheperd, G.; Imamura, P.M. *J.Braz.Chem.Soc.* **2002**, *13*, 389-391

⁵⁶ Giacomini, R.A.; Miranda, P.C..L.; Baptistella, L.H.B.; Imamura, P.M. *Arkivoc* **2003**, *10*, 314-322

suivant un protocole décrit par L. Lombardo en présence de Zn/TiCl₄/CH₂Br₂.⁵⁷ L'oléfine **L89** est alors obtenue avec 73% de rendement. La déprotection de l'acétal **L89** en milieu acide donne l'aldéhyde instable, qui est donc directement engagé dans une réduction avec du NaBH₄ pour donner l'alcool **L90** avec 81% de rendement. Une époxydation avec le mCPBA suivie de la réduction de l'époxyde nouvellement formé au LiAlH₄ permet d'obtenir le triol **L92** avec 77% de rendement. Le traitement des hydroxyles en C₈ et C₁₂ avec 1 équiv. de MsCl conduisant à la cyclisation spontanée en tetrahydrofurane,⁵⁸ le triol a donc été traité avec 2 équiv. de TsCl dans la pyridine pour fournir le composé monotosylé **L93** avec 62% de rendement. Pour finir la synthèse, la réduction de **L93** par un traitement au NaI activé au Zn permet d'obtenir l'*ent*-Ambrox **L94**, mais en mélange avec des isomères oléfiniques inséparables. C'est pourquoi un traitement final au mCPBA a permis de faciliter la purification et d'isoler le composé final pur avec 58% de rendement.

Cette synthèse permet d'obtenir l'*ent*-Ambrox **L94** avec un rendement global de 13% sur onze étapes à partir de l'ester méthylique de l'acide ozique **L85**. Les problèmes de stéréochimie sont évités à la fois par l'utilisation de l'acide ozique dont les centres stéréogènes correspondent au produit final, mais aussi par le fait que ce produit final est peu substitué et que la synthèse ne nécessite pas d'introduire d'autres substituants sur le bicycle.

1.2.4.2. Utilisation de la dicétone de Wieland-Miescher

L'utilisation de la cétone de Wieland-Miescher **L95** (Figure 28) pour la synthèse de terpènes est la méthode la plus utilisée dans la littérature.

⁵⁷ Lombardo, L. *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 4293-4296

⁵⁸ Nunes, F.M.N.; Imamura, P.M. *J.Braz.Chem.Soc.* **1996**, 7, 181-187

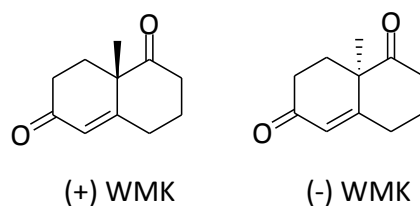


Figure 28 : Représentation des deux énantiomères de la dicétone de Wieland-Miescher (WMK) L95

En effet, l'obtention de cette dicétone à partir de composés simples en une étape permet d'obtenir un bicyclic ainsi que la configuration désirée pour le méthyle angulaire.

Cette méthode ayant été retenue pour la synthèse de notre composé cible, nous présentons un rapport bibliographique plus détaillé sur la préparation de la dicétone et son utilisation.

Au début des années 1970, deux groupes industriels ont séparément étudié la réaction aldol intramoléculaire asymétrique de 2-alkyl-2-(3-oxoalkyl)-cyclopentane-1,3-diones **L96** en utilisant des acides aminés. Z.G. Hajos et D.R. Parrish chez Hoffmann-La-Roche ont montré qu'une quantité catalytique de (*S*)-proline était suffisante pour la cyclisation de tels composés et permettait l'induction de stéréosélectivité.⁵⁹ Ainsi, l'utilisation d'une quantité catalytique d'acide aminé, dans un solvant aprotique tel que le DMF conduit à la cyclisation stéréosélective du composé de départ achiral en alcool **L97**. Une déshydratation avec de l'APTS permet d'obtenir l'énone bicyclique **L98**.

D'autre part, R. Wiechert *et al.* ont montré que l'énone pouvait être directement obtenue en présence de (*S*)-proline et d'un co-catalyseur acide tel que HClO₄.⁶⁰

Cette réaction aldolique intramoléculaire asymétrique est couramment appelée réaction de Hajos-Parrish, mais peut être aussi rapportée comme la réaction de Hajos-Parrish-Eder-Sauer-Wiechert (Schéma 5).

⁵⁹ Hajos, Z.G.; Parrish, D.R. *J.Org.Chem.* **1974**, *39*, 1615-1621

⁶⁰ Eder, U.; Sauer, G.; Wiechert, R. *Angew.Chem.Int.Ed.Engl.* **1971**, *10*, 496-497

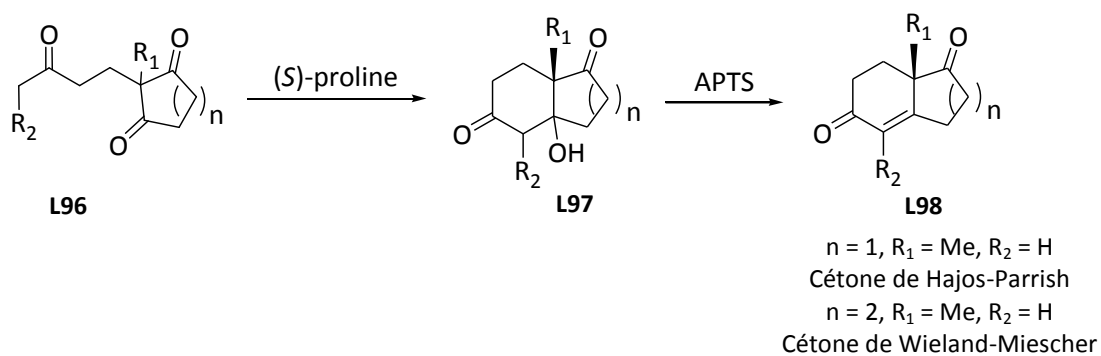


Schéma 5 : Réaction de Hajos-Parrish

Le mécanisme de cette réaction a été longuement étudié. Dernièrement, B. List *et al.* ont proposé un mécanisme de type énamine présenté selon le Schéma 6.⁶¹

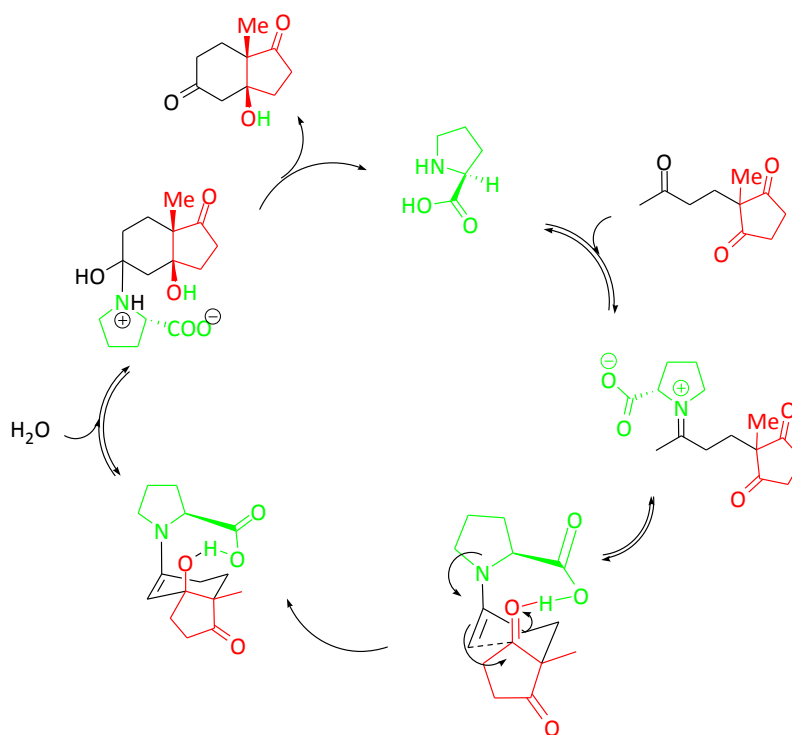


Schéma 6 : Mécanisme de la réaction

⁶¹ Hoang, L.; Bahmanyar, S.; Houk, K.; List, B. *J.Am.Chem.Soc.* **2003**, *125*, 16-17

L'acide aminé forme tout d'abord un iminium par réaction avec le carbonyle de la chaîne linéaire de la tricétone. L'énamine résultante permet l'attaque préférentielle sur un des deux carbonyles du cycle en fonction de la stéréochimie du catalyseur. La proline et ses dérivés sont utilisés dans la plupart des cas.⁶² N. Harada *et al.* ont ainsi mis au point un protocole pour la préparation de la cétone de Wieland-Miescher optiquement pure par une série de cristallisations.⁶³ La préparation de la tricétone est réalisée par addition de Michael de la 2-méthylcyclohexane-1,3-dione sur la méthylvinylcétone, dans l'eau et en présence d'hydroquinone pour éviter la polymérisation de la méthylvinylcétone.

Différents groupes se sont ensuite intéressés à cette réaction et ont tenté de généraliser la cyclisation pour des composés avec R₁ et R₂ variés, en utilisant d'autres auxiliaires chiraux, (dérivés de la proline,^{64,65} ou non^{66,67}).

Ces auxiliaires ont été très utilisés pour la synthèse totale de composés naturels et notamment pour les diterpènes labdanes.

Comme pour la plupart des autres voies de synthèse, la préparation de composés de type *ent*-labdane est beaucoup moins décrite dans la littérature. Cependant, l'équipe de E.A. Theodorakis a effectué en 2001 la synthèse totale et énantiosélective de l'acide acanthoïque **L111**, un agent anti-inflammatoire (Schéma 7).⁶⁸

La synthèse de l'acide acanthoïque a été réalisée à partir de la cétone de Wieland-Miescher **L95**, obtenue classiquement par cyclisation de Hajos-Parrish en utilisant la *D*-proline. Après protection du carbonyle C₉ avec de l'éthylène glycol en milieu acide, l'acétal **L99** est soumis à une réduction alkylante de Birch. Ainsi un traitement avec du lithium dans l'ammoniaque liquide en présence de *t*BuOH, suivi d'un piégeage de l'énolate formé avec le méthylcyanoformate permettent d'obtenir le composé dicarboxylé **L100**. Avec un contrôle rigoureux de la température (réaction effectuée entre -78°C et -45°C), l'isomérisation de

⁶² List, B. *Synlett* **2001**, 1675-1686

⁶³ Harada, N.; Sugioka, T.; Uda, H.; Kuriki, T. *Synthesis* **1990**, 53-56

⁶⁴ Bui, T.; Barbas III, C.F. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6951-6954

⁶⁵ Davies, S.G.; Sheppard, R.L.; Smith, A.D.; Thomson, J.E. *Chem.Comm.* **2005**, 3802-3804

⁶⁶ Kanger, T.; Kriis, K.; Laars, M.; Kailas, T.; Mrisepp, A.-M.; Pehk, T.; Lopp, M. *J.Org.Chem.* **2007**, *72*, 5168-5173

⁶⁷ Mori, K.; Katoh, T.; Suzuki, T.; Noji, T.; Yamanaka, M.; Akiyama, T. *Angew.Chem.Int.Ed.* **2009**, *48*, 1-4

⁶⁸ Ling, T.; Chowdhury, C.; Kramer, B.A.; Vong, B.G.; Palladino, M.A.; Theodorakis, E.A. *J.Org.Chem.* **2001**, *66*, 8843-8853

l'énolate est évitée et l'alkylation a lieu uniquement en position C₄. Le cétoester est ensuite sélectivement O-alkylé avec le chlorure de méthoxyméthyle en présence d'hydruure de sodium pour donner le méthoxyméthyl éther correspondant, qui subit alors un traitement avec du lithium dans l'ammoniaque liquide, entraînant la déoxygénation du C₃. L'addition d'iodométhane permet l'obtention de **L102** avec le centre quaternaire C₄ de stéréochimie désirée.

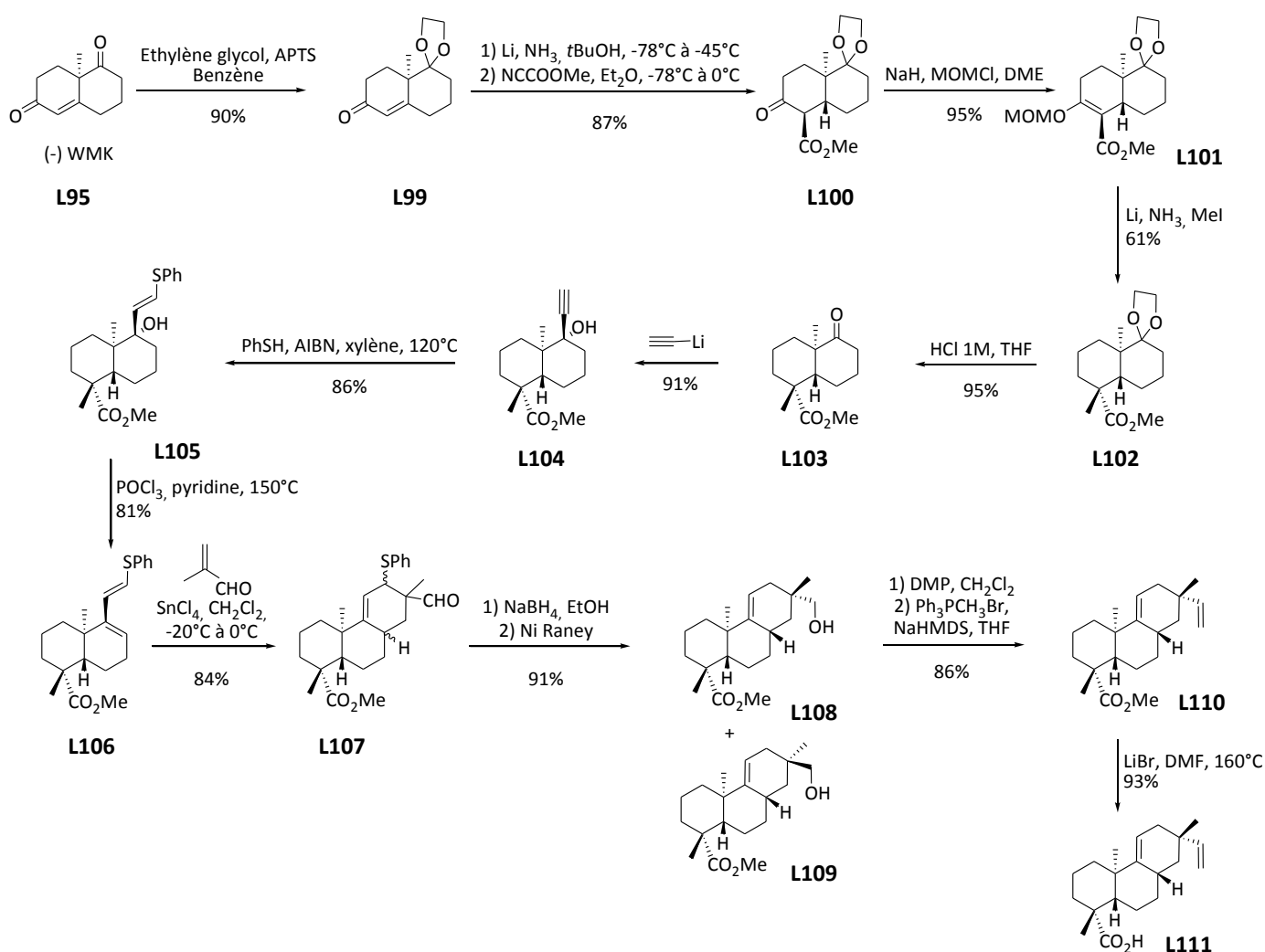


Schéma 7 : Synthèse totale de l'acide acanthoïque

La synthèse se poursuit avec la fonctionnalisation du cycle B. L'acétal est alors déprotégé en milieu acide et la cétone obtenue est alkylée avec de l'acétylure de lithium pour donner **L104**. Cette séquence permet d'obtenir l'alcène sous forme d'un mélange de deux diastéréoisomères de rapport 8:1 en faveur de l'isomère (9S) dessiné avec 91% de

rendement. Le traitement de l'alcyne avec du thiophénol dans des conditions radicalaires conduit à la formation du sulfure vinylique intermédiaire, dont le traitement au POCl_3 donne le diène **L106** correspondant *via* la formation d'un intermédiaire instable de chlorure d'allyle. Ce diène est alors engagé dans une réaction de Diels-Alder catalysée par du chlorure d'étain, en utilisant la méthacroléine comme diénophile. Le composé cyclique **L107** correspondant est obtenu avec 84% de rendement sous la forme d'un mélange inséparable de diastéréomères (21:5). Afin de séparer les deux aldéhydes, ceux-ci sont soumis à une réduction en conditions classiques avec du NaBH_4 puis à une désulfuration réductrice avec du Nickel de Raney pour former les deux alcools **L108** et **L109** correspondants, séparables par chromatographie sur gel de silice. Le traitement de l'isomère d'intérêt avec du periodinane de Dess-Martin suivi d'une méthylation de Wittig conduit à l'alcène **L110**. Pour finir, l'acide acanthoïque **L111** est obtenu après saponification de l'ester en position C_4 .

Cette synthèse de quatorze étapes permet d'obtenir le composé cible avec un rendement global de 9% à partir de la dicétone de Wieland-Miescher.

La stratégie présentée ici montre que cette voie est efficace et permet la préparation de composés complexes. De plus, la mise au point d'une telle méthode permet d'accéder à des analogues fonctionnalisés sur diverses positions, ce qui est difficilement le cas de la voie hémisynthétique.

1.2.5. Synthèse par cyclisation stéréocontrôlée

Bien que la préparation de la cétone de Wieland-Miescher soit issue d'une méthode de type annélation asymétrique de Robinson, nous distinguerons les autres voies de cyclisation par le fait qu'elles impliquent la préparation de précurseurs de cyclisation les plus fonctionnalisés possibles afin de mettre en œuvre la cyclisation en fin de synthèse.

Nous présentons ici les méthodes décrites pour la synthèse de labdanes.

1.2.5.1. Cyclisation enzymatique

La cyclisation enzymatique est une voie peu utilisée pour la synthèse de labdanes. Ceci est probablement dû au fait que le site actif de l'enzyme est conçu pour un type de réaction mais aussi pour un substrat spécifique. Ainsi, une modification mineure du précurseur de cyclisation peut entraîner un échec de la cyclisation. Cependant, cela reste une voie intéressante car très sélective, catalytique et écocompatibilité.

Il existe un exemple dans la littérature d'une enzyme isolée du riz qui permet la cyclisation stéréo-sélective de dérivés diterpénoides linéaires.^{69,70,71,72} Cette enzyme nommée *ent*-copalyl diphosphate synthase (CPS) conduit à la cyclisation de géranylgéranyl diphosphate dans la configuration *ent*-labdane (Schéma 8). D'après les auteurs, elle pourrait être utilisée dans la synthèse d'autres dérivés diterpéniques plus complexes.

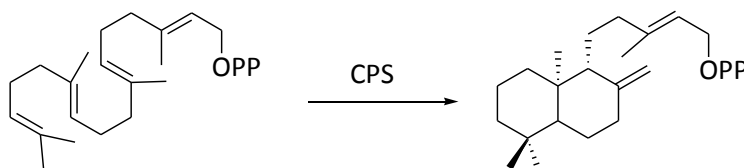


Schéma 8 : Cyclisation stéréo-sélective de géranylgéranyl diphosphate par la copalyl diphosphate synthase

Cette découverte étant assez récente, il n'y a pas encore de synthèse illustrant l'utilisation de cette enzyme.

Cependant, l'équipe de T. Hoshino a montré qu'il était possible d'obtenir ce genre de cyclisations pour obtenir efficacement des analogues de squalène (un triterpène linéaire), en utilisant la squalene-hopene cyclase (SHC) obtenue à partir de bactéries de type *E.coli*.⁷³

⁶⁹ Xu, M.; Hillwig, M.L.; Pristic, S.; Coates, R.M.; Peters, R.J. *Plant J.* **2004**, *39*, 309-318

⁷⁰ Otama, K.; Kenmoku, H.; Oikawa, H.; Konig, W.A.; Toshima, H.; Mitsuhoski, W.; Yamane, H.; Sassa, T.; Toyomasu, T. *Plant J.* **2004**, *39*, 886-893

⁷¹ Sakamoto, T.; Miura, K.; Itoh, H.; Tatsumi, T.; Ueguchi-Tanaka, M.; Ishiyama, K.; Kobayashi, M.; Agrawal, G.K.; Takeda, S.; Abe, K.; Miyao, A.; Hirochika, H.; Kitano, H.; Ashikari, M.; Matsuoka, M. *Plant Physiol.* **2004**, *134*, 1642-1653

⁷² Pristic, S.; Xu, M.; Wilderman, P.R.; Peters, R.J. *Plant Physiol.* **2004**, *136*, 4228-4236

⁷³ Nakano, S.-I.; Ohashi, S.; Hoshino, T.; *Org.Biomol.Chem.* **2004**, *2*, 2012-2022

1.2.5.2. Cyclisation biomimétique

La cyclisation biomimétique est aussi très utilisée pour la synthèse de terpénoïdes. L'avantage de cette méthode est la construction du système carbocyclique à partir d'un précurseur convenablement fonctionnalisé. De plus, il est possible de contrôler la stéréochimie lors de la cyclisation en insérant un carbone de configuration connue sur le précurseur. En général, ce centre stéréogène est placé sur le futur carbone C₃ du bicyclic, ce qui fait qu'en suivant le mécanisme biosynthétique présenté Schéma 3 (p26), ce carbone quaternaire asymétrique contrôle la stéréochimie du bicyclic.

A notre connaissance, il n'existe pas à ce jour de synthèse biomimétique d'*ent*-labdanes dans la littérature. Cependant, la stéréochimie du méthyle angulaire dépendant de la stéréochimie du précurseur de cyclisation, il serait possible de créer ces composés en utilisant la même méthodologie, à partir des énantiomères des substrats utilisés.

Il existe différentes manières d'obtenir ce type de cyclisations à partir d'un précurseur linéaire, qui est en général un dérivé du géraniol **L112** ou du farnésol **L113** (Figure 29), diversement fonctionnalisé pour accéder au produit cyclisé.

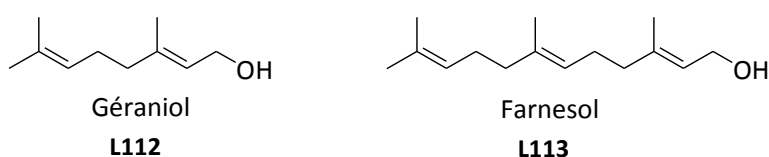


Figure 29 : Structures du géraniol et du farnésol

La cyclisation est réalisée par catalyse acide, ce qui permet la formation d'un carbocation. Le carbocation cyclisé est neutralisé en fin de réaction par addition d'eau dans le milieu. Il est possible de cycliser des chaînes linéaires très peu fonctionnalisées par une séquence activation/cyclisation/terminaison.⁷⁴

⁷⁴ Dennison, S.T.; Harrowven, D.C. *J.Chem.Ed.* **1996**, *73*, 697-701

Par exemple, M. Grinco *et al.* décrivent la possibilité de cycliser plusieurs chaînes différentes avec un super acide, le FSO_3H dans le 2-nitropropane à -78°C .⁷⁵ Cette méthode leur permet de réaliser la synthèse d'un diterpène de type sacculatane.

Les acides aqueux sont assez peu utilisés pour la synthèse totale de composés naturels. Ces synthèses se font plutôt en utilisant des conditions avec acide de Lewis ($\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$, SnCl_4 , MeAlCl_2), ou alors en conditions radicalaires en présence de titane ou de cuivre.

- Cyclisation par formation d'un carbocation avec un acide de Lewis

Les cyclisations mettant en jeu les acides de Lewis sont réalisées à partir d'époxydes.

La synthèse de l'aphidicoline **L118** a été réalisée par S.P. Tanis avec le $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ (Schéma 9).⁷⁶ Ainsi, en utilisant les groupements protecteurs appropriés et par la formation d'un époxyde chiral **L115** *via* l'époxydation asymétrique de Sharpless, il a pu contrôler la régio- et la stéréosélectivité de la cyclisation. La cyclisation a été facilitée par l'introduction de deux groupements aromatiques (la protection benzylique et le furane) ce qui permet un rapprochement des extrémités de la chaîne. Une fois le composé cyclisé **L117** obtenu, il a pu préparer l'aphidicoline **L118**.

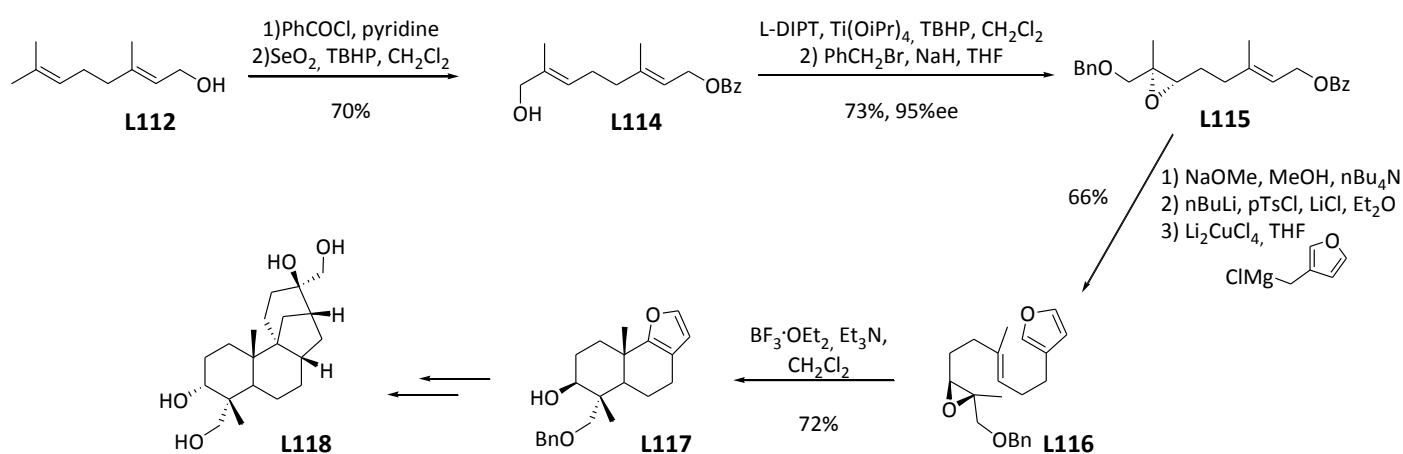


Schéma 9 : Synthèse de l'aphidicoline

⁷⁵ Grinco, M.; Kulcitki, V.; Ungur, N.; Vlad, P.F.; Gavarin, M.; Castelluccio, F.; Cimino, G. *Helv.Chim.Acta* **2008**, *91*, 249-258

⁷⁶ Tanis, S.P. *J.Org.Chem.* **1988**, *53*, 4929-4938

Le mécanisme de la réaction suit celui de la biosynthèse. L'acide de Lewis permet une ouverture de l'époxyde avec formation du carbocation le plus substitué. Les doubles liaisons réagissent alors en cascade afin de former le bicycle.

E.J. Corey *et al.* ont présenté une synthèse de triterpène pentacyclique de la famille des β -amyrines, avec le MeAlCl_2 en tant que catalyseur.⁷⁷ Ils utilisent eux aussi un époxyde, obtenu à partir d'un diol par dihydroxylation asymétrique de Sharpless. Le même groupe a aussi pu réaliser la synthèse de l' α -onocérine par tétracyclisation en cascade faisant intervenir cette même méthode.⁷⁸

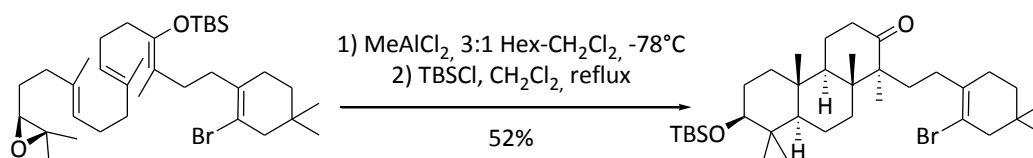


Schéma 10

Toujours avec le $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, l'équipe de M. Franck-Neumann a montré qu'il était possible de réaliser une cyclisation cascade stéréo-sélective par addition de $\text{Fe}(\text{CO})_3$ qui complexe le diène.^{79,80}

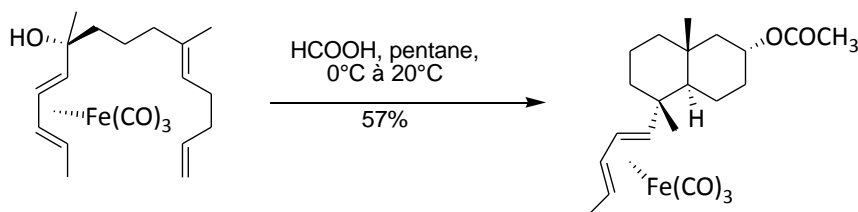


Schéma 11

⁷⁷ Huang, A.X.; Xiong, Z.; Corey, E.J. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9999-10003

⁷⁸ Mi, Y.; Schreiber, J.V.; Corey, E.J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11290-11291

⁷⁹ Franck-Neumann, M.; Geoffroy, P.; Hanss, D. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 8487-8490

⁸⁰ Franck-Neumann, M., Geoffroy, P.; Hanss, D. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 2277-2280

- Cyclisation radicalaire

En 2004, l'équipe de J.M.Cuerva a proposé une synthèse totale de la rostratone **L122** par voie biomimétique (Schéma 13).⁸¹ Cette voie utilise le titane en présence de manganèse qui permet de former les radicaux selon le mécanisme présenté Schéma 12.

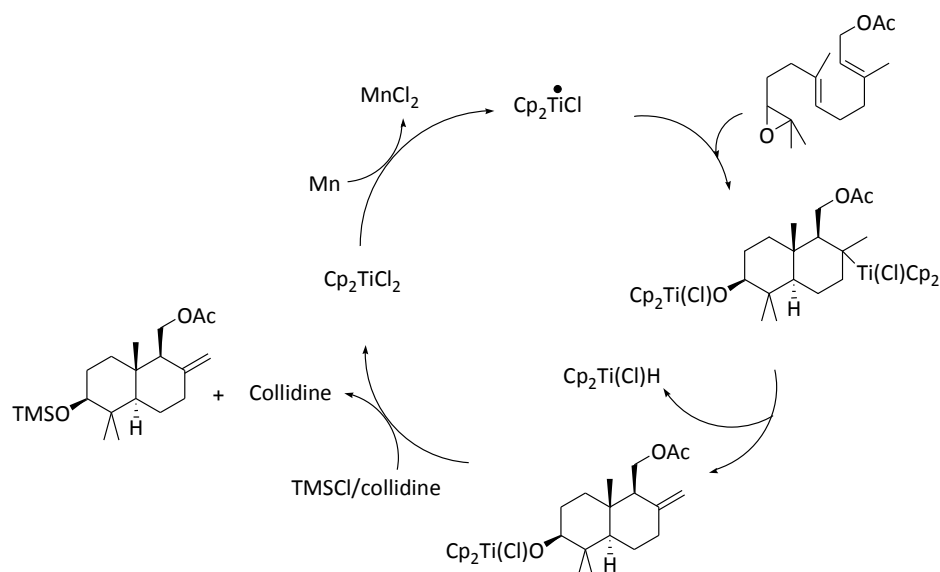


Schéma 12 : Cycle catalytique de la cyclisation radicalaire

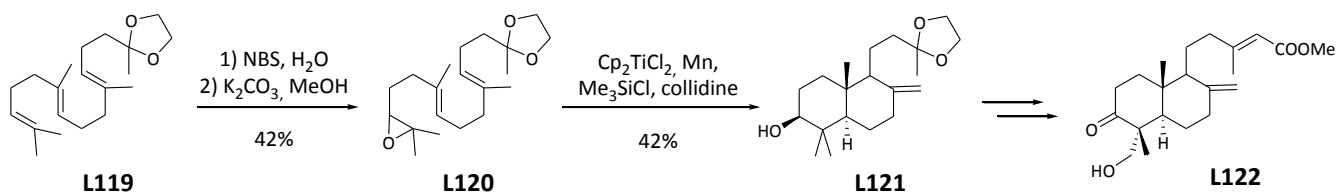


Schéma 13 : Synthèse totale de la rostratone

L'acétal du farnésylacétone **L119**, préparé à partir du farnésylacétone commercial, est dans un premier temps époxydé par formation d'un bromonium avec du NBS qui est traité en milieu basique aqueux pour donner l'époxyde **L120**. L'époxyde racémique est soumis à la cyclisation biomimétique en présence de titane et de manganèse.⁸² Cette cyclisation

⁸¹ Justicia, J.; Oltra, J.E.; Cuerva, J.M. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 4293-4296

⁸² Justicia, J.; Rosales, A.; Bunuel, E.; Oller-Lopez, J.L.; Valdivia, M.; Haidour, A.; Oltra, J.E.; Barrero, A.F.; Cardenas, D.J.; Cuerva, J.M. *Chem.Eur.J.* **2004**, *10*, 1778-1788

radicalaire en milieu strictement anhydre aboutit à la formation régio-sélective du bicyclic labdane **L121** avec 17% de rendement à partir du farnésylacétone.

La synthèse étant réalisée sur des composés racémiques, il existe sûrement un mélange de stéréo-isomères puisqu'aucun centre stéréogène n'est contrôlé, ce qui n'est pas mentionné par les auteurs.

Finalement, après plusieurs étapes d'allongement de la chaîne, la rostratone **L122** est obtenue en dix étapes avec un rendement global de 1,4%.

Il est aussi possible de former les radicaux avec d'autres métaux tels que le zinc.⁸³

P.A. Zoretic *et al.* ont eux aussi décrit une synthèse totale d'un composé bicyclique mettant en jeu une méthode radicalaire biomimétique à partir d'un β -cétoester **L123** (Schéma 14).⁸⁴

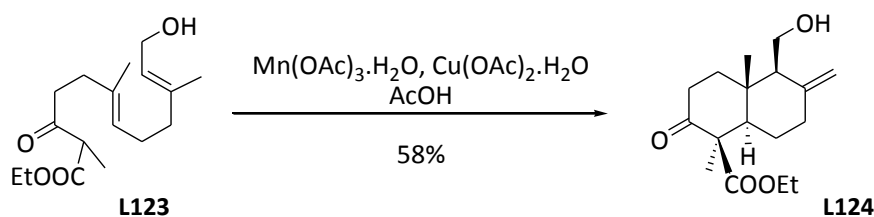


Schéma 14 : Cyclisation radicalaire

La synthèse est alors racémique puisqu'il n'existe pas de carbone asymétrique contrôlé dans le précurseur de cyclisation, même si les auteurs présentent la stéréochimie dessinée ci-dessus.

⁸³ Haruo, Y.; Hasegawa, T.; Tanaka, H.; Takahashi, T. *Synlett* **2001**, 12, 1935-1937

⁸⁴ Zoretic, P.A.; Fang, H. *J.Org.Chem.* **1998**, 63, 4779-4785

1.2.5.3. Cyclisation de Diels-Alder

La cyclisation de Diels-Alder est très peu développée pour la synthèse de labdanes car elle conduit à la formation de bicycles de type *cis*-décàline pour une réaction mettant en jeu le dièneophile sous la forme de cyclohexène (Schéma 15).

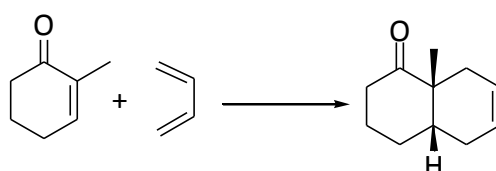


Schéma 15 : Réaction de Diels-Alder

Le cycle peut alors être utilisé comme diène afin d'éviter ce phénomène. Dans les deux cas, il existe une synthèse de labdanes que nous pouvons présenter ici.

- Cas où le cycle est le dièneophile : synthèse du (\pm)-érigérol **L130**

Une synthèse racémique de l'érigérol **L130** (Schéma 16) est proposée par F. Kienzle *et al.*⁸⁵ et met en jeu une méthodologie de cyclisation de type Diels-Alder.

La réaction entre le diène **L125** et la 2,6-diméthylbenzoquinone **L126** permet d'obtenir la *cis*-décàline **L127** correspondante. Après plusieurs étapes de réduction, déprotection, protection, alkylation, le dérivé **L128** est engagé dans une réaction d'isomérisation avec Al_2O_3 . La *trans*-décàline **L129** est ainsi formée et la synthèse se poursuit par la fonctionnalisation du reste de la molécule pour aboutir à l'érigérol **L130** racémique désiré, de configuration relative dessinée ci-dessous.

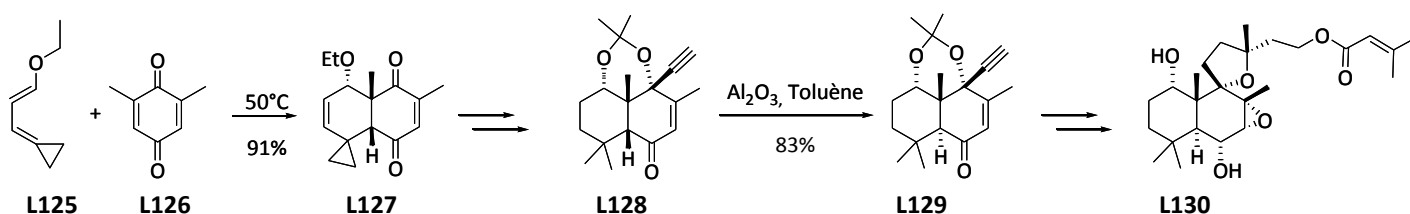


Schéma 16 : Etapes clé de la synthèse totale racémique de l'érigérol

⁸⁵ Kienzle, F.; Stadlwieser, J.; Mergelsberg, I. *Helv.Chim.Acta.*, **1989**, 72, 348-352

Certaines synthèses de labdanes évitent la formation de la *cis*-décaline en utilisant le cycle comme diène, ceci permet de s'affranchir de l'étape d'isomérisation, qui nécessite d'autre part d'avoir un carbonyle en position C₆.

- Cas où le cycle est le diène : synthèse de la forskoline **L133**

Dans le cas de la synthèse de la forskoline **L133** (Schéma 17) proposée par B. Delpech *et al.*,⁸⁶ le cycle est fonctionnalisé pour donner le composé **L131**, de manière à jouer le rôle de diène dans la réaction de Diels-Alder intramoléculaire.

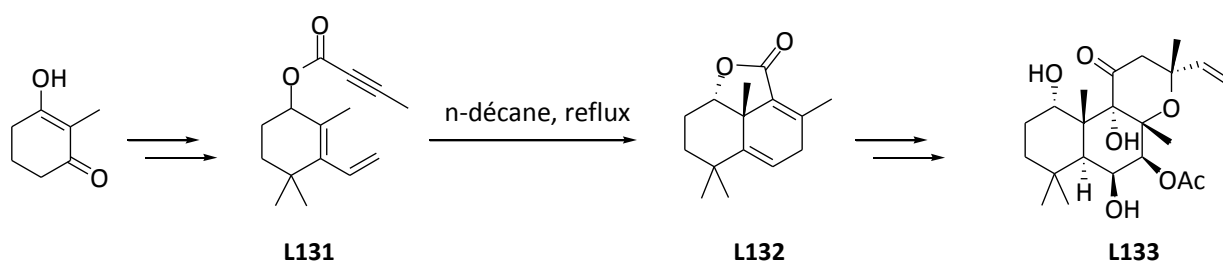


Schéma 17 : Etapes clés de la synthèse totale de la forskoline

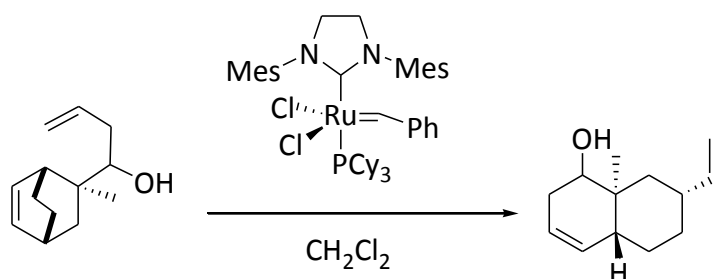
Grâce à cette méthode, il est possible de réduire sélectivement la double liaison en jonction de cycle du composé **L132** et ainsi obtenir directement une *trans*-décaline qui sera engagée dans diverses manipulations, de manière à obtenir le produit naturel.

1.2.5.4. Utilisation de métaux de transition

L'emploi de métaux de transition peut permettre l'obtention d'un bicyclic. Notamment, il existe des formations de décalines par métathèse cyclisante. En effet, l'équipe de A.J. Phillips a mis au point une étude méthodologique qui permet d'obtenir des bicyclics, de stéréochimie *trans*-décaline (Schéma 18).⁸⁷

⁸⁶ Delpech, B.; Calvo, D.; Lett, R. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, 1015-1018 ; Delpech, B.; Calvo, D.; Lett, R. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 1019-1022

⁸⁷ Minger, T.L.; Phillips, A.J. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 53-57-5359

Schéma 18 : Préparation de la *trans*-décaldine par RCM

Récemment, l'équipe de B.M. Trost a mis en évidence qu'une cyclo-isomérisation à partir d'ényne conduirait à une *trans*-décaldine avec un catalyseur au ruthénium, ou une *cis*-décaldine avec un catalyseur au palladium.⁸⁸

Cependant, il n'existe pas encore à notre connaissance de synthèses totales de labdanes utilisant cette méthode, mais d'autres produits naturels bicycliques ont pu être préparés par cette voie.

D'autre part, la synthèse d'un diterpène, la cyathine B2 **L136** (Schéma 19), a été mise au point par K. Kin et J.K. Cha.⁸⁹ La synthèse entraîne la préparation d'un précurseur complexe **L134**, qui est engagé dans une réaction de métathèse cyclisante avec le catalyseur de Grubbs de deuxième génération pour donner le tétracycle **L135**.

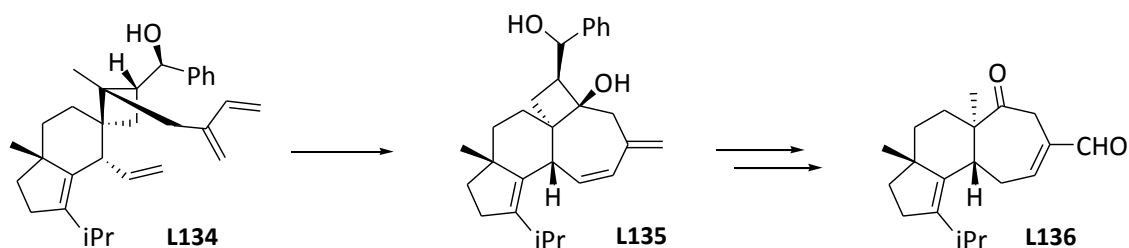


Schéma 19 : Etape de RCM pour la synthèse de cyathine B2

⁸⁸ Trost, B.M.; Gutierrez, A.C.; Ferreira, E.M. *J.Am.Chem.Soc.* **2010**, *132*, 9206-9218

⁸⁹ Kin, K.; Cha, J.K. *Angew.Chem.Int.Ed.* **2009**, *48*, 5334-5336

1.2.5.5. Autres méthodes

Il existe quelques voies, autres que celles présentées ci-dessus, pouvant conduire à la synthèse de labdanes.

- Réduction de dérivés du naphthalène : synthèse d'oryzalexines **L137**

La synthèse d'oryzalexines **L137** est réalisée à partir du dihydroxynaphthalène.⁹⁰ En suivant une procédure de Cornforth et Robinson (réduction au Na, puis déprotection de l'énol), un des deux cycles aromatiques est réduit comme présenté Schéma 20.

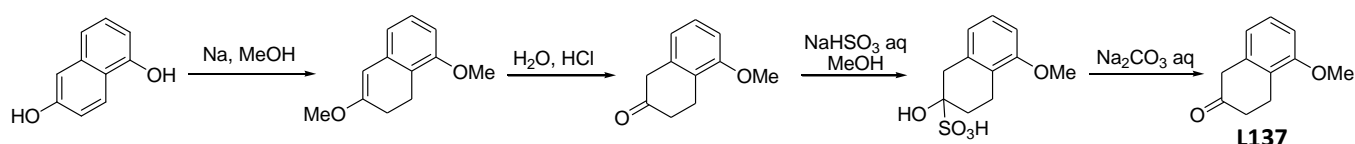


Schéma 20 : Procédure de Cornforth et Robinson

A partir de ce bicyclic partiellement aromatique **L137**, les auteurs ont préparé une molécule tricyclique puis réduit le cycle aromatique avec du nickel de Raney afin de former le noyau diterpénique. Après quelques manipulations fonctionnelles (alkylation, oxydations et réductions), cette synthèse conduit à la formation de l'oryzalexine A, et potentiellement à d'autres dérivés de la même famille (Schéma 21).

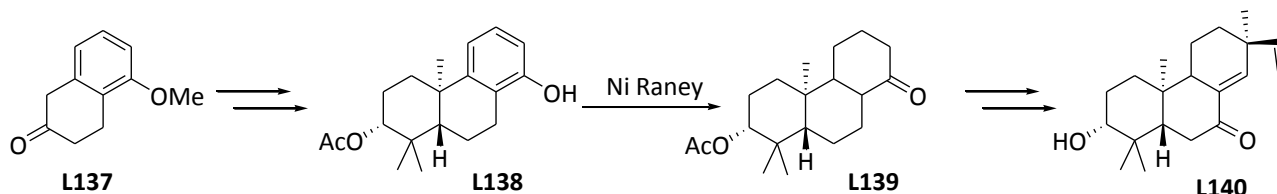


Schéma 21 : Préparation du noyau diterpénique pour la synthèse d'oryzalexine A

⁹⁰ Mori, K.; Waku, M. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 5653-5660

- Cyclisation de dérivés halogénés : synthèse de l'hispanone L144

En 2000, l'équipe de K. Seifert a réalisé la synthèse totale de l'hispanone **L144** (Schéma 22)⁹¹ et d'autres dérivés labdanoïdes par une voie conduisant à la formation de bromure d'allyle qui peuvent se cycliser en *trans*-décaline en milieu acide fort.

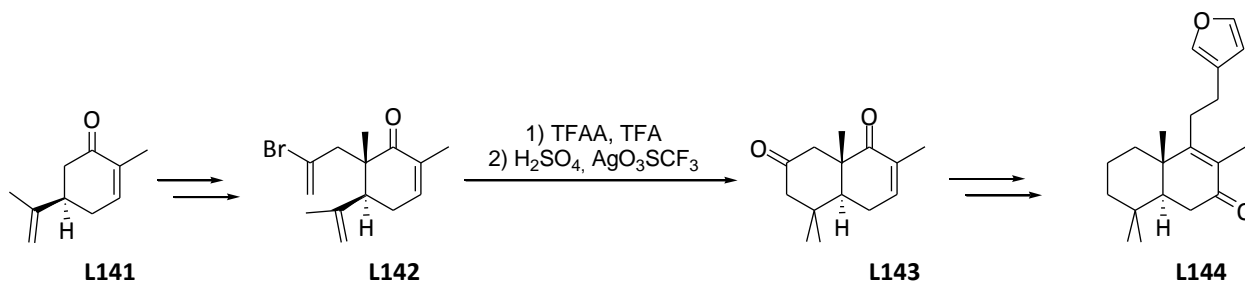


Schéma 22 : Synthèse de l'hispanone

A partir de la (*R*)-Carvone **L141** commerciale, une double alkylation en α du carbonyle permet de préparer le bromure d'allyle **L142** nécessaire à la cyclisation, qui s'effectue en milieu acide fort, pour aboutir à la formation du bicyclic *trans*-décaline **L143**. Finalement, après plusieurs étapes de réduction, désoxygénation et alkylation, les auteurs sont parvenus à la formation de l'hispanone **L144** désirée.

- Cyclisation radicalaire de macrolides : synthèse d'eudesmanolides L146

Pour la synthèse des eudesmanolides (lactones sesquiterpéniques), les auteurs se sont inspirés de leur biosynthèse.⁹² Cette synthèse passe par la formation d'un macrocycle (portant un époxyde), qui, en conditions radicalaires selon le mécanisme présenté Schéma 12 (p41), se cyclise en noyau labdane.

Ainsi à partir d'un macrolide **L145** convenablement protégé et par cyclisation radicalaire dans les conditions mises au point, la (+)- β -cyclopyréthrosine **L146** a été obtenue avec un rendement de cyclisation de 47% (Schéma 23).

⁹¹ Hersel, U.; Steck, M.; Seifert, K. *Eur.J.Org.Chem.* **2000**, 1609-1615

⁹² Barrero, F.; Rosales, A.; Cuerva, J.M.; Oltra, J.E. *Org.Lett.* **2003**, 5, 1935-1938

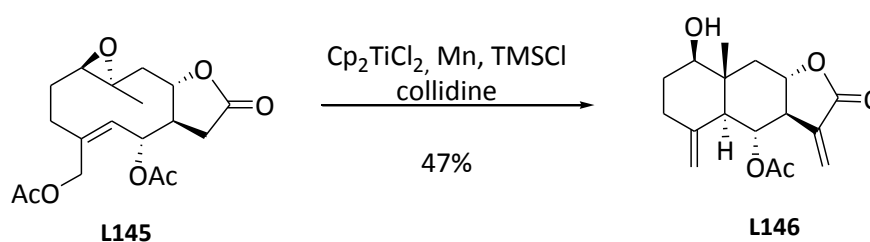


Schéma 23 : Synthèse de la (+)-6-cyclopyrèthrosine

1.2.6. Conclusion sur les synthèses proposées par la bibliographie

La littérature rapporte un grand nombre de voies de synthèses pour la préparation de bicyclics de types labdanes. Certaines sont peu utilisées et parmi les plus fréquentes, on retrouve l'hémi-synthèse, la voie biomimétique et l'utilisation de la dicétone de Wieland-Miescher.

A partir de ce constat, nous avons orienté notre méthode de synthèse de l'andrographolide dans un premier temps selon une voie biomimétique, puis dans un second temps en partant de la dicétone de Wieland-Miescher. En effet, l'hémi-synthèse ne permet pas d'obtenir l'andrographolide à cause notamment de la faible accessibilité des composés *ent-trans*-décalines, l'acide ozique ne pouvant pas aboutir à une fonctionnalisation du cycle A de l'andrographolide.

Partie 2 : Etude des extraits d'*Andrographis paniculata*

2.1. EXTRACTIONS ET ANALYSES

Compte tenu de l'intérêt biologique des composés issus d'*Andrographis paniculata*, il nous a semblé judicieux de mettre au point des méthodes d'extraction et d'analyse afin de vérifier la composition des différents extraits. Une étape de purification a également permis d'isoler les différentes molécules afin d'évaluer leur activité biologique. N'ayant pas la possibilité technique ni le climat nécessaire à la culture d'*Andrographis paniculata*, nous nous sommes procurés la plante sous forme de compléments alimentaires. Les études sont menées sur quatre sources commerciales. Il s'agit de gélules contenant des extraits secs de diverses parties de la plante. La composition exacte des gélules obtenues n'étant pas clairement indiquée, nous voulions connaître la nature et la quantité réelle de composés actifs qu'elles contenaient. De plus, les gélules étant fabriquées à partir d'extraits provenant de diverses parties de la plante (parties aériennes, racines ou plante entière), elles peuvent contenir des ratios différents de composés induisant des différences d'activités biologiques des extraits bruts. Cette variation de composition peut être exploitée soit pour obtenir le composé le plus actif en grande quantité, soit pour savoir si l'activité biologique de la plante est due à une synergie de plusieurs andrographolides plutôt qu'à un unique composé.³⁶

En s'appuyant sur la littérature, une nouvelle méthodologie d'extraction, d'analyse quantitative et de purification des extraits de compléments alimentaires a été développée.

2.1.1. Caractérisation de l'échantillon A

2.1.1.1. *Extraction*

L'andrographolide et les composés analogues sont largement étudiés d'un point de vue analytique. Plusieurs méthodes d'extraction de la plante sont décrites aboutissant à des

mélanges plus ou moins complexes de diterpènes.⁹³ Le solvant d'extraction est important pour la quantité et la nature des composés extraits. Le méthanol apparaît alors comme le meilleur solvant d'extraction, conduisant à de meilleurs rendements d'extraction que le chloroforme ou l'acétate d'éthyle.

Les premiers essais pour l'optimisation de l'extraction et de l'analyse des diterpènes contenus dans la plante sont réalisés à partir de capsules « Andrographis extract, 300 mg, 4% Andrographolides » provenant du fournisseur SOLARAY® (échantillon A). Ces extraits sont issus des parties aériennes de la plante. La matière sèche est mise en suspension dans le MeOH (15 mL/g). L'extraction est effectuée par sonication à température ambiante pendant une heure. Le résidu est filtré sur papier (Whatman #1).

Les extraits E1 à E3 sont issus de trois extractions successives à partir de la même matière végétale et ce, avec un solvant frais à chaque fois. Les rendements d'extraction sont calculés pour chacune des extractions et sont présentés Tableau 1.

Extraction	E1	E2	E3
Rendement d'extraction	43%	9%	4%

Tableau 1 : Rendements d'extraction E1 à E3 pour l'échantillon A

La majorité des composés d'intérêts sont extraits dans E1. Les rendements en E2 et E3 sont bien inférieurs. Considérant ces résultats, nous n'avons pas réalisé d'extraction supplémentaire.

Chacun des extraits est ensuite analysé séparément par HPLC.

2.1.1.2. Profil HPLC-UV-DEDL

La chromatographie liquide haute performance (HPLC) est la méthode de choix utilisée en laboratoire pour l'analyse qualitative et quantitative d'échantillons complexes. En s'appuyant sur des méthodes d'analyses d'extraits bruts d'*Andrographis paniculata* déjà

⁹³ Saxena, S.; Jain, D.C.; Gupta, M.M.; Bhakuni, R.S.; Mishra, H.O.; Sharma, R.P. *Phytochem. Anal.* **2000**, *11*, 34-36

développées par d'autres équipes,^{94,95} l'analyse de l'échantillon A a tout d'abord été optimisée afin d'obtenir une empreinte générale des extraits. Nous avons ainsi pu évaluer leur composition, et comparer les différents extraits. Cette méthode a été réalisée sur colonne Altima RP C18 (150x4,6 mm, taille des particules : 5 μ m, Deerfield USA) à température ambiante en s'inspirant des travaux de J.F. Fitzloff.⁹⁵ Après une optimisation du gradient, composé de solvant A (eau ultra-pure) et de solvant B (MeOH), la meilleure séparation a été obtenue pour une injection de 20 μ L d'une solution 1 mg/mL avec un gradient de solvant B de 20 à 100% sur 45 min, un débit de 1 mL/min, à température ambiante. La détection des composés est basée sur une détection UV à différentes longueurs d'ondes (210 nm, 220 nm, 250 nm) avec un détecteur à barrettes de diode qui permet d'acquérir le spectre d'absorption des composés entre 200 et 400 nm, mais aussi avec un détecteur DEDL (détecteur évaporatif à diffusion de lumière) qui permet de détecter tout composé non volatil. Le chromatogramme de E1 est présenté Figure 30.

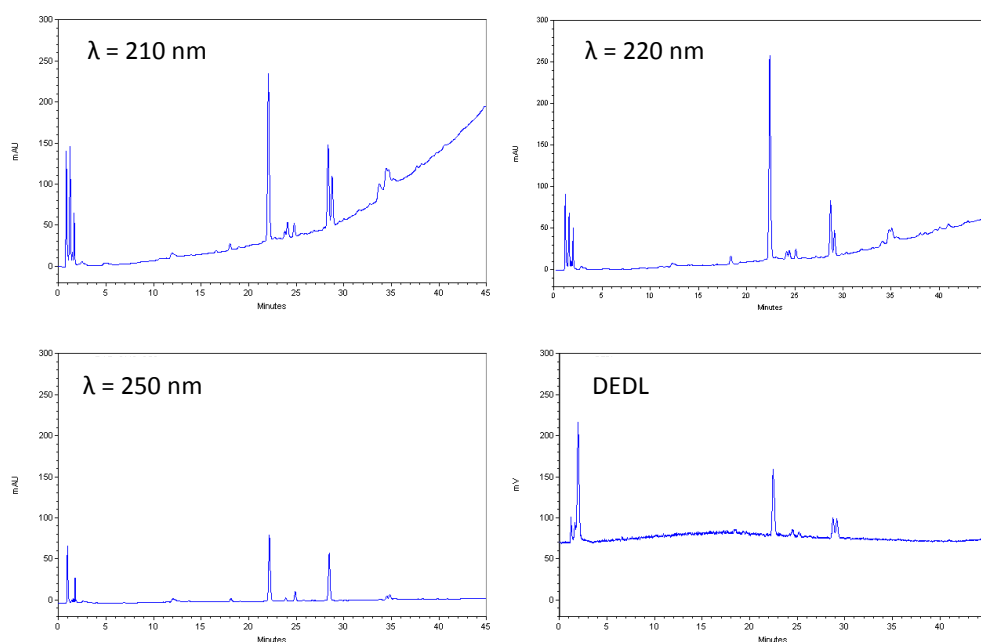


Figure 30 : Profils HPLC de E1 de l'échantillon A. Colonne Altima RP C18 (150x4,6 mm, 5 μ m), gradient MeOH 20 à 100% dans eau, température ambiante, 1 mL/min (de haut en bas et de gauche à droite : λ = 210 nm, 220 nm, 250 nm, DEDL)

⁹⁴ Xu, L.; Xiao, D-W.; Lou, S.; Zou, J-J.; Zhu, Y-B.; Fan, H-W.; Wang, G-J. *J.Chrom.B* **2009**, 877, 502-506

⁹⁵ Li, W., Fitzloff, J.F. *J.Liq.Chrom.&Rel.Technol.* **2002**, 25(9), 1335-1343

Un premier pic autour de 2 min correspond à tous les composés polaires non retenus (et qui ne sont pas des composés d'intérêt). Pour les longueurs d'onde à 210 et 220 nm, 3 pics majoritaires sont détectés, alors qu'à 250 nm, seulement deux pics sont détectés. Le troisième pic n'absorbe plus à 250 nm. Le DEDL permet lui aussi de détecter trois pics majoritaires. Celui-ci est plus représentatif de la concentration des composés dans le mélange que la détection UV. Le chromatogramme est assez simple, l'échantillon étant enrichi en composés dérivant de l'andrographolide, et l'extraction est donc bien sélective des composés d'intérêt qui constituent les gélules de compléments alimentaires.

Les trois extraits E1 à E3 ayant le même profil, ils peuvent être rassemblés en un seul extrait. Le DAD permet de visualiser le spectre d'absorption de ces trois composés et de déterminer les longueurs d'onde maximales d'absorbance (Tableau 2).

Pic	1	2	3
t _r (min)	22,43	28,76	29,15
λ _{max} (nm)	224	250	210

Tableau 2 : Longueurs d'onde maximales d'absorbance de trois pics majoritaires

Ces longueurs d'onde maximales d'absorbance sont cohérentes avec les structures moléculaires des andrographolides recherchées.

2.1.1.3. Identification des composés par LC-MS

Afin d'identifier les trois composés majoritaires, l'extrait A a été analysé par LC-MS. Des études précédentes ont montré qu'il était possible de détecter ces composés à la fois en modes d'ionisation positif et négatif.^{94,96} Les conditions HPLC sont conservées (colonne Altima RP C18 (150x4,6 mm, taille des particules : 5 μm) à température ambiante, gradient de solvant B de 20 à 100% en 45min avec un débit de 1 mL/min, injection de 20 μL d'une solution 1 mg/mL, détection UV à λ = 220nm). L'ionisation en spectrométrie de masse est

⁹⁶ Du, Q.; Jerz, G.; Winterhalter, P. *J.Chrom.A* **2003**, *984*, 147-151

effectuée grâce à une source Electrospray (ESI) en modes positif et négatif (Tsource = 80°C, Tdésolvation = 300°C, Ucapillaire = +/-3,5 kV).

L'analyse est dans un premier temps réalisée en courant ionique total (Total Ion Current, TIC) en modes positif et négatif.

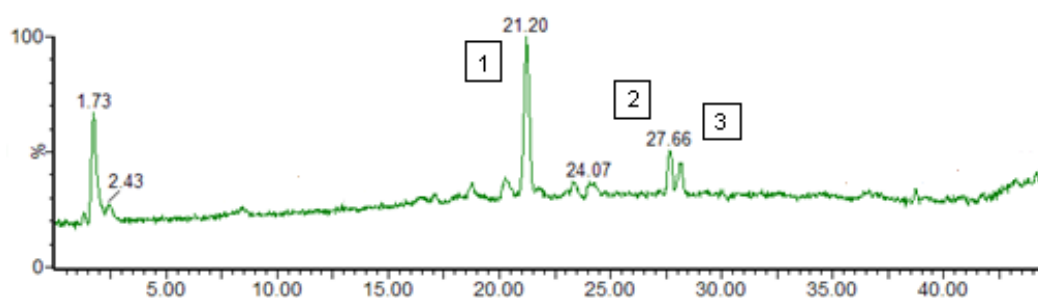


Figure 31 : Chromatogramme du courant ionique total en mode négatif

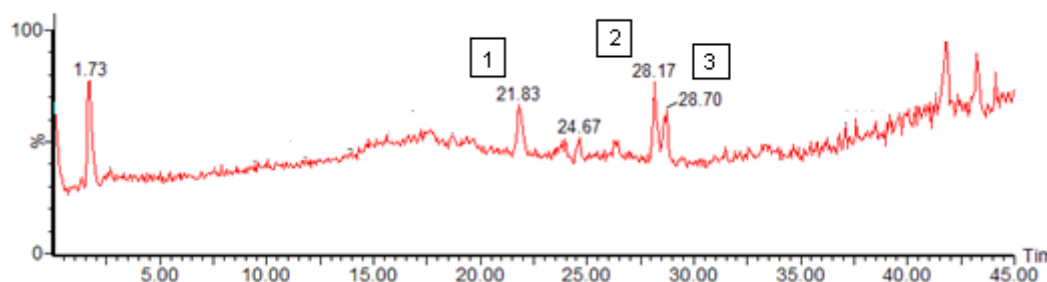


Figure 32 : Chromatogramme du courant ionique total en mode positif

Les trois composés majoritaires sont bien détectés dans les deux modes, cependant, le mode négatif semble être plus sensible pour l'analyse des diterpènes présents dans les extraits étudiés car les signaux sont plus intenses et on observe moins de bruit de fond sur les Figures 31 et 32. Ceci peut être dû aux fonctions hydroxyles portées par les molécules, qui se déprotonent plus facilement

Les spectres de masse montrent qu'en mode négatif, on voit la plupart du temps l'ion pseudo-moléculaire $[M-H]^-$ et l'adduit $[M+HCOO]^-$. En mode positif, on voit l'ion pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ ainsi que les adduits $[M+Na]^+$ et parfois $[M+K]^+$.

Grâce au mode SIM (Single Ion monitoring, recherche d'un ion unique), on peut rechercher les ions d'intérêt majoritaires observés sur le spectre de masse et savoir s'ils n'apparaissent que dans un pic HPLC, confirmant qu'ils sont bien caractéristiques du composé recherché. Ainsi, la présence de néoandrographolide **L22** (Figure 10, p11) a pu être mise en évidence par la recherche de l'ion de masse 479 ($[M-H]^-$) qui apparaît nettement à 28,12 min (Figure 33).

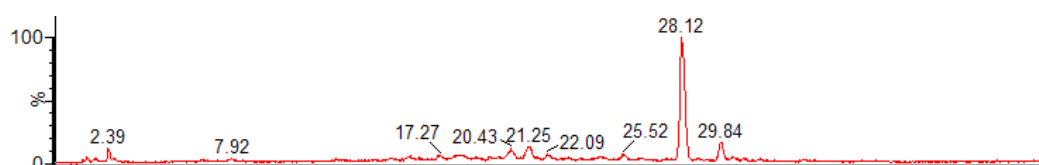


Figure 33 : Recherche de l'ion 479 en SIM, mode négatif

Pour chaque pic chromatographique, le spectre de masse est analysé afin de déterminer le pic moléculaire, les fragments et les adduits. Les résultats obtenus permettent de proposer une structure pour chaque composé (Tableau 3).^{17,93-96}

Composé	Pic 1	Pic 2	Pic 3
m/z en mode négatif	349 $[M-H]^-$, 331 $[M-H-H_2O]^-$, 395 $[M+HCOO]^-$	331 $[M-H]^-$, 377 $[M+HCOO]^-$	479 $[M-H]^-$, 525 $[M+HCOO]^-$
m/z en mode positif	351 $[M+H]^+$ 333 $[M+H-H_2O]^+$ 373 $[M+Na]^+$ 390 $[M+K]^+$	355 $[M+Na]^+$	503 $[M+Na]^+$
Structure correspondante	Andrographolide L4 (Figure 6, p9) ou isoandrographolide L33 (Figure 13, p13)	14-déoxy-11,12- didéhydroandrographolide L23 (Figure 10, p11)	Néoandrographolide L22 (Figure 10, p11)

Tableau 3 : Structure correspondant au pic HPLC en fonction des ions détectés

L'analyse LC-MS a permis d'identifier les trois composés majoritaires, et de montrer la pureté des pics chromatographiques. Ces trois composés sont bien les composés d'intérêt que l'on souhaite étudier. Il existe d'autres composés présents en faible quantité dans l'échantillon. Quelques masses ont pu être détectées, correspondant à la 14-déoxy-11,12-didéhydroandrographiside (isomère glycosylé de la 14-déoxy-11,12-didéhydroandrographolide) (m/z 493 $[M+H]^-$ en mode négatif à $t_r = 24$ min), l'androgranine **L26** (Figure 11, p12) (m/z 363 $[M+HCOO]^-$ en mode négatif à $t_r = 24,3$ min), et à l'andrographiside (isomère glycosylé de l'andrographolide) (m/z 513 $[M+H]^+$ en mode positif à $t_r = 24,6$ min), mais dans ce cas, le seuil de sensibilité de la méthode est atteint et les spectres de masse sont difficiles à interpréter. Il faudrait pouvoir isoler ces composés par purification et ainsi les accumuler pour une meilleure analyse.

2.1.1.4. Purification

Seulement deux méthodes de purification sont décrites dans la littérature. La première permet de séparer les composés de l'extrait sur gel de silice.⁹³ La seconde décrit une séparation par chromatographie contre-courant à haute vitesse.⁹⁶

Dans un premier temps, nous avons tenté d'appliquer la méthode de séparation par chromatographie contre courant. La chromatographie de partage centrifuge CPC est un outil adapté à la purification de composés naturels.^{97,98} Ces principaux avantages sont la grande capacité d'injection et l'absence de support solide, ce qui évite l'adsorption irréversible des échantillons. La CPC est un système hydrostatique pour lequel la colonne est caractérisée par de petites chambres d'élution interconnectées et en rotation autour d'un axe (Figure 34).

⁹⁷ Marston, A.; Hostettmann, K. *J.Chrom.A* **2006**, *1112*, 181-194

⁹⁸ Foucault, A.P.; Chevotot, L. *J.Chrom.A* **1998**, *808*, 3-22

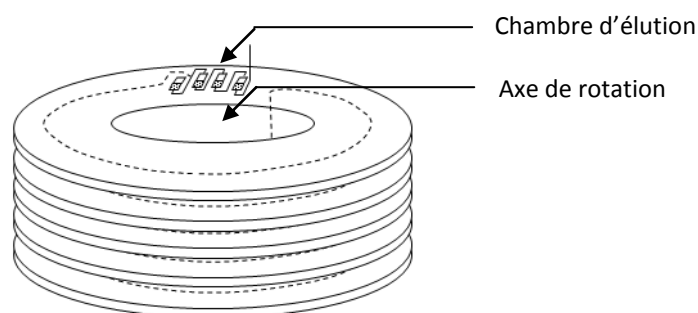


Figure 34 : Représentation d'une colonne de CPC

Cette technique est basée sur le partage liquide/liquide des composés d'un mélange, la phase stationnaire (maintenue par force centrifuge) et la phase mobile (pompée à travers le système) étant des liquides non miscibles. Les composés sont séparés en fonction de leur coefficient de partage entre ces deux phases. Elle est simple à mettre en œuvre et n'est pas sensible aux phénomènes de surcharge (du fait d'un volume de phase stationnaire plus grand).

En s'appuyant sur la littérature,⁹⁶ nous avons choisi un solvant biphasique, utilisé pour la séparation des produits, composé d'un mélange H₂O/MeOH/AcOEt/Heptane (2,5/2,5/4/1). Après équilibrage du mélange à température ambiante, les deux phases non miscibles sont séparées. La colonne est remplie de phase stationnaire (composée majoritairement d'AcOEt et d'heptane). Celle-ci étant plus légère, l'élution est effectuée en mode descendant. L'échantillon (500 µg dans 6 mL de phase stationnaire et 2 mL de phase mobile) est injecté et l'élution est réalisée avec une rotation de 1300 rpm, à un débit de 4 mL/min et une pression de 35 bars. Elle est contrôlée par détection UV à 220 nm.

Au bout de 163 min, l'extrusion (la phase mobile et la phase stationnaire contenues dans la colonne sont poussées hors de la colonne) est effectuée avec de l'eau en mode ascendant, à 300 rpm, 10 mL/min, ce qui permet de récupérer les composés qui n'auraient pas été élués. Les fractions éluées sont analysées par chromatographie sur couche mince ccm (CHCl₃/MeOH/Toluène 60/25/15)⁹³ et par HPLC afin de déterminer la composition des fractions CPC. Nous avons obtenu quatre fractions de composition différente grâce à cette méthode.

Les trois composés majoritaires ($t_r = 22, 28,4$ et $28,8\text{min}$) sont analysés par spectrométrie de masse. Les résultats concordent avec ceux obtenus lors des expériences en LC-MS (p53).

L'analyse HPLC des fractions CPC F11 et F20 a montré qu'elles étaient composées de deux produits minoritaires élués autour de 25 min en HPLC et qui co-éluent en ccm sur silice.

En parallèle, nous avons aussi testé la séparation sur gel de silice décrite par l'équipe de Gupta.⁹³ L'éluant utilisé est un gradient de MeOH de 3 à 15% dans le CHCl_3 , ce qui nous permet d'isoler quatre fractions de composition différente. La pureté des fractions est évaluée par HPLC. Les trois premiers composés isolés correspondent aux composés majoritaires déterminés par HPLC. Une quatrième fraction correspond à un mélange de deux composés élués autour de 25 min en HPLC.

Chaque composé isolé est alors analysé par HPLC et LC-MS et les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau 4.⁹⁹

Afin de caractériser entièrement ces différents composés, les analyses RMN sont effectuées. Les spectres RMN ^1H des composés **1** et **2** permettent de faire correspondre assez facilement une structure grâce aux signaux des protons éthyléniques ($\delta > 4,5$ ppm) et aux analyses décrites par d'autres équipes.⁹⁶ Les spectres RMN ^1H du composé **3** sont assez compliqués et ne permettent pas de conclure quant à la présence d'un β -D-glucoside. Afin de confirmer cette structure, le composé **3** a été peracétylé afin de séparer les signaux des protons glycosidiques. L'analyse confirme la présence d'un β -D-glucoside, les constantes de couplages mises en évidence étant de 9,5 Hz entre les protons 2', 3' et 4' du glucose.

Les composés du mélange de la quatrième fraction ont aussi été peracétylés, bien que cela ne permette pas de les séparer. Leurs structures ont été mises en évidence par RMN ^1H du mélange. Les signaux compris entre 8 et 4 ppm montrent que cette quatrième fraction est composée d'un mélange 14-déoxy-11,12-didéhydroandrographiside /andrographiside dans un rapport 2/1. Les masses de ces composés avaient pu être détectés lors de l'analyse LC-MS de l'échantillon A (p55).

⁹⁹ Ces composés adoptent à partir de maintenant la numérotation des composés isolés expérimentalement.

Composé	1	4a	4b	2	3
t _r HPLC (min)	22,4	24,0	24,3	28,8	29,1
Fraction silice	B	D		A	C
Fraction CPC	F14-16	F11-12	F20	F25-30	F13
λ _{max} (nm)	224	-	-	250	200
m/z mode positif	351, 373	513	513	355	503
m/z mode négatif	349, 331, 395	363	493	331, 377	479, 525
Composé purifié	Andrographolide	mélange 2:1		14-déoxy-11,12-didéhydroandrographolide	Néoandrographiside

Tableau 4 : Caractérisation des fractions obtenues après purification

Les extraits sont donc majoritairement composés d'andrographolide **1**, de 14-déoxy-11,12-didéhydroandrographolide **2** et de néoandrographolide **3**, qui ont pu être purifiés et identifiés (Figure 35).

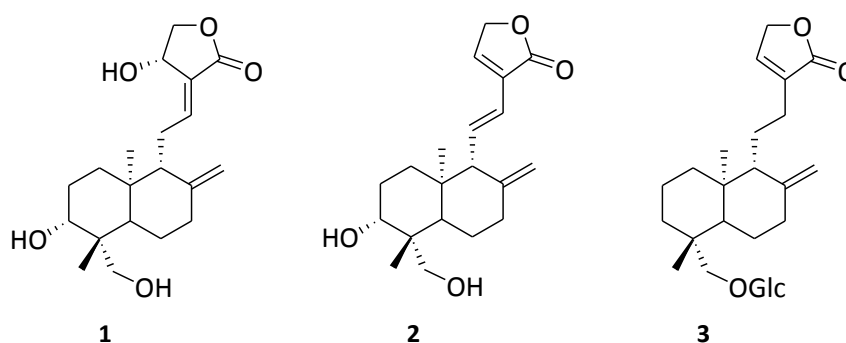


Figure 35 : Composés isolés de l'échantillon A

Suite à ces résultats et pour des raisons de disponibilité au laboratoire, la chromatographie sur gel de silice a été choisie comme méthode de purification.

2.1.2. Méthode d'analyse quantitative

La composition varie pour chaque échantillon et est mal renseignée. Elle peut être intéressante à étudier afin de connaître exactement les proportions des composés d'intérêt. En effet, nous ne connaissons pas la manière dont ils ont été préparés, et bien que d'autres ingrédients soient mentionnés aucune quantité n'est indiquée. Nous avons envisagé de mener une étude de contrôle qualité sur ces échantillons, et de quantifier les trois composés d'intérêt dans les différents échantillons, afin de connaître la composition des préparations avant d'en étudier les activités biologiques.

Les trois composés d'intérêt n'étant pas disponibles commercialement au moment de l'étude, nous avons utilisé comme composés étalons les composés extraits et purifiés sur gel de silice de l'échantillon A.

Très peu de méthodes ont été développées pour la quantification de l'andrographolide et de ses dérivés dans les extraits bruts. Celles-ci utilisent la chromatographie sur couche mince suivie d'une détection et quantification après révélation chimique.^{93,94,95} Ces méthodes prennent en général de longs temps d'analyse et nécessitent du matériel spécifique. Nous avons alors développé une méthode rapide et simple pour la séparation et la quantification de l'andrographolide **1**, la 14-déoxy-11,12-didéhydroandrographolide **2** et la néoandrographolide **3**, dans les quatre préparations commerciales que nous avons extraites précédemment, qui contiendraient entre 4 et 10% d'andrographolides d'après les indications.

2.1.2.1. *Développement de la méthode d'analyse quantitative*

La méthode mise au point jusqu'à présent nous a permis de réaliser les premières analyses sur l'échantillon A. Cependant, le temps d'analyse assez long apparaît comme un inconvénient, et peut devenir un facteur limitant dans le cas d'analyses de routine de nombreux échantillons.

Une première tentative d'optimisation du temps d'analyse a été réalisée sur la colonne Altima RP C18. Nous avons modifié le gradient et la température de la colonne sans parvenir

à diminuer le temps d'analyse en dessous de 30 min, et ce, sans dégrader la séparation des trois composés.

Afin de développer des méthodes d'analyses plus rapides et en s'appuyant sur des méthodes de quantification,^{100,101,102,103} nous avons alors étudié la possibilité d'obtenir de bonnes séparations en utilisant deux colonnes dédiées à l'analyse rapide d'échantillons : la colonne monolithique Chromolith Performance RP-18e (100x4,6 mm ID, 2 µm), du fournisseur Merck (Darmstadt, Allemagne), et la colonne fused core HALO C18 (50x4,6 mm ID, 2,7 µm) du fournisseur Interchim (Montluçon, France). Les colonnes monolithiques sont préparées par polymérisation *in situ* dans une colonne. Elles sont constituées d'une structure poreuse tridimensionnelle composée de nodules interconnectés formant le squelette de la colonne. Les monolithes possèdent un double réseau constitués de macropores induisant une faible résistance à l'écoulement, donc des pressions en tête de colonne réduites, ainsi que des mésopores permettant d'augmenter la surface développée de la phase stationnaire. L'ensemble donne lieu à un flux favorisant les analyses rapides et les transferts de masse rapides entre les solutés, la phase stationnaire et la phase mobile.^{104,105} Les colonnes fused core (noyau solide), quant à elles, sont remplies de particules de petit diamètre (2,7 µm). Ces particules ont un noyau dur solide (non-poreux) entouré d'un enrobage poreux de 0,5 µm d'épaisseur. La voie de diffusion plus courte des particules « fused core » réduit la dispersion axiale des solutés et minimise l'élargissement des pics.¹⁰⁶ Ces colonnes permettent de travailler à des débits plus élevés qu'avec les colonnes conventionnelles de même diamètre et ceci sans perte d'efficacité des pics, ni augmentation trop importante de la pression.

La colonne fused core HALO C18 n'a pas permis de séparer correctement les pics 2 et 3, même en modifiant le gradient d'élution. En revanche, la colonne Chromolith Performance RP-18e a donné de bonnes séparations pour les trois composés majoritaires, en utilisant une

¹⁰⁰ Gu, Y.; Ma, J.; Liu, Y.; Chen, B.; Yao, S. *J.Chrom.B* **2007**, *854*, 328-331

¹⁰¹ Chen, L.; Jin, H.; Ding, L.; Zhang, H.; Wang, X.; Wang, Z.; Li, J.; Qu, C.; Wang, Y.; Zhang, H. *J.Chrom.A* **2007**, *1140*, 71-77

¹⁰² Ding, L.; Luo, X.-B.; Tang, F.; Yuan, J.-B.; Guo, M.; Yao, S.Z. *Talanta* **2008**, *74*, 1344-1349

¹⁰³ Xu, L.; Xiao, D.-W.; Lou, S.; Zou, J.-J.; Zhu, Y.-B.; Fan, H.-W.; Wang, G.-J. *J.Chrom.B* **2009**, *877*, 502-506

¹⁰⁴ Guiochon, G. *J.Chrom.A* **2007**, *1168*, 101-168

¹⁰⁵ Xie, S.; Svec, F.; Fréchet, J.M.J. *Biotechnology and Bioengineering* **1999**, *62*, 30-35

¹⁰⁶ Cunliffe, J.M.; Maloney, T.D. *J.Sep.Sci.* **2007**, *30*, 3104-3109

phase mobile composée de solvant A (eau) et de solvant B (MeOH) de 40 à 51% sur 9 min, à 3 mL/min, à température ambiante (Figure 36).

Une détection à $\lambda = 220$ nm a été choisie car cette longueur d'onde permet d'observer les trois composés sans trop d'influence de l'absorbance de la phase mobile.

Afin d'obtenir une analyse répétable et d'éviter la déformation des pics due à une modification de la polarité de l'éluant dans la colonne et/ou à des problèmes de solubilité des échantillons, le solvant d'injection a dû être amélioré. Les échantillons ont d'abord été préparés à 1000 ppm dans le solvant utilisé en début de gradient (mélange MeOH:H₂O 40:60). Seulement, une déformation en début de pic a été observée dans ces conditions, ainsi qu'un phénomène de précipitation des composés dû à leur faible solubilité dans l'eau. Plusieurs mélanges ont donc été préparés avec différentes proportions d'eau et de MeOH (MeOH:H₂O 60:40, 80:20 et MeOH pur), et les phénomènes de précipitation et de déformation des pics ont été étudiés. Des pics symétriques ont été obtenus, sans effet du solvant d'injection sur la rétention des composés, et une absence de précipitation en préparant les échantillons dans un mélange MeOH:H₂O 80:20. La séparation optimisée est présentée à la Figure 36.

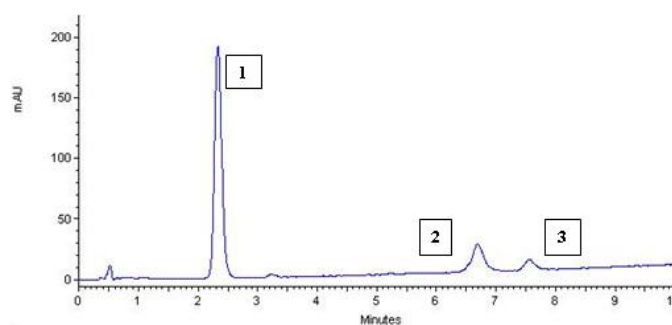


Figure 36 : Chromatogramme de l'échantillon A, Chromolith Performance RP-18e (100x4,6 mm ID, 2 μ m), Solvant B de 40 à 51% en 9 min, à 3 mL/min, température ambiante, détection UV $\lambda = 220$ nm

Les méthodes d'extraction et d'analyse HPLC étant mises au point, les trois extraits successifs peuvent être rassemblés car ils ont la même empreinte générale. Les analyses HPLC-DAD et HPLC-MS de l'extrait ont permis de mettre en évidence la présence de trois composés de la famille des andrographolides.

Ces composés peuvent être purifiés afin de les caractériser, de connaître la composition de l'extrait et de poursuivre l'étude de cette famille (analyse quantitative des extraits bruts, tests des activités biologiques, obtention de références pour chaque composé et accumulation de matériel pour la pharmacomodulation par héli-synthèse).

2.1.2.2. Validation de la méthode de quantification

La méthode a été validée par investigation de la précision intra-jour et inter-jour, de la linéarité, de la justesse, des limites de détection et de quantification.

- Précision

Afin de déterminer la précision intra-jour, trois analyses répliquées ont été menées aux cinq concentrations utilisées pour obtenir les courbes d'étalonnage. La précision inter-jour a été déterminée par trois analyses répliquées de trois mélanges de standards fraîchement préparés chaque jour, pendant trois jours (j1, j2, j4). Les précisions ont été calculées par détermination de la déviation standard pour chaque concentration répliquée. Les résultats résumés Tableau 5 montrent que les précisions intra-jour et inter-jour sont satisfaisantes (tolérance de 5%). Les coefficients de variations obtenus sont inférieurs à 1% et ont démontré la stabilité du système HPLC-UV dans les conditions testées. Ainsi, les neuf analyses répliquées peuvent être rassemblées pour évaluer la linéarité et la justesse de la méthode.

Diterpène	1	2	3
Temps de rétention (min)	2.4	6.7	7.6
Gamme de concentration ($\mu\text{g/mL}$)	50-200	50-200	5-50
Courbe de calibration			
Pente	41781	5705.7	9515.8
Intersection	-219068	-75807	-4644.9
R ²	0.9991	0.9997	0.999
Précision intra-jour: C.V. (%)	0.16	0.85	0.76
Précision inter-jour: C.V. (%)	0.24	0.68	0.68
Justesse (%) (Concentration $\mu\text{g/mL}$)	100.3 (125)	99.9 (100)	101.5 (20)
LOD ($\mu\text{g/mL}$)	5	10	3
C.V. (%)	0.5	3.6	1.1
LOQ ($\mu\text{g/mL}$)	10	32	5
C.V. (%)	1.1	0.8	2.0
Justesse (%)	105	102	104

Tableau 5 : Précision, Linéarité, Justesse, LOD, LOQ pour les composés 1, 2 et 3.

- Linéarité

Le domaine de linéarité étudié pour chaque composé a été choisi de manière à intégrer les concentrations des différents extraits bruts, à savoir de 50 à 200 $\mu\text{g/mL}$ pour les composés **1** et **2**, et de 5 à 50 $\mu\text{g/mL}$ pour le composé **3** présent en plus faible quantité. Pour réaliser la droite d'étalonnage des composés **1** à **3**, des mélanges standards des trois composés ont été préparés pour obtenir cinq échantillons de concentrations différentes. Les résultats obtenus pour neuf analyses répliquées ont été rassemblés et traités en utilisant un modèle de régression linéaire. La pente, l'ordonnée à l'origine, le coefficient de corrélation et les équations des droites obtenues ont été calculés pour chacun des trois composés.

La linéarité de la réponse a été évaluée en portant la concentration mesurée en fonction de la concentration théorique. La pente est proche de 1 et l'ordonnée à l'origine proche de 0.

Les courbes d'étalonnage sont estimées linéaires, et l'aire du pic pour un composé donné est proportionnelle à sa concentration.

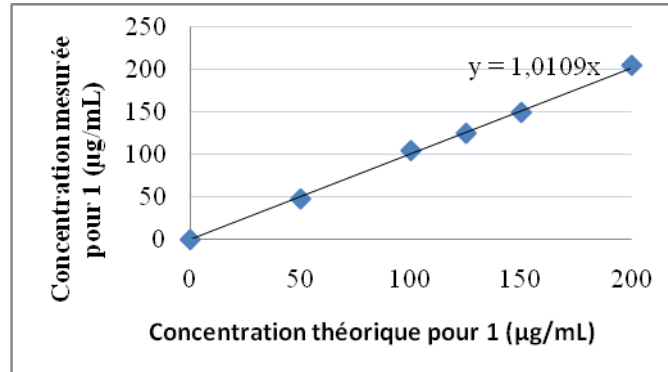


Figure 37 : Evaluation de la linéarité pour le composé 1

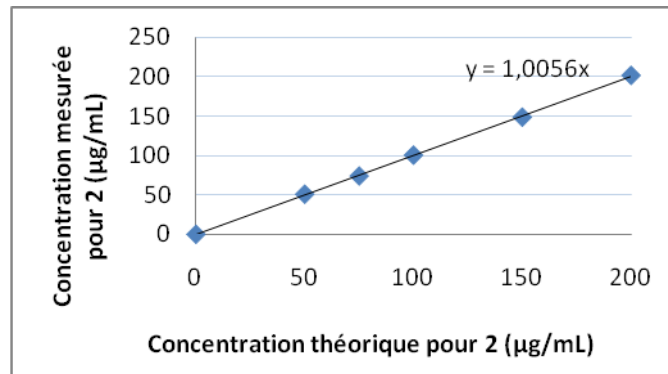


Figure 38 : Evaluation de la linéarité pour le composé 2

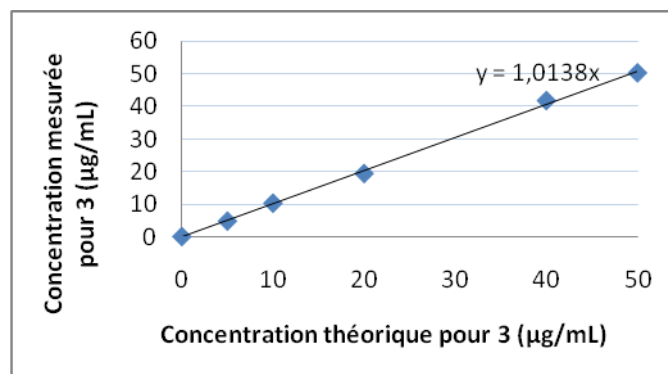


Figure 39 : Evaluation de la linéarité pour le composé 3

- Justesse

Une solution de trois standards a été préparée afin d'obtenir des concentrations situées en milieu de gamme d'étalonnage. Trois analyses répliquées sur les trois jours ont été réalisées.

La justesse a été évaluée en calculant la concentration moyenne mesurée à partir des courbes d'étalonnage et en la comparant à la concentration théorique préparée. Les taux de recouvrement (Tableau 5, p64) montrent que la justesse est acceptable dans notre domaine avec une tolérance de 5% de déviation.

- Limites de détection et de quantification

Les LOD et LOQ ont d'abord été estimées selon la relation $LOD = 3\sigma(\text{blanc})$ et $LOQ = 10\sigma(\text{blanc})$. Puis, plusieurs concentrations entre 1 et 32 $\mu\text{g/mL}$ ont été testées. Les solutions ont été injectées trois fois. Pour ces différentes concentrations, la répétabilité (coefficient de variation) et la justesse (écart à la concentration théorique) sont estimées. La LOD est la plus petite concentration pour laquelle la répétabilité et la justesse sont dans le domaine de tolérance (< 5%) (Tableau 5, p64).

2.1.2.3. Application

- Analyses générales

Quatre compléments alimentaires sont extraits selon la méthode décrite précédemment (15 mg/mL de MeOH, 1h aux ultrasons, température ambiante, trois extractions successives). Les trois extraits sont rassemblés et sont analysés qualitativement par HPLC selon la méthode développée ci-dessus.

Echantillon A : « Andrographis extract, 300 mg, SOLARAY, 4% andrographolides », parties aériennes.

Extrait brut : 15,29 g, rendement d'extraction global 56%, rendement E1 43%, rendement E2 9%, rendement E3 4%.

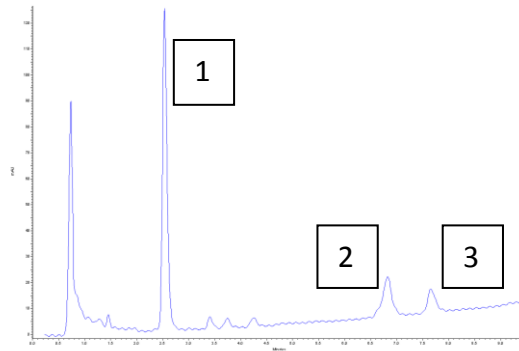


Figure 40 : Chromatogramme de l'échantillon A, Chromolith Performance RP-18e (100x4,6 mm ID, 2 μ m), Solvant B de 40 à 51% en 9 min, à 3 mL/min, température ambiante, détection UV $\lambda = 220$ nm

Echantillon B : « Andrographis standardized, Nature's way, premium extract, 10% andrographolides », feuille et tiges.

Extrait brut : 11,92 g, rendement d'extraction global 40%, rendement E1 30%, rendement E2 7%, rendement E3 3%.

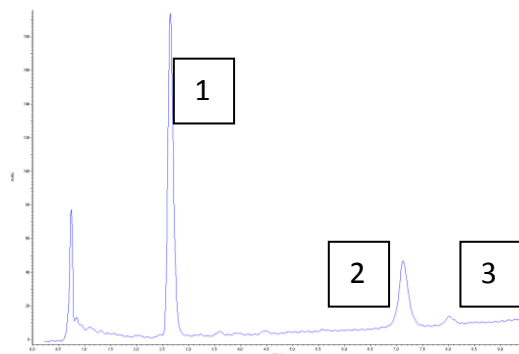


Figure 41 : chromatogramme de l'échantillon B, Chromolith Performance RP-18e (100x4,6 mm ID, 2 μ m), Solvant B de 40 à 51% en 9 min, à 3 mL/min, température ambiante, détection UV $\lambda = 220$ nm

Echantillon C : « Full spectrum Andrographis, Planetary Herbals », parties aériennes, standardisé à 10% andrographolides.

Extrait brut : 10,82 g, rendement d'extraction global 28%, rendement E1 21%, rendement E2 10%, rendement E3 2%.

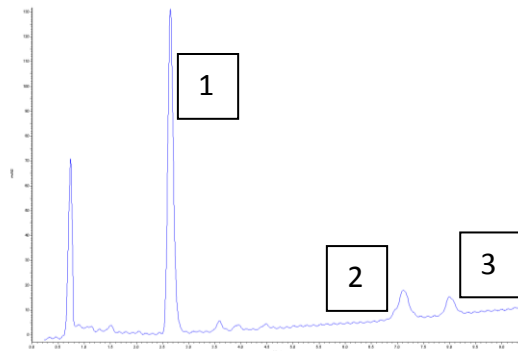


Figure 42 : Chromatogramme de l'échantillon C, Chromolith Performance RP-18e (100x4,6 mm ID, 2 μ m), Solvant B de 40 à 51% en 9 min, à 3 mL/min, température ambiante, détection UV $\lambda = 220$ nm

Echantillon D : « Andrographis liver support, Himalaya pure herbs », plante entière, extrait sec.

Extrait brut : 9,42 g, rendement d'extraction global 33%, rendement E1 23%, rendement E2 7%, rendement E3 3%.

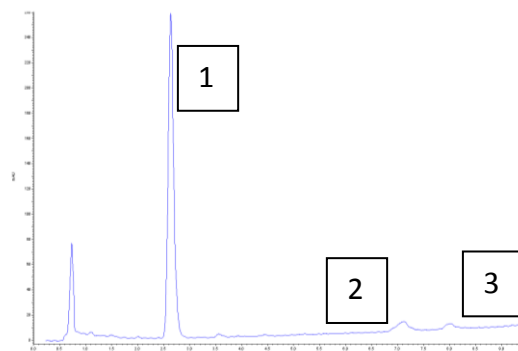


Figure 43 : Chromatogramme de l'échantillon D, Chromolith Performance RP-18e (100x4,6 mm ID, 2 μ m), Solvant B de 40 à 51% en 9 min, à 3 mL/min, température ambiante, détection UV $\lambda = 220$ nm

Dans tous les cas, l'extraction est réalisée à partir du moment où toute matière végétale est dispersée dans le solvant.

L'échantillon A donne de meilleurs rendements. Les rendements d'extraction des échantillons sont assez variés. Ceci peut venir du fait que les échantillons ne sont pas tous sous la même forme (gélules ou tablettes) et ne sont donc pas conditionnés de la même manière. Notamment, l'échantillon C se présente sous la forme de tablettes alors que les trois autres échantillons sont des gélules, la masse de matière végétale sèche de départ est

très différente (59 gélules correspondent à environ 30 g de matière végétale sèche, alors que 59 tablettes correspondent à 40 g).

Cependant, la masse finale d'extrait brut varie peu pour un nombre donné de gélule/tablette extraites, soit de l'ordre de 10 g d'extrait brut pour 59 gélules/tablettes extraites.

Selon les échantillons, on distingue d'autres composés qui sont élués entre le premier et le deuxième pic majoritaire, et/ou en fin de gradient, mais ceux-ci sont toujours minoritaires par rapport aux trois autres composés d'intérêt.

Nous avons choisi de purifier les composés par chromatographie sur gel de silice et nous déterminons un rendement de purification pour les trois composés majoritaires, selon la formule suivante :

$$\text{Rendement de purification} = \frac{\text{Masse du composé pur} \times 100}{\text{Masse de l'extrait brut}}$$

Extrait	AG 1	ddAG 2	NAGs 3
A	30%	16%	3%
B	26%	21%	-
C	16%	20%	1%
D	21%	6%	1%

Tableau 6 : Rendements de purification des différentes sources étudiées

- Application aux préparations commerciales

Finalement, la méthode a été appliquée à la quantification des trois composés diterpéniques présents dans quatre sources différentes de compléments alimentaires commerciaux.

Les concentrations déterminées par la méthode de quantification avec les standards externes sont présentées ci-dessous. Elles représentent la concentration de chaque composé dans la solution injectée (0,5 mg/mL).

Echantillon Diterpène	A	B	C	D
1	176.7 ± 1.2	138.8 ± 0.2	82.0 ± 0.1	127.3 ± 0.3
2	95.5 ± 0.7	136.9 ± 3.6	96.1 ± 2.1	51.3 ± 0.3
3	18.3 ± 0.7	13.4 ± 0.4	26.4 ± 0.4	9.8 ± 0.3

Tableau 7 : Quantification des trois diterpènes dans les préparations commerciales, concentrations données en µg/mL ± déviation standard

Les compléments B et C sont décrits comme contenant 10% d'andrographis et il apparaît clairement que les deux échantillons ne contiennent pas la même quantité ni en **1** ni en diterpènes totaux. Les résultats montrent que le complément B contient bien 10% d'andrographolide **1**, et que C contient 10% de diterpènes **1**, **2** et **3**. De plus, pour l'extrait C, on remarque que **1** n'est pas le composé majoritaire.

Cette méthode de quantification montre donc que selon la source de complément choisie, la composition varie. Qu'en est-il de l'activité biologique ?

2.2. EVALUATION DE L'ACTIVITE INHIBITRICE DE LA VOIE NFκB

Depuis quelques années, plusieurs équipes ont étudié le mécanisme d'action de l'andrographolide dans la cellule, ainsi que sa cible biologique. Ce diterpène interviendrait comme anti-inflammatoire dans la cascade NFκB, en inhibant l'expression de gènes pro-inflammatoires par liaison covalente avec un résidu cystéine de ce facteur de transcription.¹⁰⁷ Ceci nous a poussés à étudier l'activité anti-inflammatoire des composés naturels extraits, de ceux modifiés par héli-synthèse, ainsi que des extraits bruts sur cette voie NFκB. Ces tests d'inhibition de la voie NFκB ont été réalisés au sein de l'équipe du Professeur Chantal Pichon, au Centre de Biophysique Moléculaire (UPR 4301) à Orléans.

2.2.1. Préparation des composés héli-synthétiques

La pharmacomodulation a été envisagée par héli-synthèse à partir des composés extraits de la plante afin d'accroître l'activité biologique de ces molécules. La lactone a été clivée d'après une méthode décrite par l'équipe de S. Nanduri (Schéma 24).¹⁰⁸

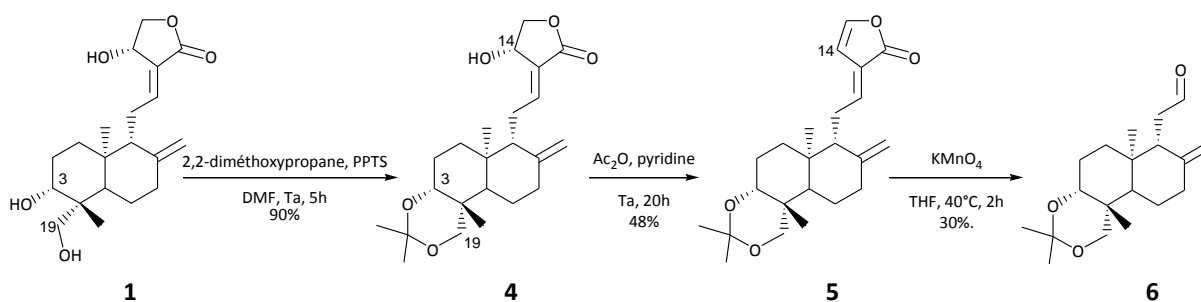


Schéma 24 : Modification de l'andrographolide

¹⁰⁷ Xia, Y.-F.; Ye, B.-Q.; Li, J.-G.; He, X.-J.; Lin, X.; Yao, X.; Ma, D.; Slungaard, A.; Hebbel, R.P.; Key, N.S.; Geng, J.-G. *J.Immunol.* **2004**, 173, 4207-4217

¹⁰⁸ Nanduri, S.; Nyavanandi, V.K.; Thunuguntla, S.S.R.; Velisoju, M.; Kasu, S.; Rajagopal, S.; Kumar, R.A.; Rajagopalan, R.; Iqbal, J. *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 4883-4886

Le diol 1,3 entre les positions C₃ et C₁₉ est protégé sous forme d'acétal à l'aide du diméthoxypropane. L'hydroxyle en position C₁₄ est alors acétylé avant d'être éliminé, puis, une coupure oxydante au KMnO₄ permet d'obtenir l'aldéhyde.

Lors de la formation de l'acétate, une élimination sur la position C₁₄ aboutit au composé **5** qui s'isomérisise pour donner le composé **7** (Figure 44) dérivé de la 14-déoxy-11,12-didéhydroandrographolide **2**. Cette isomérisation peut être limitée à 7% par une durée de réaction de 20h.

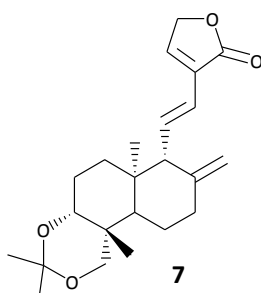


Figure 44 : Composé 7 dérivé de la 14-déoxy-11,12-didéhydroandrographolide

Le composé **6** est obtenu avec 16% de rendement sur trois étapes ce qui permet de pharmacomoduler le composé sur la partie haute.

Nous avons aussi tenté d'ouvrir la lactone en milieu MeONa pour obtenir le diol 1,2 correspondant. Nous avons en fait obtenu les deux composés **8** et **9** selon le Schéma 25.

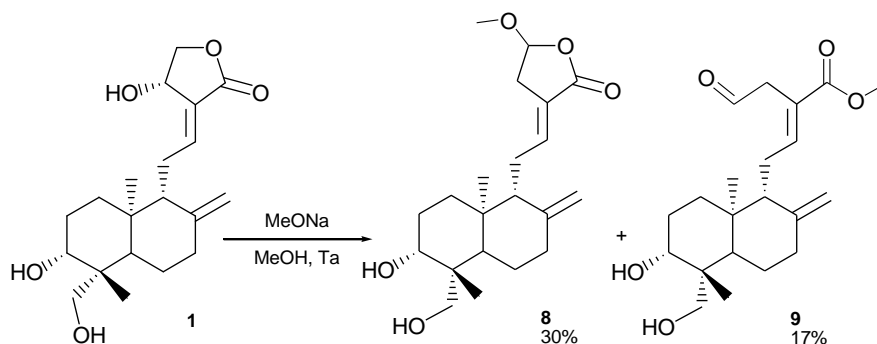


Schéma 25 : Ouverture de la lactone

La formation du composé **5** (Schéma 24, p71) résultant de l'élimination de l'acétate en C₁₄ dans la pyridine suggère que les protons de la position C₁₅ possèdent un caractère acide. Ceci peut expliquer la formation des composés **8** et **9** par un mécanisme similaire dû au milieu basique (Schéma 26).

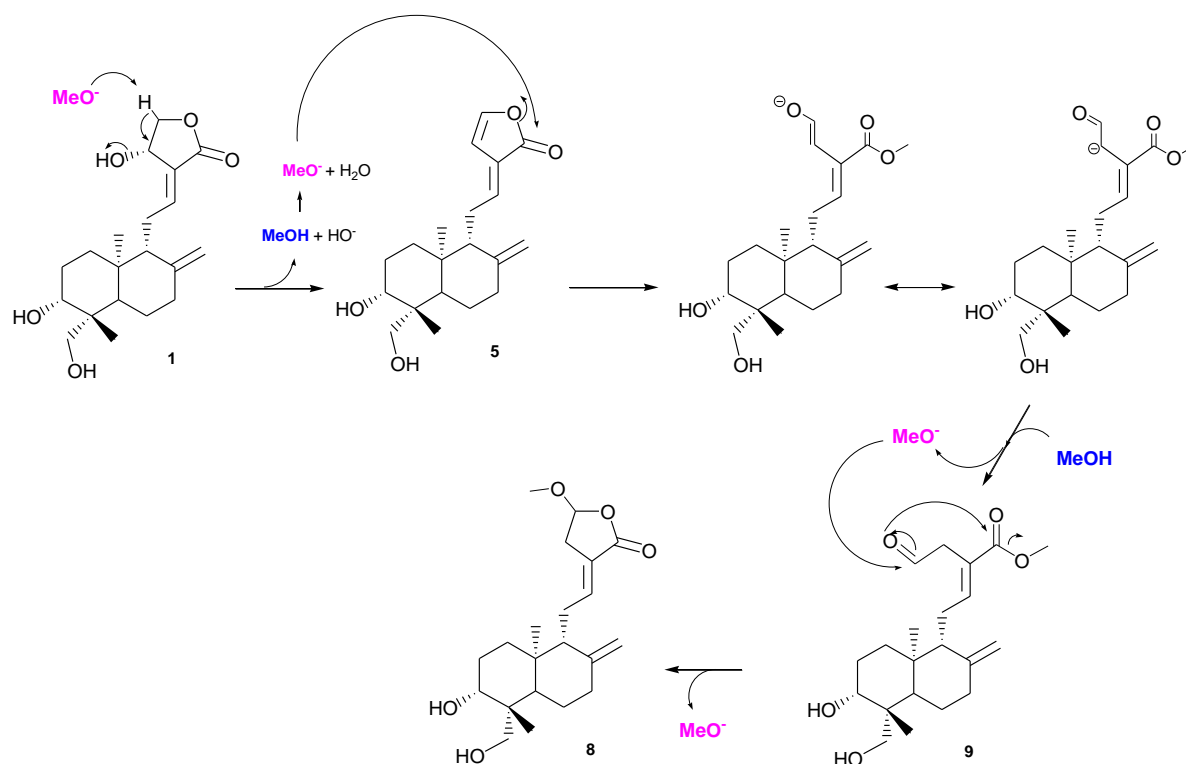


Schéma 26 : Mécanisme proposé pour la formation des composés 8 et 9

Contraints par le temps, nous nous sommes limités à ces analogues de l'andrographolide, qui ont donc été utilisés dans les tests biologiques décrits ci-dessous.

2.2.2. Tests de viabilité

La cytotoxicité de sept composés purs vis-à-vis des cellules utilisées a été tout d'abord étudiée (Figure 45). Les cellules A549 ont été mises en culture dans des plaques 96 puits à une densité de 10^5 cellules par puits. Elles ont été exposées soit au TNF α seul (10 ng/mL) ou aux composés testés seuls (**1**, **2**, **3**, **4**, **6**, **8**, **9**, 25 μ g/mL), soit au TNF α plus les composés. La viabilité a été évaluée par addition d'Alamar Blue® (10% volume) au bout de 24h et de 48h,

et lecture à 560 nm au fluoromètre 4h après l'addition d'AlamarBlue. Le test de l'Alamar Blue® est basé sur la diffusion de la résazurine dans les cellules où elle est réduite par les enzymes mitochondriales. Cette réduction entraîne un changement de couleur qu'il est possible de mesurer par spectrophotométrie et fluorescence.

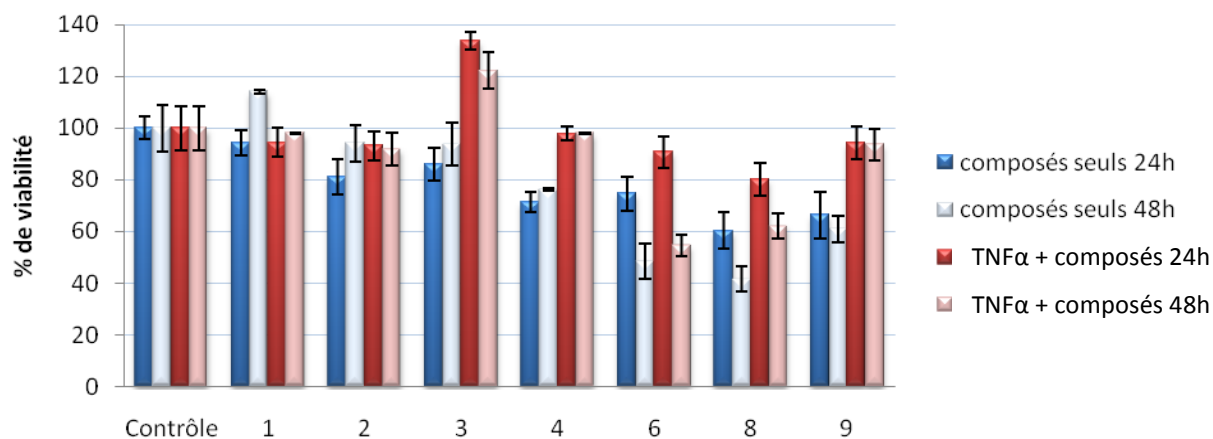


Figure 45 : Pourcentage de viabilité des composés testés (25 µg/mL) avec ou sans induction de l'inflammation au TNFα (10 ng/mL). Contrôle : 10⁵ cellules avec ou sans TNFα (10 ng/mL). Les valeurs correspondent aux moyennes des diverses expériences ± SD.

Les résultats de l'étude de viabilité des cellules vis-à-vis des composés naturels testés montrent une diminution de la viabilité apparaît au bout de 48h. Les composés modifiés (**4**, **6**, **8** et **9**) semblent plus cytotoxiques que les composés extraits. Les résultats montrent une augmentation de la viabilité lors de l'ajout du composé **3** en présence TNFα, ce composé étant leur seul glycoside, sa translocation intracellulaire pourrait être différente selon l'état de stress de la cellule.

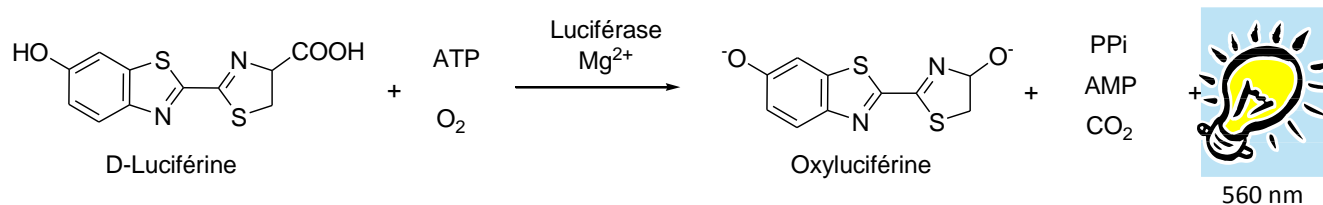
D'une manière général, pour les sept composés testés sur des cellules stimulées, il reste au moins encore 80% de cellules vivantes au bout de 24h (viabilité > 80%).

2.2.3. Principe général

Pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'andrographolide et de ses dérivés, des cellules épithéliales pulmonaires A549, modifiées de manière à exprimer de manière stable la luciférase « *firefly* » sous la dépendance de NFκB (cellules A549/NFκB-luc), ont été

utilisées. Ainsi, après induction de l'inflammation, on peut observer l'action de NFκB importé dans le noyau cellulaire *via* l'expression de luciférase et son activité enzymatique. En effet, plus le facteur de transcription se lie à l'ADN au niveau du promoteur du gène, plus l'activité luciférase sera élevée. De même, si un composé anti-inflammatoire agissant sur la voie NFκB est incubé dans le milieu cellulaire, alors la liaison entre le facteur de transcription et l'ADN sera moindre et l'activité luciférase diminuée.

Nous avons utilisé un milieu de culture seul comme témoin négatif, ainsi qu'un milieu de culture contenant un inducteur d'inflammation comme témoin positif. Les cellules sont mises en culture dans des plaques 24 puits. Une stimulation immunologique (TNFα ou LPS) ou un stress cellulaire (H₂O₂) est effectué et les composés à tester sont additionnés dans le milieu de culture. Chaque test est effectué en triple. La lecture de la réponse est effectuée 24h après l'addition des composés. Lors d'une stimulation immunologique, la réponse entraîne la production de NFκB. Il est possible d'évaluer l'activité luciférase produite dans le lysat cellulaire obtenu à partir de chaque puits en déterminant la transformation de la luciférine, substrat de la luciférase « *firefly* », en présence d'ATP :



La production de photons est mesurée au luminomètre en quantité de lumière relative (Relative Light Units, RLU).

D'autre part, on réalise un dosage protéique avec du BCA (acide bicinchonique). La valeur RLU obtenue par lysat est rapportée pour une certaine quantité de protéines. Ceci permet d'avoir une meilleure comparaison des valeurs mesurées. En effet, il se peut que, pour une raison ou une autre, toutes les cellules du puits n'aient pas été récupérées ou que celles-ci aient eu une croissance anormale ou ralentie, cette valeur permet de rapporter les résultats à une valeur standard qui ne dépend pas de la vitesse de croissance des cellules.

L'activité des composés naturels **1**, **2** et **3** obtenus par purification de compléments alimentaires (§1.8.1, p56), des composés modifiés par hémi-synthèse, ainsi que des

mélanges A, B, C et D extraits à partir de compléments alimentaires, dont la composition a été déterminée par l'analyse quantitative, a été évaluée. D'une part, ceci nous permet de mettre en évidence le composé le plus actif dans la plante, ainsi que la variation d'activité en fonction de la modification de la structure. D'autre part, l'étude des différents ratios nous permet de savoir si l'activité de la plante utilisée en médecine traditionnelle est due à une synergie de composés ou à une molécule unique.

2.2.4. Optimisation du test d'inhibition de la voie NFκB

Dans un premier temps, nous avons optimisé le test afin de maîtriser les conditions d'activation du facteur NFκB dans les cellules A549/NFκB-luc. Plusieurs paramètres ont été étudiés afin de déterminer les meilleures conditions : la concentration cellulaire, la nature et la concentration de l'inducteur d'inflammation, ainsi que le solvant à utiliser pour l'addition des composés organiques. Pour cette étude préliminaire, les essais ont été dupliqués. Des concentrations variées en cellules ($2,5 \cdot 10^4$, $5 \cdot 10^4$, 10^5 , $1,5 \cdot 10^5$) ainsi que le stimulant (soit TNFα 10 ng/mL, soit H₂O₂ 50 μM) ont été évalués. Les résultats sont donnés en activité relative en NFκB -luciférase. Les standards sont préparés comme présenté dans le Tableau 8.

Densité de cellules	$2,5 \cdot 10^4$	$5 \cdot 10^4$	10^5	$1,5 \cdot 10^5$
2lots	Non stimulées	Non stimulées	Non stimulées	Non stimulées
2lots	Stimulées H ₂ O ₂	Stimulées H ₂ O ₂	Stimulées H ₂ O ₂	Stimulées H ₂ O ₂
2lots	Stimulées TNFα	Stimulées TNFα	Stimulées TNFα	Stimulées TNFα

Tableau 8 : Etude de la concentration cellulaire et de l'inducteur

Les meilleurs résultats sont obtenus en utilisant 10^5 cellules par puits. L'induction de l'inflammation avec du H₂O₂ ne fonctionne pas dans un premier temps. Nous avons ensuite étudié différentes concentrations soit de TNFα (10 et 20 ng/mL), soit en H₂O₂ (25, 50 et 100 μM). Il apparaît alors que l'induction au H₂O₂ ne donne pas de résultats satisfaisants même en diminuant sa concentration. Ceci est dû au fait que le peroxyde est trop toxique pour ces cellules et nous n'observons que très peu d'activité cellulaire (Figure 46). Une induction de l'inflammation est obtenue avec des résultats corrects (multiplication par quatre de l'activité

NFκB -luciférase) pour une concentration de 10 ng/mL en TNFα. Nous avons alors étudié le solvant, tout en sachant que les composés étaient difficilement solubles dans l'eau (§2.1.1.2, p51). L'andrographolide **1** est solubilisée soit dans l'eau soit dans le DMSO, à 25 et 50 µg/mL. Lorsqu'on dissout le composé dans l'eau, nous observons des résultats qui sont peu reproductibles, ce qui se traduit par un écart-type assez grand même si l'activité inhibitrice de la voie NFκB semble bien présente. Nous avons alors envisagé de solubiliser les composés dans le DMSO ce qui donne des résultats plus reproductibles. Nous avons vérifié que la présence de DMSO dans le milieu de culture n'avait pas d'impact sur le test. Nous observons quand même une multiplication par un facteur trois de l'activité NFκB-luciférase. Les résultats sont donnés Figure 46.

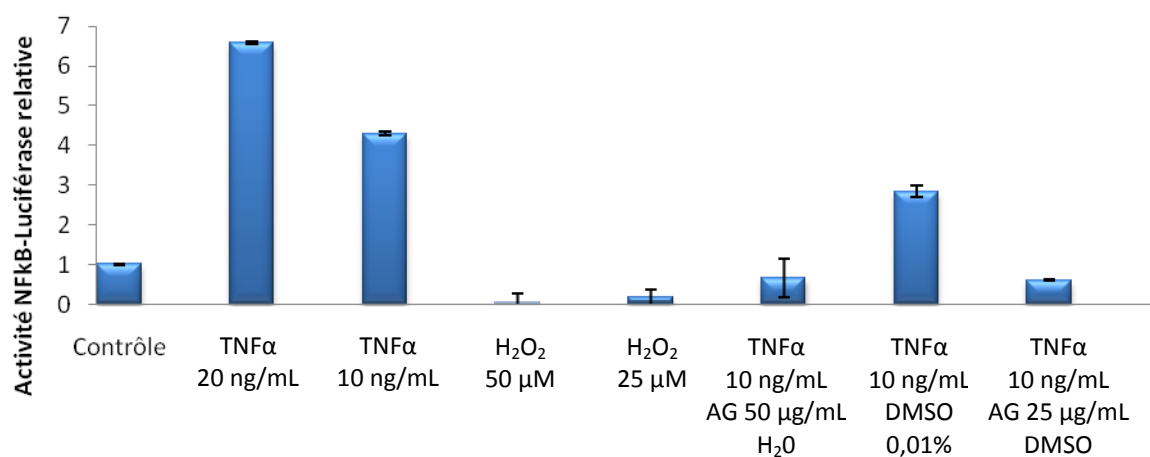


Figure 46 : Etude des concentrations en inducteur et en composé, ainsi que su solvant de solubilisation

L'addition non simultanée du TNFα et de l'andrographolide a aussi été effectuée et donne des résultats similaires à ceux obtenus lors d'une addition simultanée.

Le test est donc validé pour les paramètres suivants :

- Concentration de 10^5 cellules par puits
- Induction de l'inflammation par le TNFα 10 ng/mL
- Introduction des échantillons tests à 25 µg/mL solubilisés dans le DMSO

Pour la suite des études d'activité des échantillons à tester, nous avons utilisé des plaques 24 puits, et chaque test est réalisé trois fois pour chaque échantillon. Les cellules sont mises en

cultures dans 500 μL de milieu DMEM (Dubelcco's modified eagles media, milieu de culture riche pour cellules de mammifères) pendant 24h avant le traitement et la lecture de l'activité luciférase. Le $\text{TNF}\alpha$ et le composé test sont additionnés au milieu de culture de manière synchronisée.

2.2.5. Activités anti-inflammatoires des composés isolés et modifiés

2.2.5.1. *Composés naturels*

Dans un premier temps, nous avons évalué l'activité anti-inflammatoire des trois composés naturels que nous avons isolés à partir des compléments naturels étudiés auparavant. Afin de voir l'effet de la concentration sur la réduction de l'inflammation, une gamme de concentration des composés **1** à **3** (25, 12,5, 6,25 et 3,125 $\mu\text{g}/\text{mL}$) a été testée, ceci a permis de déterminer la dose qui permet une bonne inhibition (Figure 47).

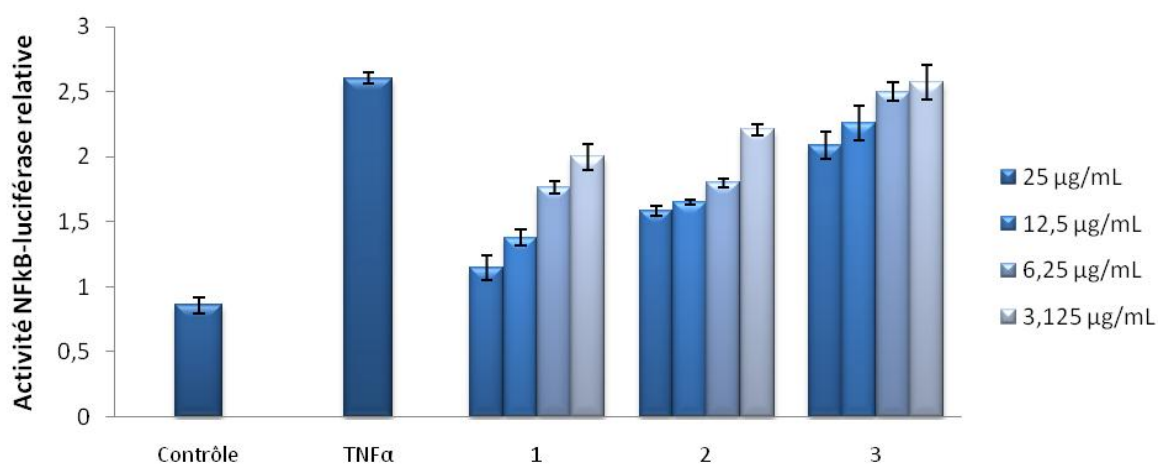


Figure 47 : Activité anti-inflammatoire des composés naturels dérivés de l'andrographolide en fonction de la dose additionnée

Le composé majoritaire **1** est le plus actif, suivi du composé **2** dont l'activité est très proche de celle de **1**. A dose croissante, l'activité tend de nouveau vers le niveau basal sans inflammation, ce qui signifie que l'inhibition de la voie $\text{NF}\kappa\text{B}$ est bien croissante et la réponse

est dose-dépendante. Le composé **1** additionné à 25 µg/mL entraîne un retour à une activité luciférase très proche du niveau basal, et qui correspond à une inhibition de l'activité luciférase de 93%. La même concentration en composé **2** et **3** ne donne respectivement que 71% et 47% d'inhibition.

Suite à ces résultats, l'activité des composés modifiés a été évaluée à une concentration de 25 µg/mL.

2.2.5.2. Composés hémi-synthétiques

Nous avons pu voir en introduction que très peu de variations dans la modification de l'andrographolide ont été faites dans la littérature. En effet, l'hémi-synthèse ne permet de faire varier que quelques positions de la molécule. Dans notre cas, seuls six composés hémi-synthétiques ont été testés sur la voie NFκB : deux d'entre eux modifiés au niveau du diol (**4** et **7**), et quatre autres au niveau de la lactone (**5**, **6**, **8** et **9**).

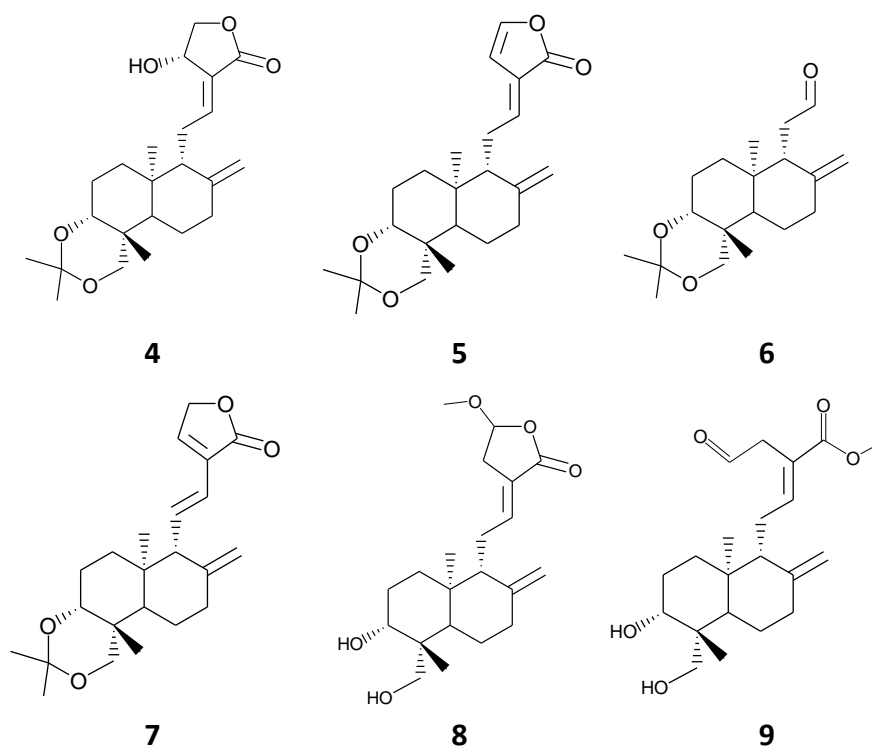


Figure 48 : Structure des composés hémi-synthétiques testés

L'évaluation de l'activité de ces quatre composés a été réalisée dans les conditions optimisées que nous avons développées précédemment (§2.2.4, p77), et nous avons pu comparer ces activités à celles des composés extraits (Figure 49).

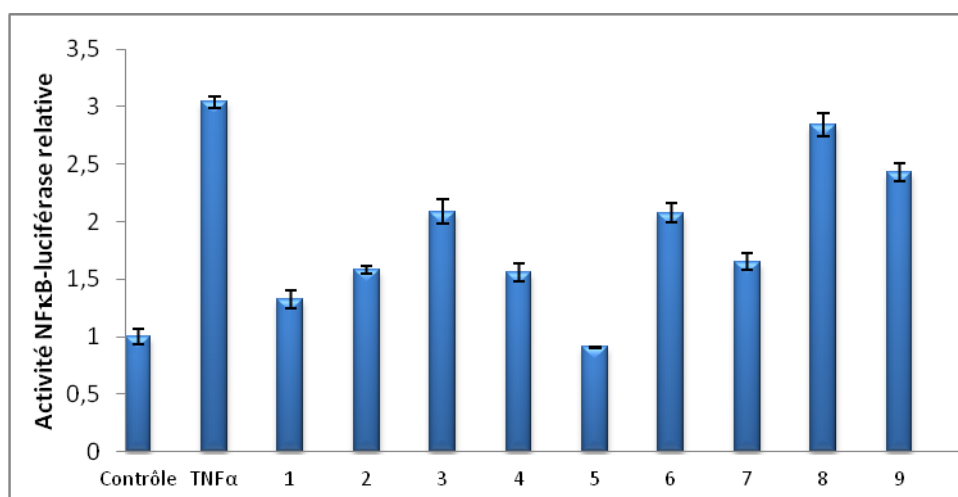


Figure 49 : Activité anti-inflammatoire des composés naturels et héli-synthétiques

D'après ces résultats, il apparaît qu'une modification du diol du cycle A du diterpène change peu l'activité. L'activité des composés **4** et **7** est proche de celle des composés naturels correspondants. Cependant, les résultats des composés **5**, **6**, **8** et **9** montrent qu'une modification de la lactone peut entraîner un changement d'activité. En effet, le composé **8** ne montre que 20% d'inhibition de l'inflammation et le composé **9** induit seulement 6% d'inhibition. L'activité du composé **6** est similaire à celle du composé **3**. Cependant, pour le composé **5**, une activité anti-inflammatoire supérieure à celle du composé de départ est observée. Ceci a également été constaté récemment par l'équipe de Lin.¹⁰⁹ Ainsi, si on envisageait de modifier de nouveau le composé naturel, ceci devrait être fait principalement au niveau de la lactone, au risque de changer drastiquement l'activité biologique.

¹⁰⁹ Chao, W.-W.; Kuo, Y.-H.; Lin, B.-F; *J.Agric.Food Chem.* **2010**, *58*, 2505-2512

2.2.6. Mécanisme d'inhibition du NFκB par AG.

Les expériences précédentes ont mis en évidence qu'une modification du composé au niveau de la lactone pouvait modifier l'activité anti-inflammatoire de l'andrographolide. Nous avons donc envisagé d'étudier le mécanisme d'inhibition du NFκB par l'andrographolide. Une modification du NFκB par mutagenèse dirigée⁴¹ a montré qu'un résidu cystéine serait impliqué dans la formation d'une liaison covalente avec l'andrographolide. Nous avons donc mis l'andrographolide en présence d'un résidu cystéine, dans un milieu tamponné se rapprochant du milieu biologique. Nous avons pu isoler le composé **10**, résultant de l'addition de la cystéine sur l'andrographolide, avec un rendement de 40% (Figure 50).

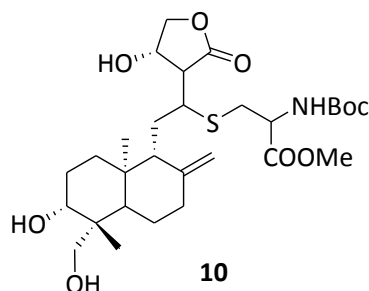


Figure 50 : Composé **10** résultant de l'addition d'un résidu cystéine sur l'AG

Il apparaît que la lactone joue le rôle d'accepteur de Michael, ainsi le groupement thiol nucléophile attaque la lactone insaturée sur la position C₁₁.

Nous avons testé l'activité anti-inflammatoire de ce nouveau composé afin de voir s'il s'agissait bien du résidu responsable de l'inhibition (Figure 51).

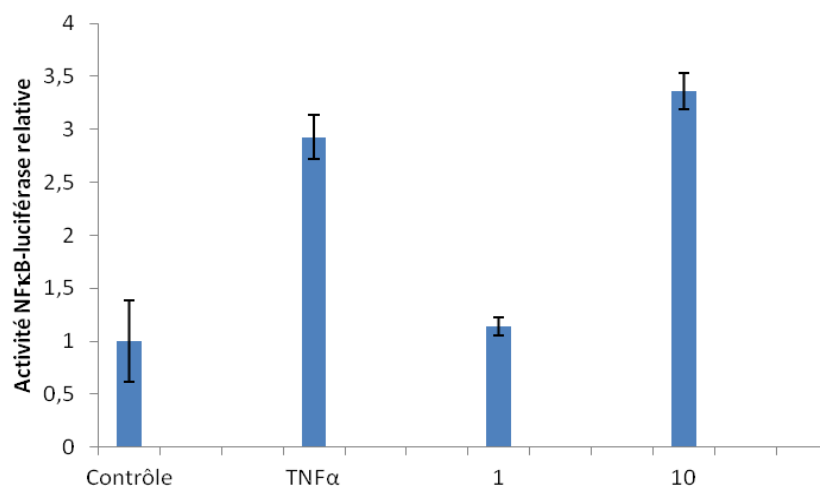


Figure 51 : Activité anti-inflammatoire du composé 10

Ce test d'activité montre clairement que le composé **10** n'a plus aucune activité anti-inflammatoire. Nous sommes en présence du résidu qui se forme lors de la mise en présence d'andrographolide dans le milieu cellulaire. Ainsi, le composé 10 ne possède plus l'accepteur nécessaire à l'activité anti-inflammatoire de l'andrographolide. Ce mécanisme peut aussi expliquer la raison pour laquelle le composé **6** aurait une activité qui ne serait pas complètement nulle malgré une modification de la lactone. Pour cette structure, même si l'accepteur de Michael n'est plus présent, la cystéine peut toujours réagir sur le carbonyle de l'aldéhyde.

2.2.7. Activités anti-inflammatoires des mélanges commerciaux

Si l'activité anti-inflammatoire des mélanges obtenus à partir des compléments alimentaires est due uniquement à sa composition, alors pour un mélange plus riche en andrographolide, l'activité devrait être plus importante. L'étude de ces mélanges, de composition différente évaluée auparavant avec la méthode analytique de quantification, peut nous permettre de déterminer si les composés agissent indépendamment les uns des autres ou en synergie. Nous avons donc d'abord étudié la réponse anti-inflammatoire en fonction de la composition en diterpènes **1**, **2** et **3**. Nous avons comparé ces réponses à celles de mélanges

de même composition mais obtenus à partir des composés isolés et purifiés. Par ailleurs, nous avons évalué la réponse anti-inflammatoire pour une dose ajustée d'andrographolide, de manière à introduire seulement 17 µg/mL de composé **1** (concentration qui nous mène à 70% d'inhibition de l'inflammation).

2.2.7.1. Extraits bruts et mélanges théoriques

Dans un premier temps, les activités anti-inflammatoires des quatre bruts A, B, C et D et des mélanges théoriques B' et D' mimant la composition des bruts B et D, ainsi que des mélanges de compositions variées en **1** (AG) et **2** (ddAG) ont été comparés. Les tests ont été réalisés sur une concentration constante en extrait. Les résultats sont présentés Figure 52.

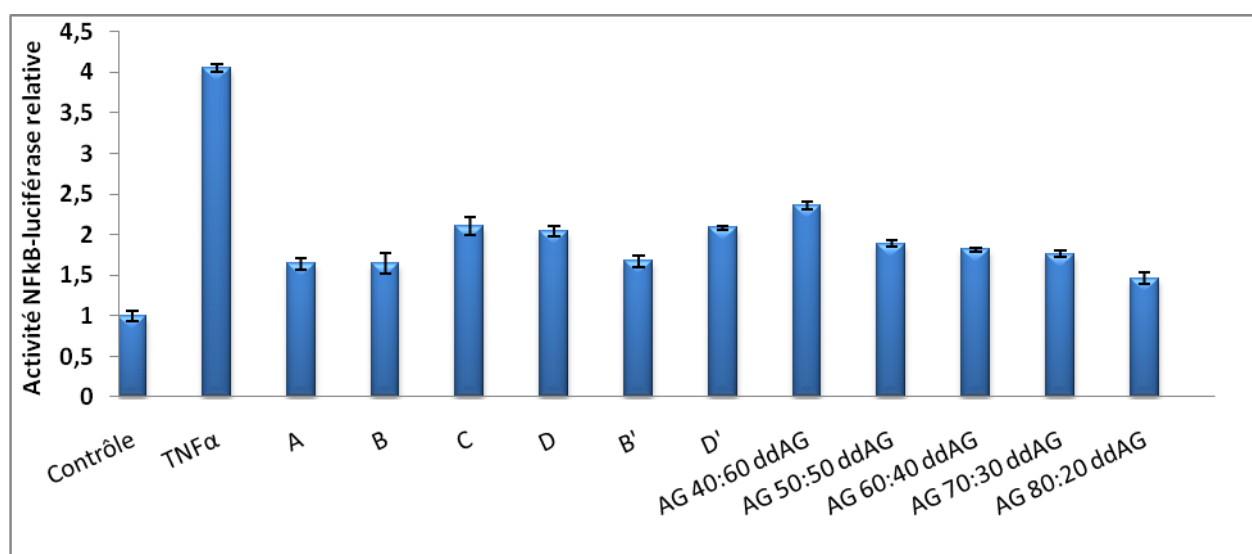


Figure 52 : Activité anti-inflammatoire des mélanges issus des compléments alimentaires et des mélanges théoriques correspondants

Mélange Diterpène	A	B	C	D
1 (AG)	176,7 ± 1,2	138,8 ± 0,2	82,0 ± 0,1	127,3 ± 0,3
2 (ddAG)	95,5 ± 0,7	136,9 ± 3,6	96,1 ± 2,1	51,3 ± 0,3
3 (NAGs)	18,3 ± 0,7	13,4 ± 0,4	26,4 ± 0,4	9,8 ± 0,3
Total	397,5 ± 1,5	328,5 ± 6,4	204,5 ± 2,6	188,4 ± 0,9

Tableau 9 : Rappel de la composition de chaque brut pour 500 µg de complément alimentaire extrait (en µg)

Dans un premier temps, en comparant la réponse des bruts A, B, C et D avec leur composition en diterpènes étudiés, l'activité anti-inflammatoire suit la quantité de composés diterpéniques dans le mélange. Cependant, les bruts B et D contiennent à peu près la même quantité d'andrographolide **1**, mais n'ont pas tout à fait la même activité. En effet, l'activité de B se rapproche plutôt de celle de A, et que l'activité de D se rapproche de celle de C. Ces résultats semblent concorder avec l'hypothèse de J.S. Tendon sur la différence d'activité entre un mélange et un composé pur.³⁶

En comparant la réponse anti-inflammatoire obtenue avec les mélanges bruts et les mélanges théoriques de même composition en **1**, **2** et **3**, on peut dire que seuls les composés diterpéniques étudiés agissent dans les compléments alimentaires. Ainsi, il n'y a pas d'autres composés qui pourraient être issus de la préparation de ces échantillons qui interviendrait dans la réponse biologique.

Nous avons finalement comparé la réponse des bruts avec celle obtenue pour des mélanges binaires variés en **1** et **2** qui sont les composés les plus actifs. Une augmentation de l'activité anti-inflammatoire est observée pour un mélange contenant une plus grande concentration en andrographolide **1**. Cependant, il existe une zone de mélange (**1** 50:50 **2** à 70:30) pour laquelle la différence d'activité n'est pas significative, ce qui explique pourquoi les bruts A (**1** 65:35 **2**) et B (**1** 50:50 **2**) n'ayant pas la même quantité d'andrographolide mais la même quantité (**1+2**) (autour de 275 µg dans 500 µg d'extrait) donnent une même réponse anti-inflammatoire. Nous pouvons alors expliquer la différence d'activité entre les bruts B et D, le brut B est beaucoup plus riche en 14-déoxy-11,12-didéhydroandrographolide **2** ce qui donne une somme (**1+2**) de 275,7 µg (pour 500 µg d'extrait), alors que le brut D n'en contient que 178,6 µg.

Ces résultats laissent d'abord penser à une activité indépendante des composés diterpéniques. Nous avons alors testé l'activité des bruts en normalisant la quantité d'andrographolide **1** additionnée au milieu.

2.2.7.2. Normalisation de la dose en andrographolide

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée sur les bruts en diluant les extraits A, B, C et D de manière à avoir une concentration en andrographolide **1** de 17 µg/mL pour tous. La Figure 53 illustre les résultats obtenus.

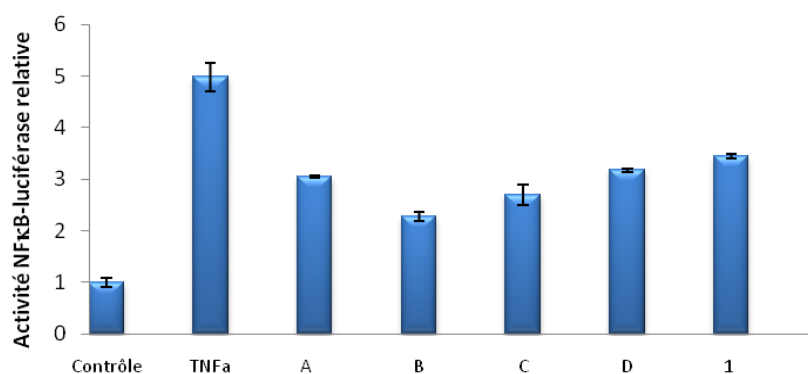


Figure 53 : Activité des bruts après ajustement de la dose en **1**

Pour chaque brut, la composition se trouve dans la zone où les activités de **1** et **2** s'additionnent. Nous pouvons comparer la réponse des bruts à celle obtenues avec le composé **1** seul. Les bruts A et D contiennent peu de composés autre que **1** et la réponse observée est très proche de celle du composé pur, nous pouvons calculer 63% d'inhibition de l'inflammation avec ces mélanges commerciaux. Pour les bruts B et C, on observe une diminution autour de 50 % d'inhibition de l'inflammation, ce qui montre une plus forte activité que pour le composé **1**. Ceci est dû à la présence d'une quantité équivalente de composé **2** qui devient non négligeable pour l'activité du mélange.

Ainsi, avec ces résultats, on peut conclure que l'activité des compléments alimentaires est totalement dépendante de leur composition en diterpènes étudiés. Comme nous l'avancions précédemment, un complément plus riche en andrographolide **1** sera plus actif ce qui est le cas des extraits A et B. L'activité tient aussi compte de la teneur en composés dont l'activité n'est pas négligeable tels que la 14-déoxy-11,12-didéhydroandrographolide **2**. On peut dire que l'activité anti-inflammatoire des composés **1** et **2** est complémentaire dans une gamme de concentrations.

L'évaluation biologique des analogues d'andrographolides a montré que ces composés sont des inhibiteurs de la voie NFκB, même si leur activité reste de l'ordre du micro molaire. Le composé **5** a montré une activité inhibitrice supérieure à celle du composé naturel, résultat encourageant pour la préparation d'autres composés analogues. Cependant, la cytotoxicité de ce composé n'a pas été évaluée et devrait être envisagée. Nous avons pu déterminer le mécanisme de liaison du NFκB à l'andrographolide, *via* l'addition d'un résidu cystéine. Ces informations devraient nous permettre de concevoir d'autres analogues inhibiteurs du facteur de transcription.

Partie 3 : Vers la synthèse totale de l'andrographolide

Nous avons vu dans la première partie (§1.2.3, p28) que la synthèse de composés naturels tels que les labdanes diterpéniques pouvait être réalisée par plusieurs méthodologies.

Pour la série de composés de la famille de l'AG, il paraît assez compliqué de réaliser une synthèse par héli-synthèse, le seul composé permettant cette voie étant l'acide ozique (**L85**, Figure 27, p29). De plus, les résultats obtenus lors des extractions de compléments alimentaires et de la pharmacomodulation par héli-synthèse ont montré qu'il n'était pas facile de modifier la structure des composés naturels afin d'en étudier l'activité biologique. La pharmacomodulation ne permet de cibler que certaines positions de la molécule, comme par exemple la fonctionnalisation de diverses manières des alcools en positions C₃ et C₁₈, ainsi que la modification de la lactone.

C'est dans cette optique que nous avons choisi d'étudier la mise en œuvre d'une synthèse totale de l'andrographolide. Ceci pourrait permettre une pharmacomodulation plus large. En effet, la mise en place de la chimie nécessaire à l'obtention de l'AG permettrait par la suite de préparer des analogues modifiés sur des positions réactives des intermédiaires réactionnels. Ceci pourrait éventuellement permettre l'amélioration de l'activité anti-inflammatoire.

3.1. SYNTHÈSE BIOMIMÉTIQUE

3.1.1. Analyse rétro-synthétique

Comme nous l'avons présentée précédemment, la synthèse biomimétique induit la préparation d'un précurseur de cyclisation fonctionnalisé et optiquement actif, de manière à obtenir les centres chiraux nécessaires à la synthèse totale de l'andrographolide.

De façon à favoriser la synthèse énantio-sélective, la préparation du bicyclic à partir d'un précurseur linéaire époxydé a été envisagée.

Ainsi, d'après le schéma rétro-synthétique présenté en Figure 54, l'andrographolide pourrait être obtenue par addition finale de la 3-hydroxybutyrolactone sur l'aldéhyde **I**. Cet aldéhyde dériverait du composé obtenu après la double cyclisation en cascade de l'époxyde **II**, dérivé du farnesol. Les groupements R_1 et R_2 seraient choisis de manière à faciliter l'accès aux fonctionnalités du précurseur de cyclisation **II**, puis au bicyclic **I**, et enfin aux fonctionnalités de l'andrographolide.

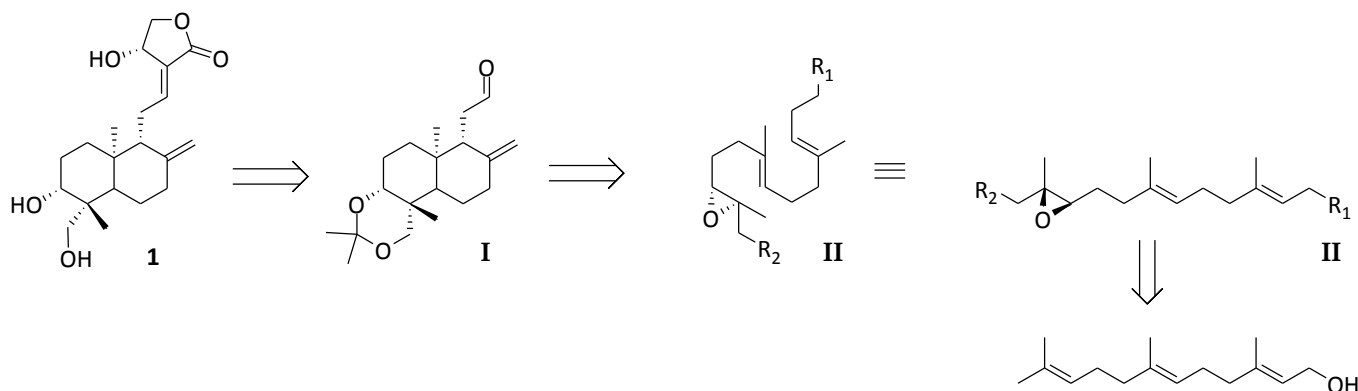


Figure 54 : Analyse rétrosynthétique

Dans un premier temps, afin de mieux comprendre la cyclisation, nous avons envisagé d'étudier un modèle plus simple : la mono-cyclisation à partir du géraniol.

3.1.2. Etude modèle : la mono-cyclisation

3.1.2.1. Approches préliminaires

Il existe de nombreuses méthodes de cyclisations par voie biomimétique, et suite aux premiers essais, il est vite apparu que cette réaction était très dépendante des groupes fonctionnels R_1 et R_2 ainsi que du catalyseur utilisé. En s'inspirant de travaux décrits dans la littérature,¹¹⁰ le géraniol a été acétylé avec 98% de rendement (Schéma 28) et la mono-cyclisation effectuée selon la méthode de E.J. Corey¹¹¹ a été étudiée.

- Oxydation allylique

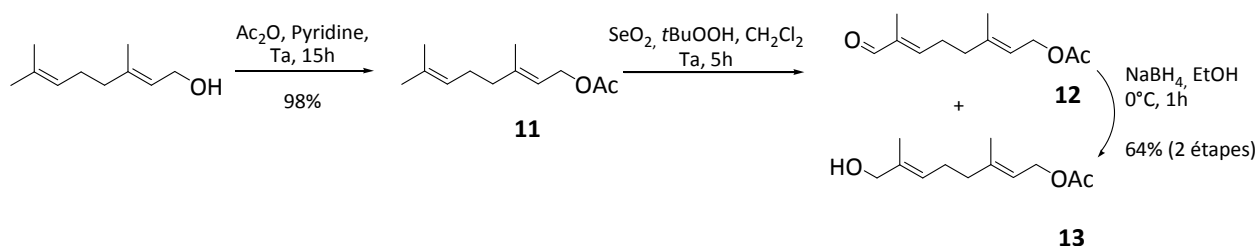


Schéma 28 : Oxydation allylique

La position C_8 est oxydée par une oxydation allylique en présence de SeO_2 .¹¹²

Cette méthode est choisie pour sa régio-sélectivité d'oxydation de la position allylique terminale. De plus, il apparaît que les doubles liaisons plus substituées et donc plus encombrées sont moins réactives dans ce cas.¹¹³

Des études sur l'oxydation allylique de dérivés du géraniol différemment protégés ont montré que le groupement protecteur joue un rôle important dans le mécanisme réactionnel de ce type de dérivés.¹¹⁴ Ainsi, le réactif de départ adopte une conformation pseudo-chaise au cours de cette réaction et un groupement protecteur carbonylé ou une

¹¹⁰ Van Tamelen, E.E. *Acc.Chem.Res.* **1968**, *1*, 111-120

¹¹¹ Huang, A.-X.; Xiong, Z.; Corey, E.J. *J.Am.Chem.Soc.* **1999**, *121*, 9999-10003

¹¹² Waitkins, G.R.; Clark, C.W. *Chem.Rev.* **1945**, *36*, 235-289

¹¹³ Trachtenberg, E.N.; Carver, J.R. *J.Org.Chem.* **1970**, *35*, 1646-1653

¹¹⁴ Fairlamb, I.J.S.; Cickinson, J.M.; Pegg, M. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2205-2208

sulfone permettrait d'établir une liaison hydrogène entre le groupement protecteur et l'acide sélénique (Figure 55). Cette conformation apporte donc une régio-sélectivité à la réaction.

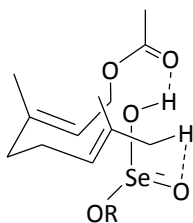


Figure 55

L'oxydation d'oléfines par le dioxyde de sélénium se fait en trois étapes.

La première étape du mécanisme implique l'addition d'une molécule de dioxyde de sélénium et d'une molécule de solvant sur la double liaison formant ainsi l'ester sélénié allylique (Schéma 29).^{115,116,117} En présence d'eau, c'est donc le conjugué acide HSeO_2^+ qui permet de capter le proton éthylénique et l'attaque électrophile sur la double liaison. Cette attaque est suivie d'un réarrangement sigmatropique [2,3] et se termine par la solvolysé de l'ester.

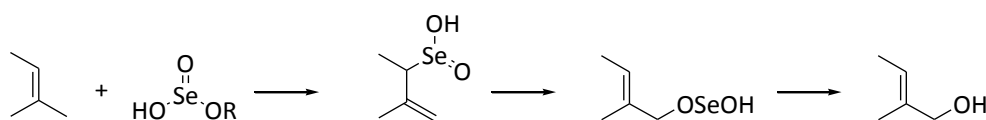


Schéma 29 : Mécanisme de l'oxydation allylique

Des études ont montré que le produit oxydé formé dépend du solvant.^{116,117} Ainsi, en présence d'acide acétique, l'acétate est formé, en présence d'éthanol, l'éther correspondant est obtenu, et en présence d'eau, on obtient le carbonyle insaturé. Il s'avèrerait aussi que certaines oxydations allyliques soient favorisées par la présence d'acide carboxylique en quantité catalytique.^{117,118}

¹¹⁵ Rapoport, H.; Bahlerao, U.T. *J.Am.Chem.Soc.* **1971**, *93*, 4835-4840

¹¹⁶ Wilberg, K.B.; Nielsen, S.D. *J.Org.Chem.* **1964**, *29*, 3353-3361

¹¹⁷ Schaefer, J.P.; Horvath, B.; Klein, H.P. *J.Org.Chem.* **1968**, *33*, 2647-2655

¹¹⁸ Suhara, Y.; Hirota, Y.; Nakagawa, K.; Kamao, M.; Tsugawa, N.; Okano, T. *Bioorg.Med.Chem.* **2008**, *16*, 3108-3117

Cette méthodologie d'oxydation allylique a été découverte par K.B. Sharpless *et al.*¹¹⁹ Elle permet d'utiliser le dioxyde de sélénium en quantité catalytique (0,5 éq.) en présence d'un co-oxydant tel que le *t*BuOOH. Ceci permet de s'affranchir de la formation de produits secondaires organosélénés. Une diminution de la quantité de SeO₂ ne permet pas d'avoir une conversion totale, et ceci même en augmentant la quantité de *t*BuOOH. La réaction est activée dans des solvants non coordinants, d'où le choix du dichlorométhane. De mauvais rendements ont été obtenus en milieu strictement anhydre, une petite quantité d'eau est nécessaire pour ce mécanisme, l'utilisation d'une solution commerciale de *t*BuOOH 70% dans l'eau est donc possible.

Ainsi, en utilisant 0,5 éq. de SeO₂ et 3,6 éq. de *t*BuOOH 70% en solution dans l'eau, nous avons obtenu le mélange de composés **12** et **13** que nous avons pu séparer par chromatographie sur gel de silice. L'aldéhyde est alors recyclé par réduction avec le NaBH₄, et l'alcool et donc obtenu avec % de rendement sur les deux étapes.

La réaction est stéréospécifique, elle permet de former l'alcool (ou l'aldéhyde) *trans*.¹¹³ L'analyse des corrélations nOe de la RMN ¹H du composé **13** (Figure 56) met en évidence un couplage dans l'espace entre le proton de l'alcool et le proton éthylénique. Le stéréo-contrôle de la réaction a été confirmé par des études *ab initio*.¹²⁰

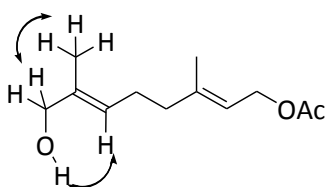


Figure 56

- Epoxydation de Sharpless

L'époxydation asymétrique de Sharpless¹²¹ est une réaction qui a été largement étudiée dans la littérature. Elle permet l'époxydation énantio-sélective d'alcools allyliques prochiraux. L'induction asymétrique est activée par addition du diéthyltartrate (DET)

¹¹⁹ Umbreit, M.A.; Sharpless, K.B. *J.Am.Chem.Soc.* **1977**, *99*, 5526-5528

¹²⁰ Ra, C.S.; Park, G. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 1099-1102

¹²¹ Katsuki, T.; Sharpless, K.B. *J.Am.Chem.Soc.* **1980**, *102*, 5976-5978

énantiomériquement pur. La réaction est catalysée par une espèce de titane dimérique, le $Ti(OiPr)_4$. Celui-ci se lie à l'oxydant, au $tBuOOH$, ainsi qu'à l'alcool allylique et au tartrate *via* ses atomes d'oxygène (Figure 57).

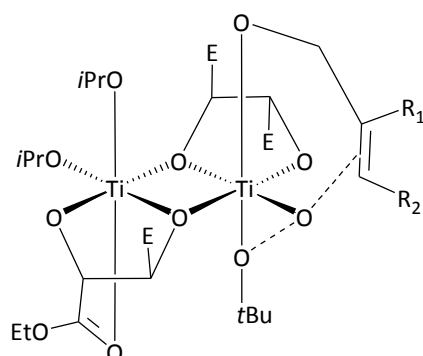


Figure 57 : Etat de transition de l'époxydation asymétrique de Sharpless
E = COOEt

En fonction de la stéréochimie désirée, le bon énantiomère du DET doit être choisi pour obtenir la différenciation diastéréofaciale souhaitée (Figure 58).

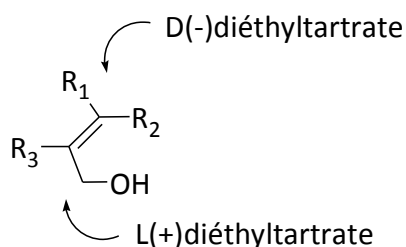


Figure 58 : Différenciation diastéréofaciale

Nous avons réalisé cette réaction sur l'alcool allylique **13** (Schéma 30) et ce, dans diverses conditions (Tableau 10).

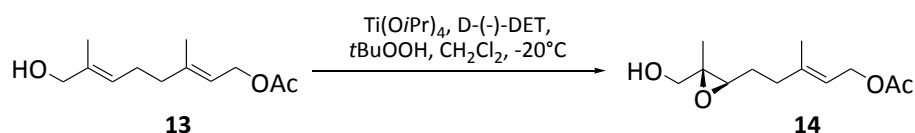


Schéma 30 : Epoxydation de Sharpless

Entrée	Ti(O <i>i</i> Pr) ₄	D-(-)-DET	<i>t</i> BuOOH	Conditions	Composé 14	Composé 13
1	1 éq.	1 éq.	2 éq.	7 h, -20°C à Ta	25%	14%
2	1 éq.	1 éq.	2 éq.	24 h, -20°C	87%	-
3	0,1 éq.	0,1 éq.	2 éq.	3 j, -20°C	57%	-
4	0,1 éq.	0,1 éq.	2 éq.	24 h, -20°C	78%	-

Tableau 10 : Conditions testées pour l'époxydation de Sharpless

D'après la littérature, il est nécessaire de réaliser la réaction à -20°C afin de garder la meilleure énantiosélectivité.¹²² Les conditions réactionnelles équimolaires en Ti(O*i*Pr)₄ et en D-(-)-DET ont tout d'abord été testées (Entrées 1 et 2). Les conditions catalytiques donnent aussi de bons résultats, mais la réaction ne doit pas durer plus de 24 h au risque de perdre du produit d'intérêt (Entrées 3 et 4).

L'époxyde **14** est obtenu avec de bons rendements. Cependant, le diéthyltartrate étant difficilement séparable de l'époxyde lors de la chromatographie sur gel de silice, des conditions catalytiques en Ti(O*i*Pr)₄ et D-(-)-DET ont été retenues afin de limiter les problèmes de purification.

Afin de connaître la nature de l'énantiomère majoritaire, le pouvoir rotatoire a été mesuré, la valeur obtenue de +11,6 (*c* 1,0, CHCl₃) a été comparée avec celle donnée dans la littérature (+13,2, *c* 1,0, benzène).¹²³ L'énantiomère (*R,R*) **14** désiré (Schéma 30, p93) a bien été obtenu.

De plus, l'excès énantiomérique a été évalué à 88% après conversion du composé **14** en ester de Mosher suivie d'une analyse en RMN du proton du dérivé obtenu.

Il est à noter que lorsque la réaction est faite à l'échelle du gramme, les rendements diminuent (78% sur 350 mg et 61% sur 1 g) avec le même excès énantiomérique. Les réactions ont donc été réalisées en plusieurs lots de 500 mg.

¹²² Gao, Y.; Hanson, R.M.; Klunder, J.M.; Ko, S.-Y.; Masamune, H.; Sharpless, K.B. *J.Am.Chem.Soc.* **1987**, *109*, 5765-5780

¹²³ Hashimoto, M.; Kan, T.; Nozaki, K.; Yanagiya, M.; Shirahama, H.; Matsumoto, T. *J.Org.Chem.* **1990**, *55*, 5088-5107

- Cyclisation biomimétique

La cyclisation biomimétique a été testée dans un premier temps sur l'époxyde **14** avec l'alcool libre dans des conditions acides de Lewis (Tableau 11).^{124,110} Les résultats ne conduisant qu'à de la dégradation, l'alcool a ensuite été protégé sous forme d'éther silylé **15** (Schéma 31, p95), mais les tentatives de cyclisation sur le composé **15** n'ont donné aucun résultat concluant.

Entrée	Réactif	SM	Eq.	Conditions	Résultats
1	BF ₃ ·OEt ₂	14	5	CH ₂ Cl ₂ , -78°C, 1h	Dégradation
2	BF ₃ ·OEt ₂	14	5	CH ₂ Cl ₂ , -78°C, 30min	Dégradation
3	BF ₃ ·OEt ₂	14	0,5	CH ₂ Cl ₂ , -78°C, 1h	Dégradation
4	BF ₃ ·OEt ₂	15	0,5	CH ₂ Cl ₂ , -78°C, 15min	Dégradation

Tableau 11

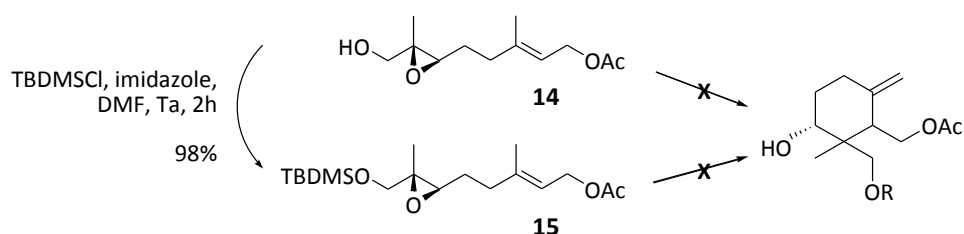


Schéma 31 : Tentatives de cyclisation

Des conditions radicalaires ont également été testées (variation du métal utilisé,^{125,82} des conditions de régénération du radical,¹²⁶ du solvant,^{127,128} de la température notamment), sans observer de cyclisation.

¹²⁴ Li, W.-D.Z.; Yang, J.-H. *Org.Lett.* **2004**, *6*, 1849-1852

¹²⁵ Barrero, A.F.; Quilez del Moral, J.F.; Sanchez, E.M.; Artega, J.F. *Eur.J.Org.Chem.* **2006**, 1627-1641

¹²⁶ Arteaga, J.F.; Dominggo, V.; Quilez del Moral, J.F.; Barrero, A.F. *Org.Lett.* **2008**, *10*, 1723-1726

¹²⁷ Barrero, A.F.; Cuerva, J.M.; Herrador, M.M.; Valdivia, M.V. *J.Org.Chem.* **2001**, *66*, 4074-4078

¹²⁸ Haruo, Y.; Hasegawa, T.; Tanaka, H.; Takahashi, T. *Synlett* **2001**, *12*, 1935-1937

L'échec de cette cyclisation pourrait être attribué à la nature du groupement protecteur du précurseur de cyclisation. Nous avons ainsi envisagé une étude modèle utilisant comme substrat de cyclisation des précurseurs plus simples et/ou diversement protégés (Figure 59).

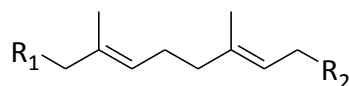


Figure 59 : structure type des composés étudiés

$R_1 = OH, OAc, OTBDMS, R_2 = OAc, OAcCl, OH, OPMB, OTES, SO_2Ph$

3.1.2.2. Etude de la mono-cyclisation avec $R_1 = H$

Le mécanisme réactionnel de la cyclisation passe par la formation d'un carbocation suite à l'ouverture de l'époxyde en présence d'acide de Lewis (Schéma 32).

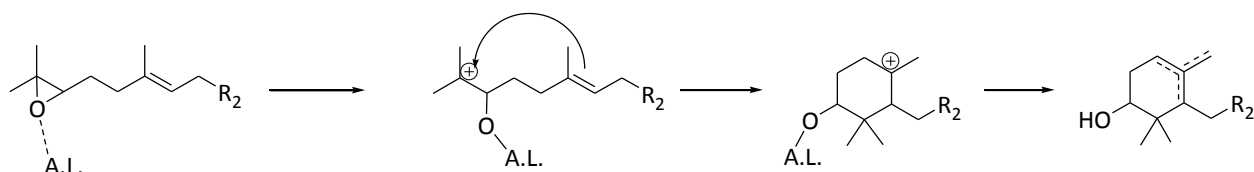


Schéma 32 : Mécanisme de cyclisation

Afin de tester la validité de cette voie de synthèse, une famille de dérivés du géraniol époxydé a été préparée (Figure 59), permettant d'étudier les influences des protections et des acides de Lewis dans cette cyclisation.

Dans un premier temps, la cyclisation a été étudiée avec les composés pour lesquels $R_1 = H$ (Figure 60). Le composé témoin ($R_2 = OAc$) permet d'avoir une référence par rapport aux essais réalisés auparavant. Les synthèses sont présentées dans les Schémas 31 et 32.

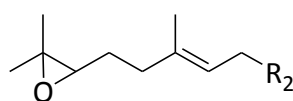


Figure 60 : composé engagé en premier lieu

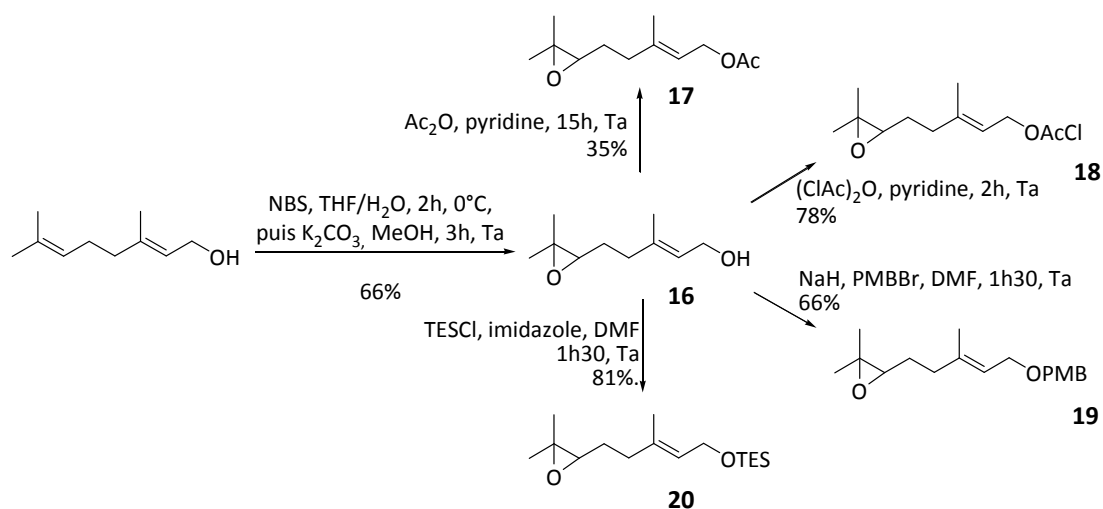


Schéma 33 : Synthèse générale des composés 16 à 20

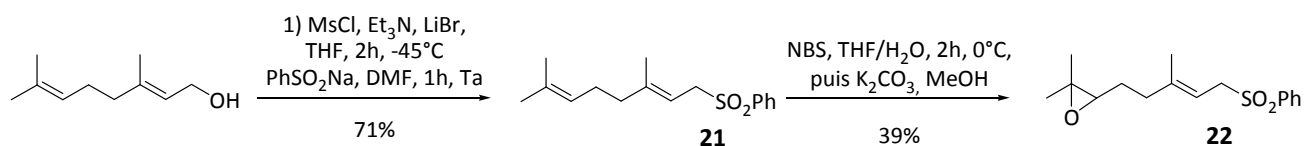


Schéma 34 : Synthèse du composé 22

Les conditions de cyclisation peuvent conduire à divers produits connus dans la littérature (Figure 61).

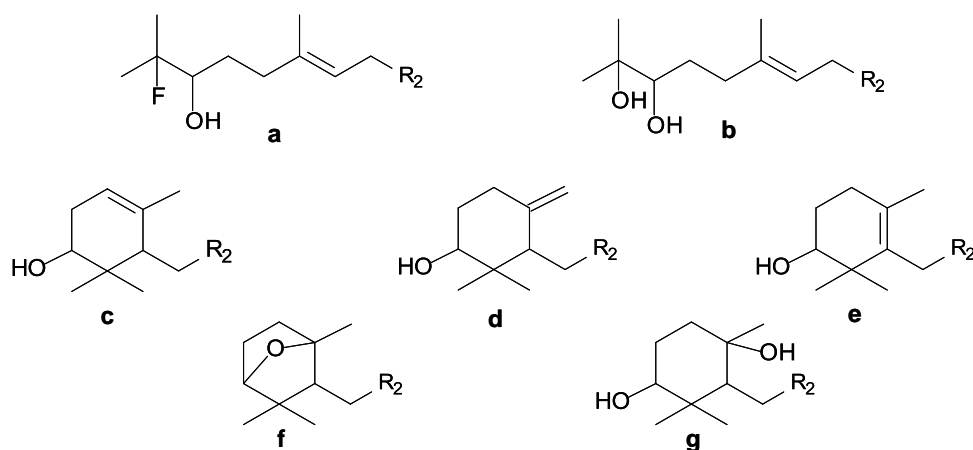


Figure 61 : Structures possibles des produits après réaction

Les cyclisations sont testées avec 1 éq. de divers acides de Lewis: $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, TiCl_4 , AlCl_3 , ZnCl_2 . La réaction est réalisée à -78°C , dans le CH_2Cl_2 anhydre (0,2 M) avec du tamis moléculaire 4 Å.

Composés	17	18	19	20	22
$\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$	b + dégradation	b	19 + b	c + d + g	b
TiCl_4	b + dégradation	b + dégradation	b + dégradation	b	22
AlCl_3	17	18	19 + b + dégradation	b	dégradation
ZnCl_2	17	18 + b	19	b + dégradation	22

Tableau 12 : Résultats des réactions avec divers acides de Lewis

Les résultats consignés dans le Tableau 12 sont déterminés par l'analyse qualitative des ccm (AcOEt/EP , 1/2 et 1/9) et des RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3) des bruts réactionnels.

Les produits obtenus *via* le traitement des composés **17** et **20** par TiCl_4 ont été analysés par RMN du proton. Ces époxydes conduisent à la formation des diols **17b** et **20b** (Schéma 35).

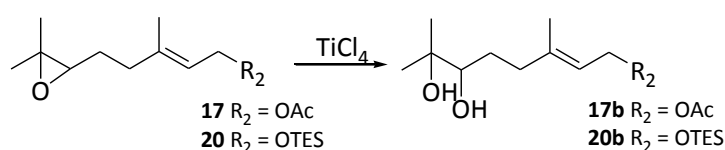
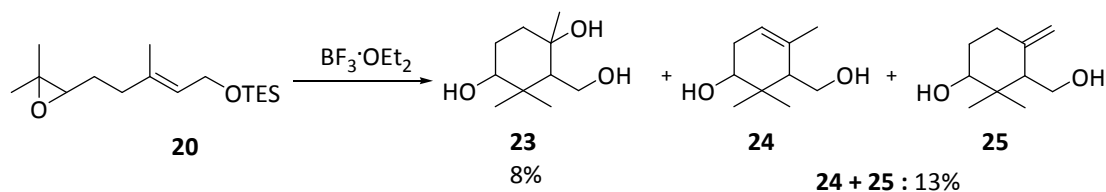


Schéma 35 : Résultats de la réaction avec le chlorure de titane

A partir du composé silylé **20**, il est possible de cycliser la molécule en utilisant le $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (Schéma 36).

Schéma 36 : Résultats de la réaction avec $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$

Deux fractions ont été isolées, une première contenant le composé cyclique **23** (de type **g**) résultant de l'attaque d'une molécule d'eau sur le carbocation cyclisé intermédiaire au moment du traitement de la réaction. Une deuxième fraction correspondant aux deux isomères **24** et **25** (respectivement de types **c** et **d**) en mélange inséparable (5:4). Le rendement global de cette première cyclisation est de 21%, ceux de la littérature oscillant autour de 50%.

Au cours de cette réaction, la désilylation du composé cyclisé est observée. Celle-ci pourrait être due soit à la présence d'ion fluorure libéré dans le milieu réactionnel, soit à la lyse de ce groupe en milieu légèrement acide, et pourrait être accentué par la purification sur gel de silice.

La cyclisation du composé **26** portant un groupement TBDMS moins labile a été tentée, mais celle-ci ne donne pas les résultats escomptés, nous retrouvons le composé de départ, le groupement protecteur est sans doute trop encombrant (Schéma 37).

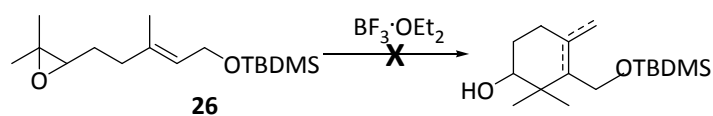


Schéma 37 : Tentative de cyclisation d'un dérivé silylé plus stable

De plus, un essai de cyclisation dans ces mêmes conditions sur le géraniol époxydé **16** mène à de la dégradation (Schéma 38). L'alcool doit donc être protégé lors de la cyclisation.

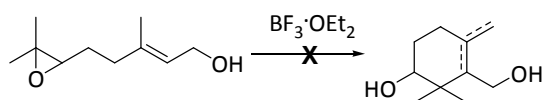


Schéma 38 : Tentative de cyclisation du composé 16

Cette méthodologie s'étant avérée fructueuse sur un composé pour lequel $R_2 = \text{OTES}$, traité par $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, notre étude s'est donc poursuivie par la détermination du groupe R_1 permettant à la cyclisation de prendre place (Schéma 39).

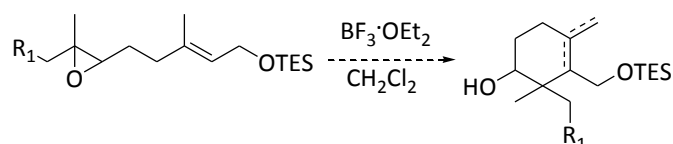


Schéma 39 : Cyclisation avec $R_1 \neq H$

3.1.2.3. Etude méthodologique de mono-cyclisation d'un précurseur d'hydroxyméthyle

Comme nous l'avons vu précédemment, la protection avec un carbonyle est nécessaire pour avoir de bons résultats d'oxydation allylique au dioxyde de sélénium, malheureusement l'acétate ne peut pas facilement être déprotégé en présence d'un époxyde. C'est pourquoi nous avons remplacé le groupement protecteur en position R_2 par un chloroacétate ($R_2 = \text{OAcCl}$), dont la coupure s'effectue dans des conditions plus douces.

Suivant la méthode mise au point précédemment, divers dérivés du géraniol époxydé ont été préparés (Schéma 40). L'aldéhyde **28** et l'alcool **29** ont été séparés. Néanmoins, au cours de la réduction de l'aldéhyde dans les conditions décrites précédemment, nous avons obtenu le composé déchloroacétylé. Il est donc possible de déprotéger le groupement chloroacétate par le NaBH_4 sur des composés variés, parfois même de manière régio-sélective.¹²⁹

Après époxydation stéréo-sélective par la méthode de Sharpless, diverses manipulations fonctionnelles permettent de protéger l'alcool avec différents groupements afin de déterminer celui qui conduit à la meilleure cyclisation. Sur cette partie, les excès énantiomériques n'ont pas été évalués, seuls les pouvoirs rotatoires ont été mesurés.

¹²⁹ Villedieu, E.; Lopin-Bon, C.; Berteina-Raboin, S. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 2115-2118

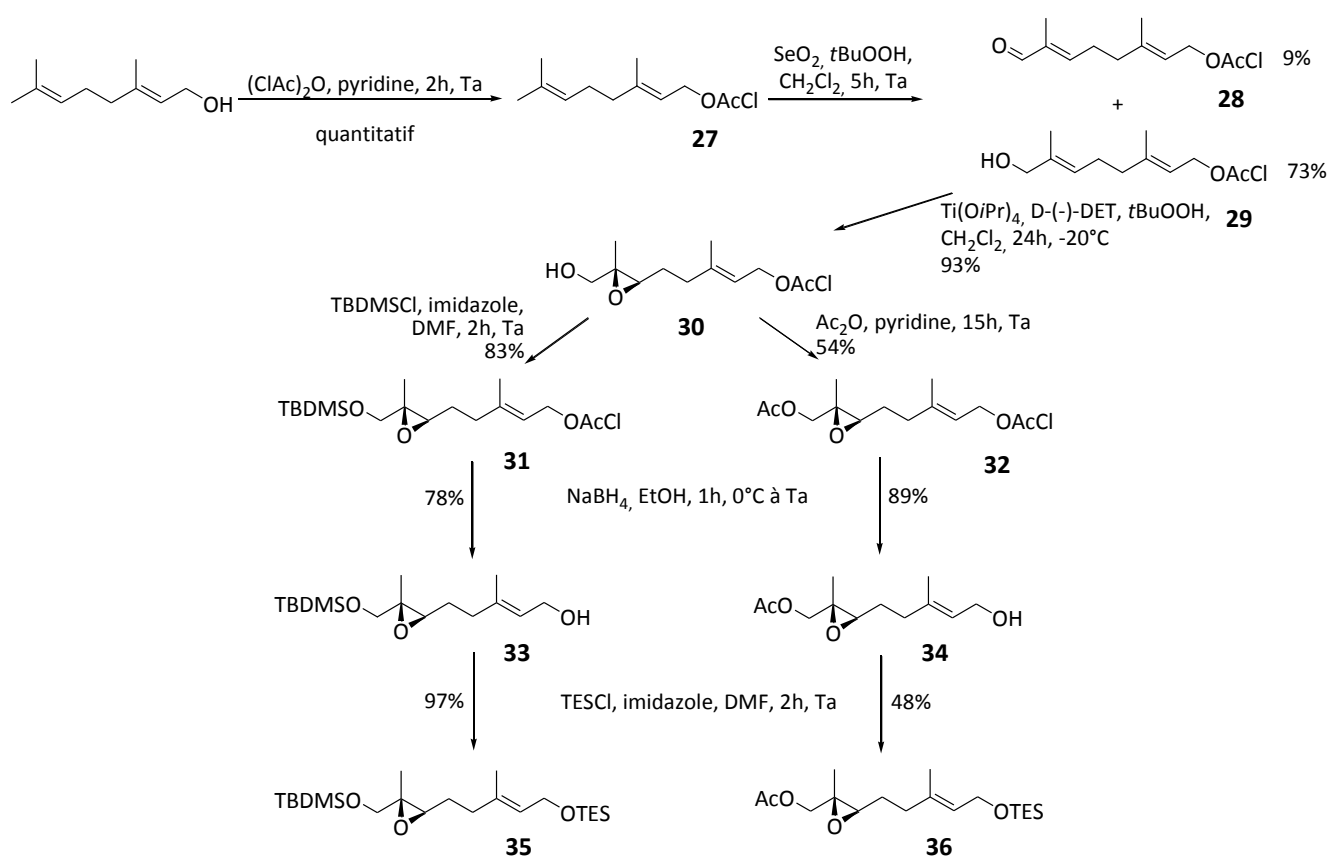


Schéma 40 : Synthèse des dérivés d'hydroxyméthyle précurseurs de cyclisation

Deux groupements R_1 ont été testés pour la cyclisation (OAc et OTBDMS). Le groupement PMB n'a pas pu être introduit. D'après la littérature, une protection aromatique sur l'autre alcool serait nécessaire.¹³⁰

Les dérivés ont été testés dans la cyclisation, dans les conditions retenues lors de l'étape précédente (1 éq. $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, dans le CH_2Cl_2 distillé, tamis moléculaire 4 Å, 10 min à -78°C).

La réaction avec l'alcool protégé sous forme d'acétate **36** conduit à de la dégradation. La réaction avec l'alcool silylé **35** conduit au composé **37** (Figure 62) obtenu avec 20% de rendement.

¹³⁰ Chuang, Y.-H.; Head, D.B. *J.Org.Chem.* **1988**, *53*, 4929-4938

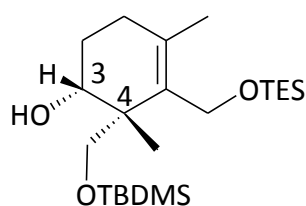


Figure 62 : composé 37

Une analyse des couplages nOe en RMN ^1H du composé **37** a permis de connaître la stéréochimie de la molécule. Il semble qu'un seul isomère se soit formé. Une corrélation entre le groupe méthyle en position C_4 et l'hydrogène en position C_3 est mise en évidence, ce qui indique que ces deux groupements sont en position *cis* l'un par rapport à l'autre.

Une tentative d'optimisation des conditions réactionnelles a été réalisée en faisant varier la quantité de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ et le temps de réaction (Tableau 13), sans donner de meilleurs résultats. Il semble nécessaire de réaliser la réaction avec une quantité stœchiométrique d'acide de Lewis. Il est aussi probable qu'un temps réactionnel inférieur à 10 min améliore les résultats.

Entrée	Eq. $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$	Temps (min)	Résultats
1	1	10	20% + dégradation
2	1	30	12% + dégradation
3	0,1	10	Dégradation
4	2	10	18%

Tableau 13 : Variations des conditions de cyclisation

Cependant, puisqu'il ne s'agit pas du produit désiré pour la synthèse totale, nous n'avons pas testé un grand nombre de conditions, le but premier de cette méthodologie étant de déterminer les meilleures conditions (fonctions portées par le précurseur et acide de Lewis) pour aboutir à une mono-cyclisation.

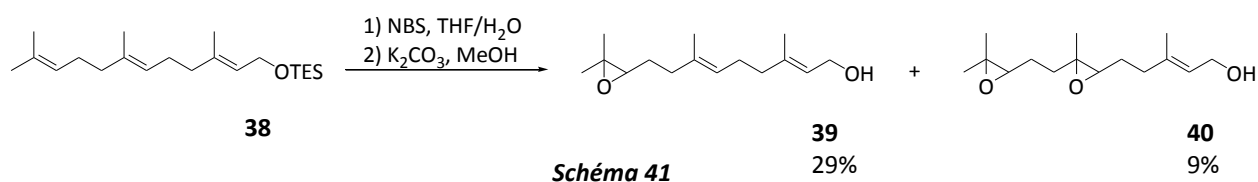
Grâce à cette étude méthodologique, nous avons déterminé les conditions optimales (solution 1 M dans le CH_2Cl_2 , addition de 1 éq. de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ à -78°C) ainsi que les groupements

protecteurs nécessaires à la mono-cyclisation (TES et TBDMS). La double cyclisation en cascade peut donc être envisagée.

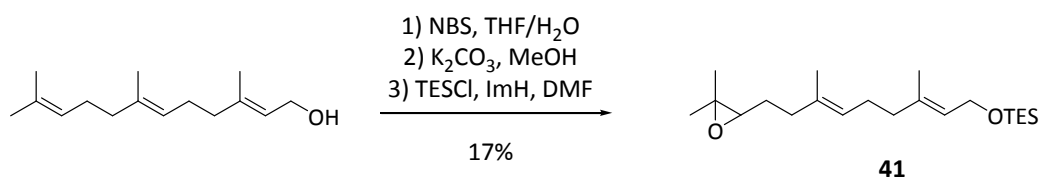
3.1.2.4. Etude de la double cyclisation en cascade

La réaction de mono-cyclisation par voie biomimétique étant possible, on utilise les conditions utilisées précédemment pour étudier la double cyclisation. Le précurseur de cyclisation est préparé à partir du farnésol.

Celui-ci est dans un premier temps silylé avec du TESCl. Ensuite, on époxyde la double liaison avec la méthode au NBS/K₂CO₃. L'époxydation conduit malheureusement à deux composés désilylés (Schéma 41).



Il semble donc plus judicieux d'effectuer tout d'abord l'époxydation du farnésol puis la protection de l'alcool (Schéma 42). Ceci permet d'obtenir le précurseur de cyclisation **41** avec 17% de rendement sur les trois étapes.



Ces rendements sont relativement faibles mais suffisants, le but étant uniquement de vérifier que la double cyclisation en cascade est réalisable.

L'époxyde silylé est alors engagé dans la réaction de cyclisation avec le $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ dans le CH_2Cl_2 .

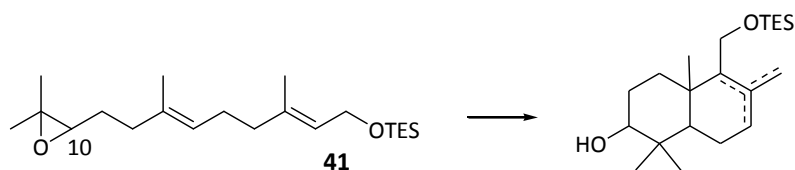


Schéma 43 : Double cyclisation cascade

L'interprétation des spectres RMN ^1H et ^{13}C des produits obtenus est rendue difficile par le nombre d'isomères possibles (trois à quatre carbones asymétriques et trois isomères de positions pour la double liaison). Cependant, les deux spectres montrent que l'époxyde a été ouvert (absence du triplet H_{10} à 2,80 ppm). De plus, aucun alcool tertiaire n'apparaissant en RMN du carbone, les produits formés ne sont pas des diols résultant de l'attaque d'eau sur le carbocation. Ceci est confirmé par l'analyse en spectrométrie de masse, qui donne un pic moléculaire à 374 correspondant à un adduit **41** $[\text{M}+\text{Na}]^+$, donc le produit a la même masse molaire que le composé de départ.

A l'aide du spectre ^{13}C et d'une analyse DEPT, d'autres indications sur les produits peuvent être données. Ces spectres affirment la présence d'un alcool secondaire (quatre signaux à 79,0, 78,7, 74,5 et 73,9 ppm), d'un méthylène exocyclique (cinq signaux de CH_2 à 111,9, 111,1, 108,3, 107,5 et 106,7 ppm), d'au moins un carbone quaternaire supplémentaire (nombreux signaux autour de 40 et 35 ppm), et de carbones tertiaires supplémentaires (sept signaux entre 58,0 et 49,5 ppm). Cette analyse semble montrer qu'au moins le premier cycle a été formé, mais ne permet pas de conclure avec certitude que le deuxième cycle a bien été formé et deux types de structure restent possibles (Figure 63).

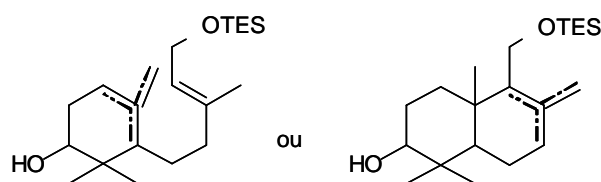


Figure 63

Une analyse HPLC a été réalisée sur le mélange d'isomères (colonne Altima RP C18, 150x4,6 mm, taille des particules : 5 μm , Deerfield, USA, gradient de MeOH 60 à 100% dans l'eau en 30 min, Ta, 1 mL/min) (Figure 64).

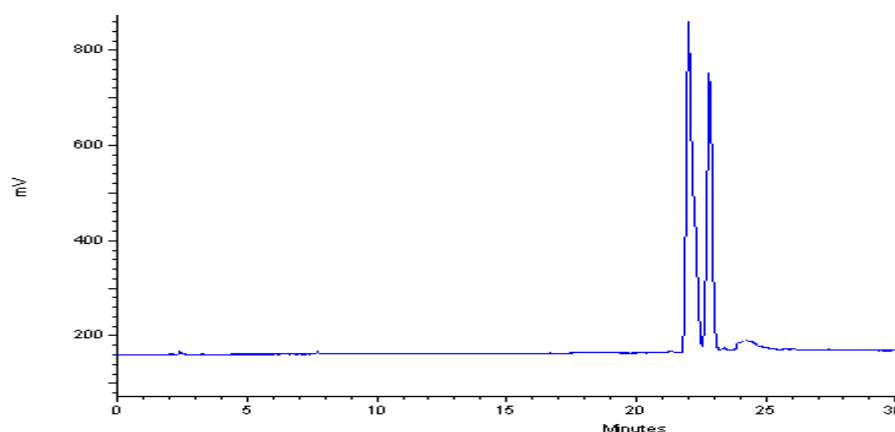


Figure 64 : Chromatogramme du mélange d'isomères

Le chromatogramme montre que la fraction isolée est en fait un mélange de deux types de composés, soit le monocycle et le bicycle, soit de stéréo-isomères (Figure 63, p104).

Grâce aux composés modèles, nous pensons que la double cyclisation est possible, même si elle s'accompagne de mono-cyclisation. Elle a donc été réalisée sur un précurseur qui permet d'avoir les substitutions nécessaires à la préparation de l'andrographolide.

3.1.2.5. Préparation d'un précurseur hydroxyméthylé à partir du farnesol

Nous nous sommes donc penchés sur la cyclisation qui nous permettrait d'avoir les substitutions adéquates pour la synthèse de l'andrographolide, notamment la fonction CH_2OH en position C_4 du bicycle. Dans un premier temps, nous avons tenté de préparer le précurseur de cyclisation à partir du farnesol, sur le même schéma de synthèse que la préparation du précurseur de mono-cyclisation. Le farnesol est d'abord acétylé afin d'étudier la régio-sélectivité de l'oxydation allylique en position terminale (Schéma 44).

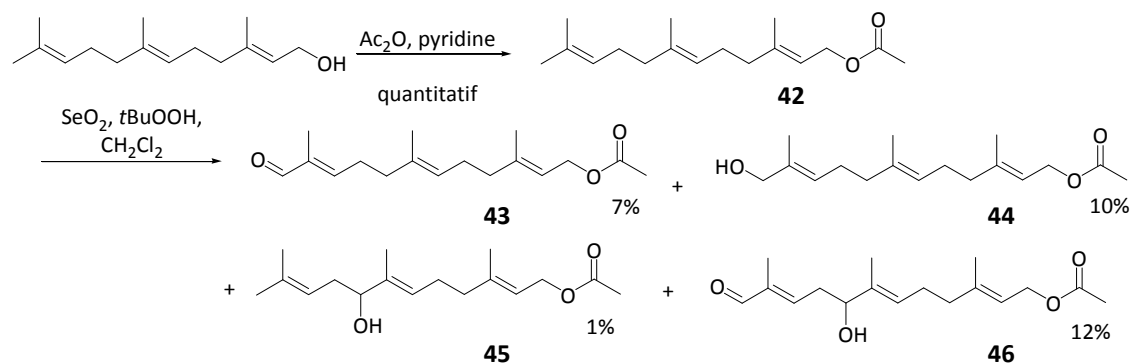


Schéma 44 : Préparation du précurseur à partir du farnesol

D'après les résultats obtenus, l'oxydation allylique n'est pas sélective de la position terminale dans ce cas et conduit majoritairement à de la dégradation. Elle est alors tentée sur le composé silylé sans plus de succès (Schéma 45).

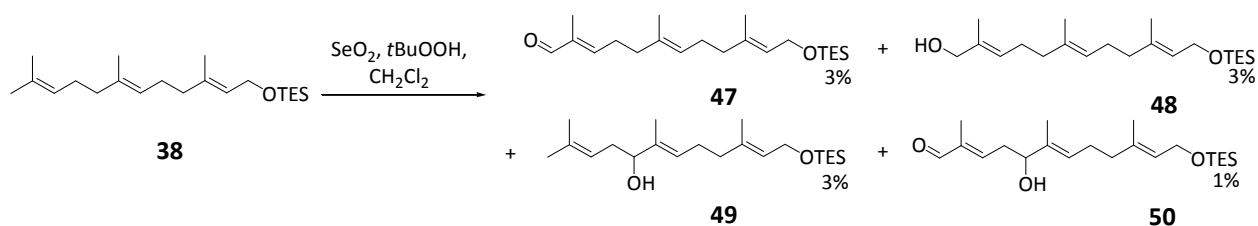


Schéma 45

Par ailleurs, les rendements obtenus ne permettent pas de réaliser une synthèse multi-étapes à partir de ce composé. Il faut alors repenser la synthèse en partant d'un autre dérivé d'isoprène, comme par exemple le géranylacétone.

3.1.2.6. Préparation du précurseur à partir du géranylacétone

La mono-cyclisation étant mise au point et l'essai de double cyclisation semblant concluant, un autre précurseur permettant d'aboutir à un bicyclic portant un groupe hydroxyméthyle en C₄ est préparé.

Cette synthèse est envisagée à partir de la géranylacétone GA (Schéma 46). Le précurseur **III** pourrait être obtenu après réduction et silylation du composé **IV**, celui-ci dérivant du

composé **V** *via* une alkylation de Horner-Emmons. La préparation des composés **V** et **VI** pourrait être réalisée selon la méthode mise au point précédemment.

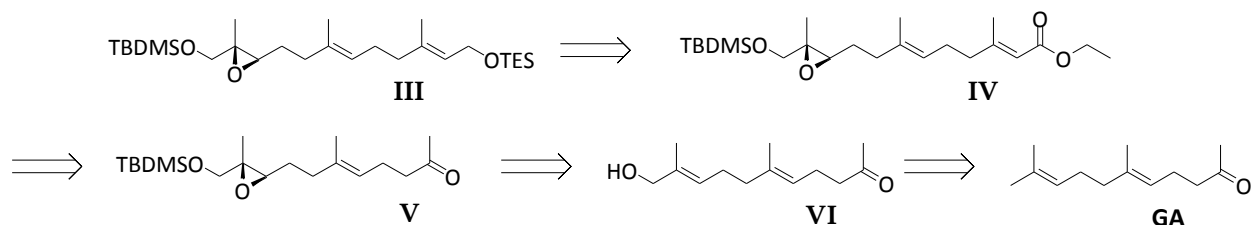


Schéma 46 : Analyse rétro-synthétique de la préparation du précurseur à partir du GA

L'oxydation allylique conduit habituellement à la fois à la formation de l'alcool et de l'aldéhyde. Dans ce cas, il faut minimiser la suroxydation car le produit correspondant ne pourra pas être recyclé en alcool, du fait de la présence de la cétone terminale. Nous avons essayé de réduire la formation de l'aldéhyde (réduction du temps et/ou de la température), d'autant que la mise en œuvre de la réaction dans les conditions habituelles conduit à la formation de composés suroxydés (Schéma 47). L'intermédiaire réactionnel n'adopte sûrement pas la même conformation dans ce cas que lors de la réaction sur le géraniol acétylé.

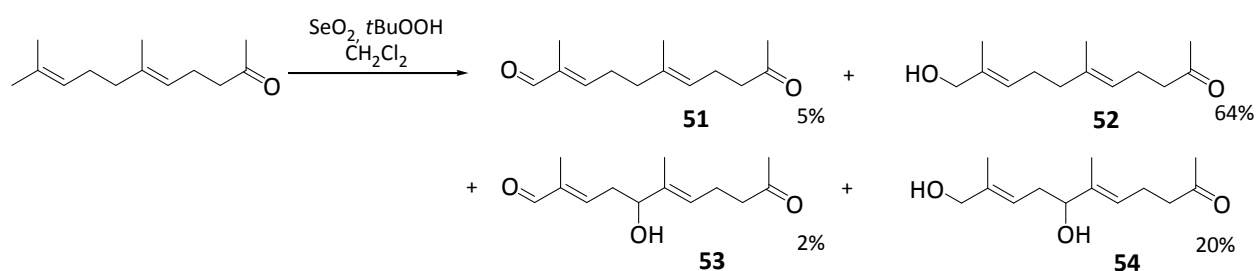


Schéma 47

Une étude méthodologique a été effectuée afin de réduire les sous produits (Tableau 14).

Entrée	SeO ₂	tBuOOH	T (°C)	t (h)	51 (%)	52 (%)	53 (%)	54 (%)	GA (%)
1	0,5 éq.	3 éq.	0	4	18	15	14	7	-
2	0,5 éq.	2 éq.	0	17	9	53	0,5	7	21
3	0,5 éq.	1 éq.	0	17	5	46	-	10	29
4	0,5 éq.	1 éq.	0	60	11	38	7	35	2
5	1 éq.	3 éq.	0	17	14	28	5	24	7
6	1 éq.	2 éq.	0	17	19	30	-	10	4

Tableau 14

La diminution de la quantité de tBuOOH permet de diminuer la formation des sous produits, mais diminue aussi la conversion, alors que la diminution de SeO₂ entraîne soit une baisse de la conversion, soit une suroxydation. Les conditions retenues pour cette réaction sont celles de l'entrée 2. En effet, même si la conversion n'est pas totale, ce sont les conditions qui minimisent la suroxydation du composé désiré. On peut alors obtenir l'alcool **52** avec un rendement corrigé de 65% de rendement en tenant compte de la conversion de 79%, ce qui correspond au résultat obtenu avec le géraniol acétylé.

Une fois l'alcool allylique **52** formé, l'époxydation asymétrique de Sharpless est mise en œuvre (l'excès énantiomérique n'a pas été évalué). L'alcool **55** est ensuite protégé sous forme de *ter*-butyldiméthylsilyle éther **56**. On peut alors allonger la chaîne par une réaction de Horner-Emmons en faisant réagir du triéthylphosphonoacétate en milieu basique sur le composé **56**. Une réduction de l'ester **57** donne l'alcool **58** correspondant, qui est alors protégé sous forme de triéthylsilyle éther **59** avec un rendement décevant de 30%(Schéma 48).

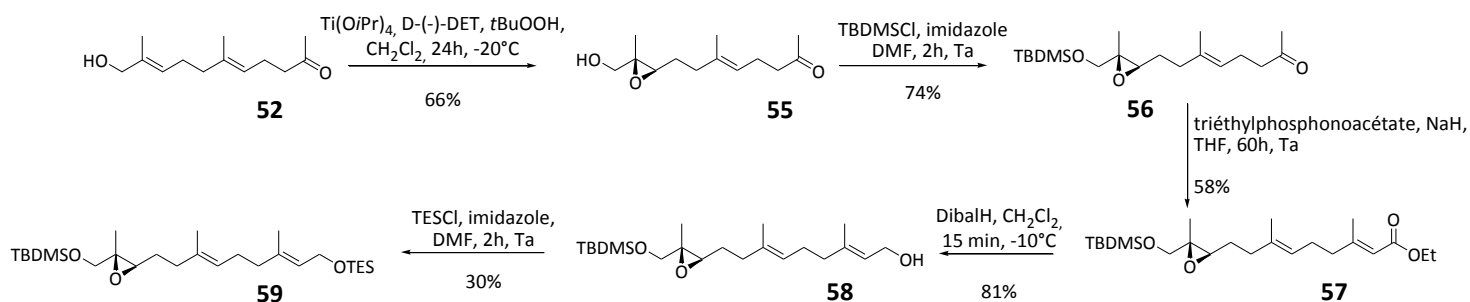


Schéma 48 : Synthèse du précurseur de double cyclisation

Nous avons réussi à préparer le précurseur de cyclisation **59** avec un rendement global de 5% sur six étapes, à partir du géranylacétone. Ceci est dû notamment au faible rendement de protection finale. Le substrat **59** est engagé dans l'étape de cyclisation selon la méthode mise au point précédemment afin d'obtenir le bicyclic **60** (Schéma 49).

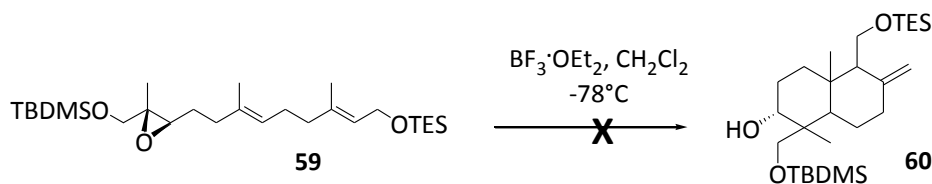


Schéma 49

Malheureusement, cette étape n'aboutit qu'à de la dégradation ou à des fractions difficilement interprétables en RMN à cause du nombre d'isomères formés. La RMN ^1H met cependant en évidence des signaux caractéristiques du groupement TBDMS, mais sous la forme de nombreux singulets d'intégration variable, ce qui peut être dû à l'obtention du cycle A avec des configurations variées du C_4 . On voit que l'époxyde a été ouvert puisqu'il n'existe plus de triplet à 2,87 ppm. De plus, les signaux du groupement TES n'ont pas changé, ce qui peut indiquer que la mono-cyclisation seule a eu lieu. On obtient aussi une fraction de composé désilylé **61** (Figure 65).

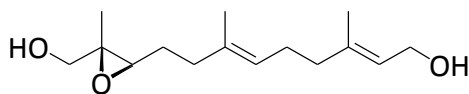


Figure 65 : Composé 61

Ce précurseur silylé semble moins stable que celui dérivé du géraniol, ce qui peut expliquer le mauvais rendement de la dernière étape de protection de l'alcool.

L'échec de cette réaction peut aussi provenir du choix des groupements protecteurs. Il se pourrait par exemple que le groupement TBDMS soit trop encombrant pour que le composé se mette en conformation pseudo chaise. Nous avons donc essayé de préparer le composé protégé sous forme de deux éthers triéthylsilylés (composé **62**), mais sans succès (Schéma 50). Une désilylation partielle du composé linéaire est observée pendant le traitement et sur colonne.

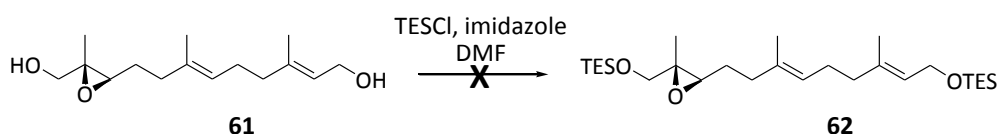


Schéma 50

En utilisant des groupements protecteurs aromatiques, on pourrait favoriser l'effet de « π -stacking » entre les deux extrémités et ainsi favoriser la conformation pseudo-chaise en rapprochant les extrémités de la chaîne.⁷⁶ L'introduction de groupement PMB (composé **63**) ne permet pas d'obtenir le bicyclic correspondant (Schéma 51).

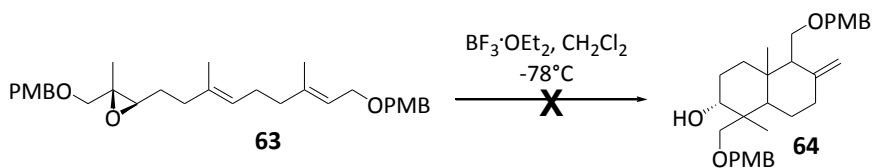


Schéma 51

Vu les résultats obtenus, nous avons décidé de suspendre cette approche par voie biomimétique, et de favoriser une voie synthétique, menée en parallèle à cette synthèse, et qui donne des résultats plus prometteurs.

3.2. Synthèse *via* la cétone de Wieland-Miescher

3.2.1. Analyse rétro-synthétique

En suivant la méthodologie de synthèse mettant en jeu la cétone de Wieland-Miescher (§1.2.4.2, p31), la synthèse de l'andrographolide peut être séparée en trois parties distinctes (préparation du bicyclic, fonctionnalisation du cycle A puis fonctionnalisation du cycle B) (Schéma 52).

L'andrographolide **1** proviendrait du composé **VII** par fonctionnalisation du cycle B, notamment l'introduction de la chaîne sur la position C₉. **VII** proviendrait de **VIII** suite à la mise en place des centres asymétriques C₃ et C₄. Enfin, **VIII** serait obtenu par cyclisation de Hajos-Parrish.

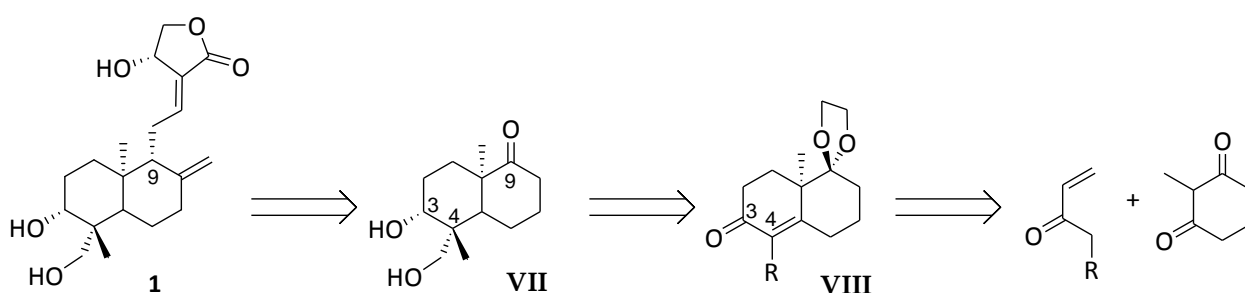


Schéma 52 : Analyse rétrosynthétique

Dans un premier temps, la synthèse racémique a été développée, à partir de la cétone de Wieland-Miescher commerciale, afin de sécuriser la mise en place des différentes chaînes latérales (en positions C₃, C₄, C₈ et C₉). La protection sélective de chacune des cétones a permis de mener l'étude de la fonctionnalisation de chaque cycle en parallèle.

Ensuite, grâce à la méthode racémique mise au point, la synthèse énantio-sélective a été mise en œuvre, à partir de la cétone de Wieland-Miescher optiquement active, obtenue par cyclisation de Hajos-Parrish.

3.2.2. Fonctionnalisation du cycle A

3.2.2.1. Analyse rétro-synthétique et protection du cycle B

En 1968, l'équipe de S.W. Pelletier a étudié la possibilité de fonctionnaliser le cycle A de la cétone de Wieland-Miescher pour la synthèse de l'andrographolide.¹³¹ Cette synthèse a été réalisée à partir du bicyclic comportant l'ester en position C4. Afin d'orienter notre méthodologie vers la préparation d'un nombre maximal d'analogues, et en s'inspirant de ces travaux, nous avons réalisé la synthèse à partir du bicyclic le plus simple possible.

L'étape clé de cette partie est la création du centre quaternaire C₄. Ainsi, le composé **IX** fonctionnalisé sur le cycle A proviendrait du composé **X** après réduction sélective du carbonyle en position C₃. Le composé **X** serait obtenu après deux alkylations successives de la cétone de Wieland-Miescher sélectivement protégée **IX** (Schéma 53).

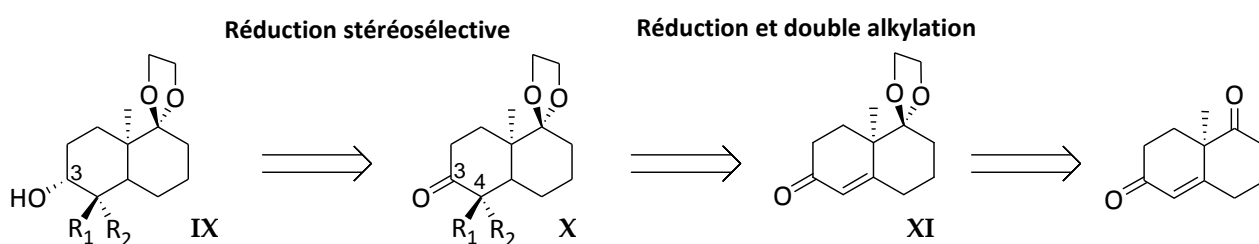


Schéma 53 : Fonctionnalisation du cycle A

Nous avons tout d'abord mis au point la synthèse en version racémique.

Cette partie de la synthèse commence par la protection sélective de la cétone saturée par un traitement à l'éthylène glycol en milieu acide afin d'obtenir le composé **65** avec 88% de rendement (Schéma 54).

¹³¹ Pelletier, S.W.; Chappell, R.L.; Prabhakar, S. *J.Am.Chem.Soc.* **1968**, *90*, 2889-2895.

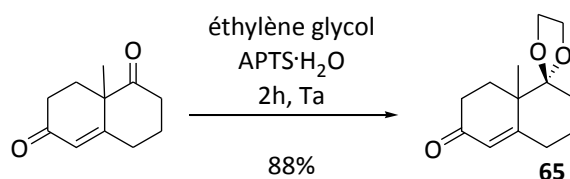


Schéma 54 : protection de la cétone de Wieland-Miescher

3.2.2.2. Création du C₄ et réduction alkylante de Birch

Les exemples de synthèses totales de diterpènes montrent que la création du deuxième carbone quaternaire à partir de la cétone de Wieland-Miescher est presque toujours issue d'une réduction alkylante dans les conditions de Birch (nommée dans ce cas réaction de Storke), permettant par la même occasion d'obtenir un cycle décaline à jonction *trans*. Cette méthode permet d'alkyler régio-sélectivement la position α de la cétone α,β -insaturée.

En revanche, si nous tentions d'introduire l'électrophile sur la cétone saturée après réduction de la double liaison, il existerait deux sites d'addition possibles (Figure 66), le moins encombré étant le carbone C₂, il serait favorisé.

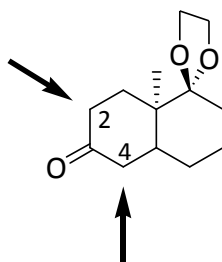


Figure 66 : Deux positions possibles pour l'alkylation en α du carbonyle

La méthode de Birch permet donc l'alkylation régio-sélective. La mise en place définitive de la stéréochimie du C₄ se fait au moment de la deuxième alkylation. L'alkylation stéréo-sélective de cette position pourrait être justifiée par l'encombrement stérique au niveau de la position considérée, en tenant compte de la conformation la plus stable de l'intermédiaire réactionnel. Ainsi, il suffirait d'introduire les deux électrophiles dans un ordre convenu afin d'obtenir le composé bis-alkylé de configuration désirée.

Comme l'indique la Figure 67, l'approche pseudo-axiale d'un électrophile par la face β (nomenclature dérivée des descripteurs en série stéroïde)¹³² du composé bicyclique devrait être défavorisée par la gêne stérique qu'occasionne le méthyle angulaire, alors que l'approche pseudo-équatoriale par la face α semble plus libre. Cet effet devrait donc orienter l'approche d'un électrophile par la face α pour donner le composé disubstitué

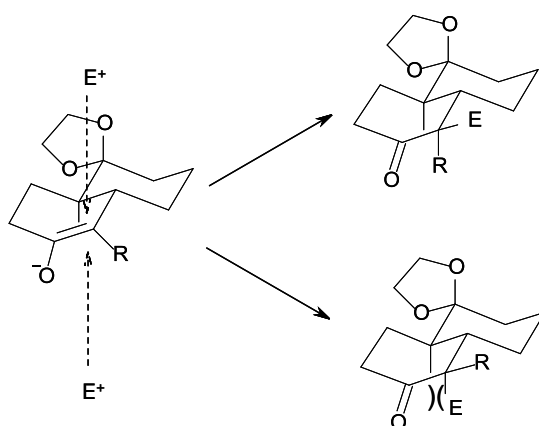


Figure 67 : Géométrie supposée de l'intermédiaire réactionnel de la réaction d'alkylation

D'après cette supposition, pour obtenir la configuration souhaitée (Figure 68), l'ester doit être introduit en premier, suivi du CH_3 .

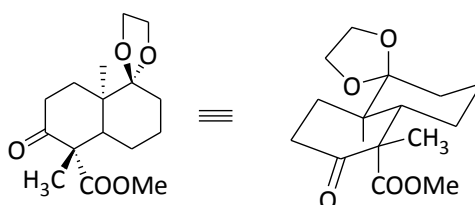


Figure 68 : Configuration souhaitée après bis-alkylation

D'autre part, si on considère que la stabilité d'un composé est plus importante lorsque les groupements encombrants sont en position équatoriale, la stéréochimie du C_4 du composé naturel ne serait pas favorisée. Nous avons cependant tout d'abord tenté d'introduire l'ester en premier, comme proposé par les figures ci-dessus.

¹³² Les positions qui se trouvent du même côté que les groupes méthyles angulaires sont appelées β , alors que celles qui se trouvent du côté opposé sont appelées α . E.L.Eliel, S.H.Wilen, Stéréochimie des Composés Organiques. Ed. Lavoisier, Technique & Documentation, Paris, 1996, p799.

- Réduction alkylante

D'après la littérature,⁶⁸ l'isomérisation de l'énolate existe lorsque le milieu réactionnel est à une température supérieure à -45°C . Les premiers essais de réduction de Birch effectués sur la cétone **65** montrent un manque de régio-sélectivité lors de l'introduction de l'électrophile dans les conditions classiques (NH_3 liquide à reflux). La réaction réalisée à reflux de l'ammoniaque (-33°C), conduit à l'isomérisation de l'énolate, et donc à la substitution de l'électrophile en deux positions, ce qui explique l'obtention des deux composés alkylés **66** et **67** en mélange inséparable, dont les proportions varient en fonction de l'échelle sur laquelle la réaction a été réalisée (Schéma 55).

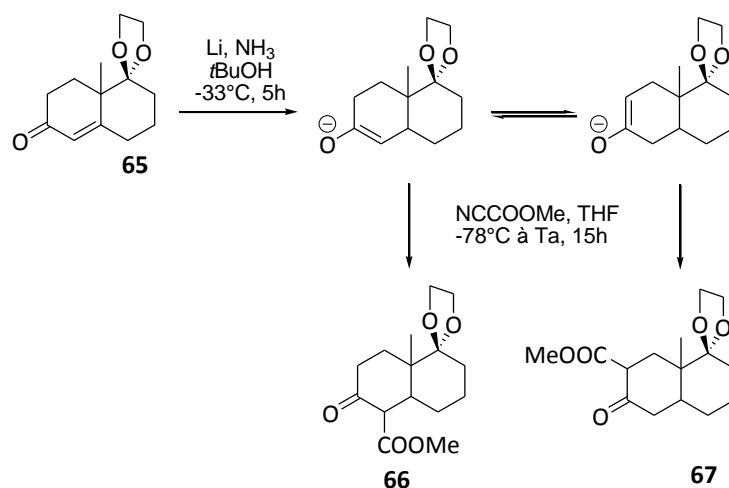


Schéma 55 : Produits issus de la réduction alkylante

Afin de contrôler cette température, l'accepteur de radical anion a été modifié. En 2000, l'équipe de T.J. Donohoe¹³³ a montré qu'il était possible de remplacer l'ammoniaque par du naphthalène. Cette méthode permettrait de contrôler la température par le biais d'un bain cryostatique.

¹³³ Donohoe, T.J.; Harji, R.R.; Cousins, R.P.C. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1331-1334

La réduction au naphthalénure de lithium (LN) suivie de l'étape d'introduction de l'électrophile permet d'obtenir le composé désiré **66** avec 53 % de rendement. La réduction a été réalisée à -60°C , une trop basse température ralentissant la réaction.

D'autre part, comme le suggèrent J. Lebreton *et al.*,¹³⁴ les résultats peuvent être améliorés en réalisant la réduction à l'abri de la lumière, afin de protéger les radicaux. Nous avons alors obtenus le composé désiré avec 62% de rendement (Schéma 56).

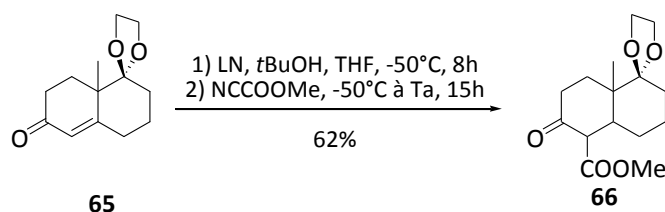


Schéma 56 : Réduction alkylante au LN

La configuration relative *cis* de l'ester méthylique et du proton H_5 est prouvée par une constante de couplage entre les protons en C_4 et C_5 de 13,0 Hz, qui est caractéristique d'une constante *trans*-diaxiale (Figure 69).

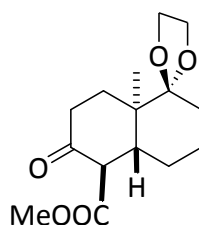


Figure 69 : Stéréochimie relative du composé 66

- Introduction du méthyle en position 4

Une fois le composé **66** obtenu, l'étape suivante est l'introduction du méthyle en position C_4 du bicyclic pour obtenir le composé **68** via la formation d'un énolate (Schéma 57).

¹³⁴ Brown, E.; Lebreton, J. *Tetrahedron* **1987**, 43, 5827-5840

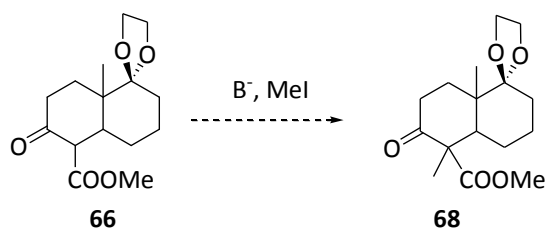


Schéma 57 : Méthylation du composé 66

Dans un premier temps, le *t*BuOK est choisi du fait de l'acidité de la position à déprotonner, mais il ne permet de déprotonner la position C₄, vraisemblablement du fait de son encombrement stérique. Une base plus forte (comme le NaH ou le LDA) conduit à la dégradation du composé. Finalement, le méthyle est introduit en utilisant le Cs₂CO₃ dans l'acétonitrile (Schéma 58).¹³⁵

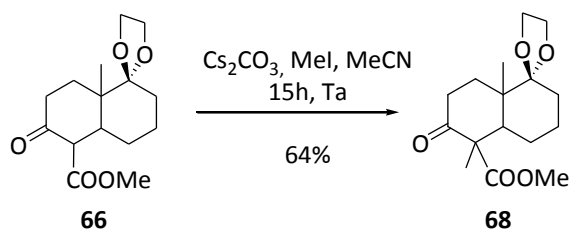


Schéma 58 : Méthylation avec Cs₂CO₃

L'analyse RMN ¹H (NOESY) nous permet de déterminer la configuration relative du composé 68 et les couplages observés indiquent une configuration *cis* des deux méthyles (Figure 70).

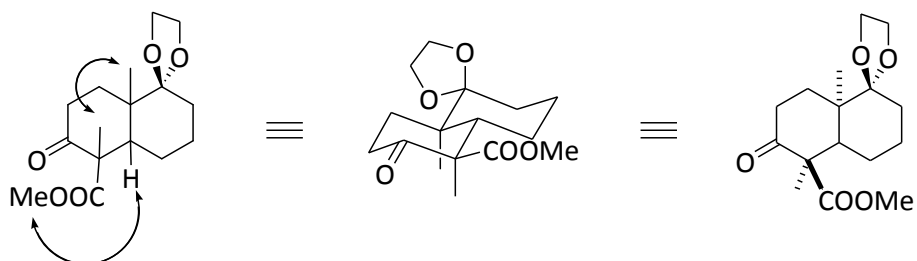


Figure 70 : Configuration relative du composé 68

¹³⁵ Germain, J.; Deslongchamps, D. *J.Org.Chem.* **2002**, 67, 5269-5278

La configuration du C₄ obtenue est l'inverse de celle désirée, contrairement à ce que pouvait laisser penser les approches basées sur l'encombrement stériques des positions visées. Ceci laisse supposer que l'effet stérique de l'acétal n'est pas négligeable et/ou que l'encombrement stérique de l'ester en axial est trop important et ne permet pas à la réaction de se faire avec la stéréochimie désirée. Ce n'est donc pas l'intermédiaire réactionnel qui régit la stéréochimie, mais plutôt la stabilité du produit alkylé.

L'introduction de l'ester est alors envisagée sur l'analogue commercial méthylé en C₄ de la cétone de Wieland-Miescher.

- Utilisation de l'analogue méthylé de la cétone de Wieland-Miescher

La synthèse est poursuivie sur le même modèle que pour la cétone de Wieland-Miescher. Le carbonyle en C₉ est protégé par l'éthylène glycol en milieu acide, puis le composé **69** est engagé dans la réduction alkylante au naphthalénure de lithium (Schéma 59).

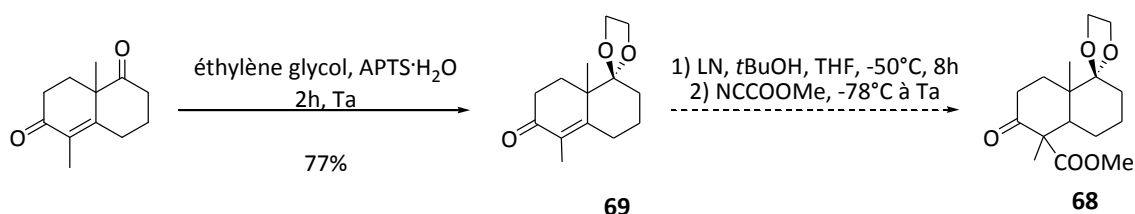


Schéma 59 : Réduction alkylante de l'analogue de la WMK

Dans un premier temps, la réduction du composé **69** n'est pas totale (30% de conversion) et les composés **69** et **68** forment un mélange inséparable.

Néanmoins, l'énolate conduit à une alkylation en position C₄, ainsi, un contrôle rigoureux de la température ne semble pas nécessaire et la réduction est donc menée en remontant de -78 °C à 0 °C sur 6 h, puis l'électrophile est additionné. Un contrôle par chromatographie sur couche mince permet de confirmer la conversion totale du bicyclic de départ. Cependant, la suite de la réaction n'a mené qu'à une faible quantité de composé alkylé, qui se décarboxyle rapidement dans les conditions réactionnelles pour redonner le composé **69** (33%).

Vu les premiers résultats, la réduction et l'alkylation sont menées en deux étapes distinctes et le composé **70** est préparé avec 52% de rendement (Schéma 60).

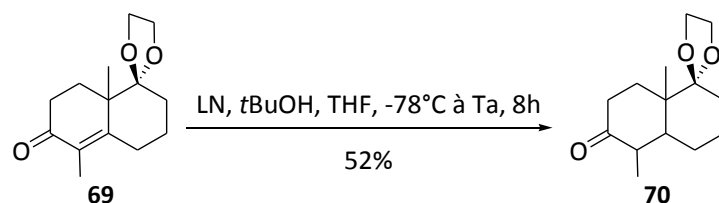


Schéma 60 : Réduction du composé 69

L'alkylation en milieu basique est alors mise en œuvre avec différentes bases (LDA, NaH), mais ne donne pas de résultats satisfaisants, le composé **70** ne se déprotonne pas et seul le composé de départ est récupéré après réaction.

Nous avons alors envisagé d'activer cette position en préparant l'hydrazone **71** correspondante (Schéma 61).

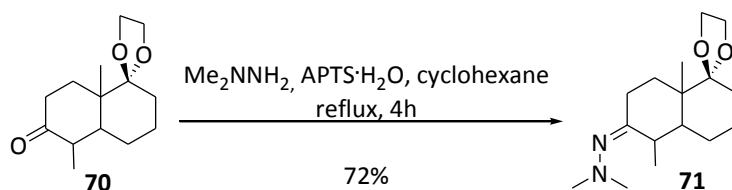


Schéma 61 : Préparation de l'hydrazone 71

L'hydrazone est engagée dans une alkylation par déprotonation au *n*-BuLi et addition de méthylcyanoformate. Cette réaction ne mène qu'à de la dégradation (Schéma 62).

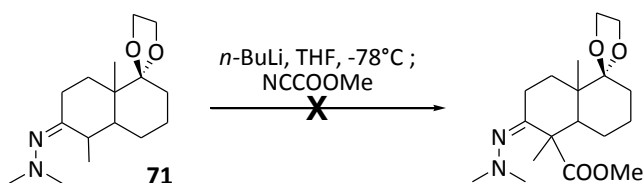


Schéma 62

La création du centre quaternaire C₄ apparaît donc difficile à mettre en œuvre. D'une part, les composés sont peu activés pour les réactions d'alkylations et se dégradent assez vite

dans les conditions réactionnelles. D'autre part, le composé bis-alkylé a pu être préparé, mais avec la configuration inverse de celle désirée.

De plus, nous avons pu mettre en évidence à plusieurs reprises une réaction secondaire se produisant sur certains composés dicarboxylés (**66**, **68**): une décarboxylation avec élimination, ce qui conduit à la formation de la cétone α,β -insaturée correspondante (Schéma 63).

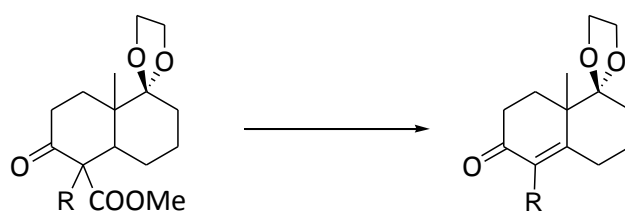


Schéma 63 : Réaction secondaire de décarboxylation, $R = H, Me$

A ce stade de la synthèse, nous avons donc envisagé l'introduction d'une autre chaîne fonctionnalisable sur le composé **66**, seul substrat ayant abouti à une alkylation efficace.

Nous avons choisi d'introduire un précurseur de groupe hydroxyméthyle en position C₄ du composé **66** (Schéma 64).

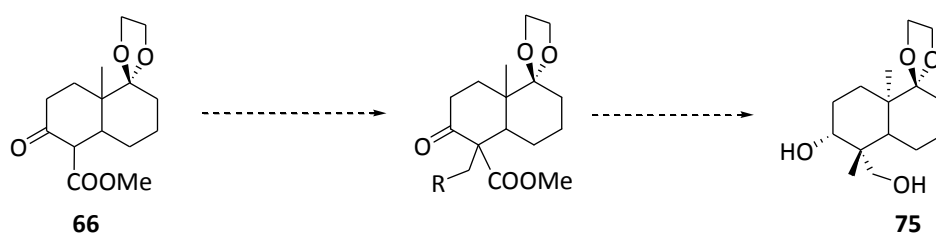
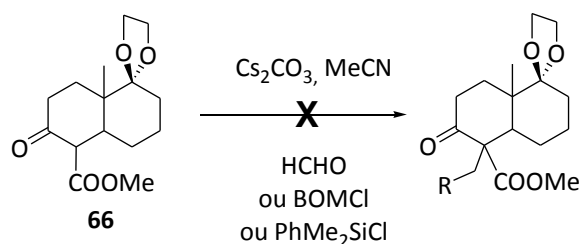


Schéma 64 : Troisième approche pour la fonctionnalisation du cycle A

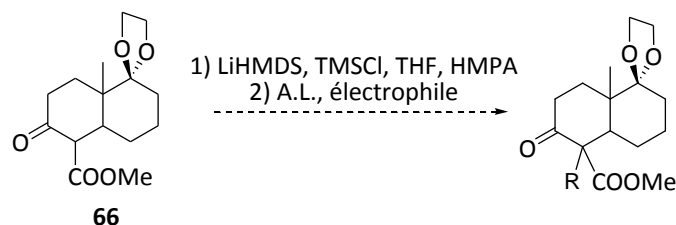
Cette chaîne permettrait d'obtenir le méthyle en position souhaitée soit à partir de l'ester soit à partir de l'hydroxyméthyle, selon la configuration du composé alkylé. Chacune des deux fonctions peuvent en effet fournir le méthyle désiré, et ce, de manière orthogonale.

- Préparation d'un composé hydroxyméthylé

La méthode préalablement utilisée pour la méthylation en présence de Cs_2CO_3 et divers électrophiles (HCHO , BOMCl , $\text{ClCH}_2\text{SiPhMe}_2$) ne permet pas d'obtenir le composé d'intérêt (Schéma 65). Le composé de départ non réagi est totalement récupéré.



Nous avons donc cherché à modifier les conditions réactionnelles dans le but d'obtenir une autre fonctionnalisation du C_4 . L'éther d'énol silylé est préparé afin de réaliser la substitution en utilisant un acide de Lewis (Schéma 66).



Une méthylation avec du triflate de scandium¹³⁶ et du iodométhane est mise en œuvre afin d'obtenir le composé **68**. Cependant, seul le cétoester **66** est récupéré avec 51% de rendement.

L'hydroxyméthylation a, quant à elle, été réalisée avec le formaldéhyde aqueux pour conduire au composé **72** avec 52% de rendement (Schéma 67).

¹³⁶ Smith III, A.B.; Kürti, L.; Davulvu, A.H.; Cho, Y.S. *Organic Process Research & Development* **2007**, *11*, 19-24

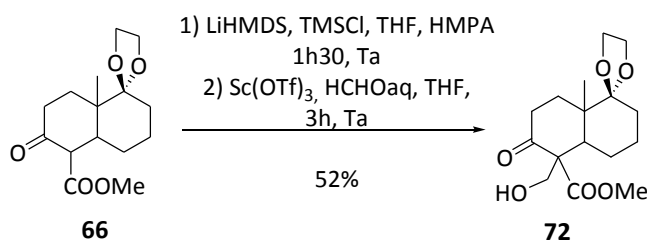


Schéma 67 : Préparation du composé hydroxyméthylé

Le composé **72** a été soumis à une expérience nOe en RMN ¹H et a permis d'aboutir à la stéréochimie relative présentée Figure 71.

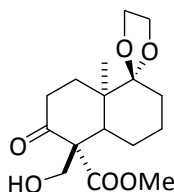


Figure 71 : Stéréochimie relative du composé **72**

En s'appuyant sur ce résultat, la synthèse est poursuivie. Dans ce cas, la chaîne hydroxyméthyle est le précurseur du méthyle du composé naturel : la désoxygénation de ce résidu **72** est alors mise en œuvre.

3.2.2.3. Réductions finales

- Désoxygénation de l'hydroxyméthyle

L'hydroxyméthyle subit une désoxygénation réductrice en deux étapes :^{137,138} la méthylation de l'alcool primaire suivie d'une désoxygénation par réaction avec LiAlH₄.

L'alcool **72** est méthylié dans des conditions classiques (Schéma 68), et nous obtenons un mélange inséparable de composés **73** et **65** dans un rapport 1:3 déterminé par RMN du proton (Figure 72). De nouveau, les substituants en position C4 sont éliminés. Les mêmes

¹³⁷ Vrielynck, F.A.; De Clercq, P.J. *Molecules*, **2007**, *12*, 237-244

¹³⁸ Yang, Y.-R.; Li, W.-D.Z. *J.Org.Chem.*, **2005**, *70*, 8224-8227

résultats ont été obtenus en utilisant Et_3N dans le CH_2Cl_2 , en lieu et place de la pyridine, ainsi qu'en réduisant la température.

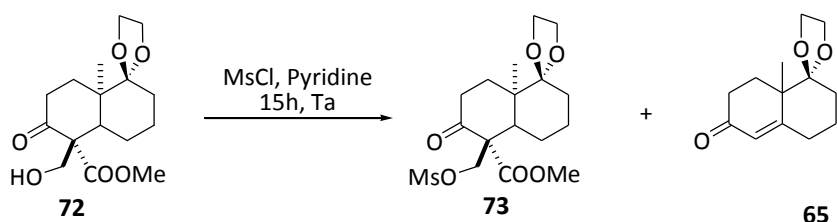


Schéma 68 : Méthylation de l'alcool 72

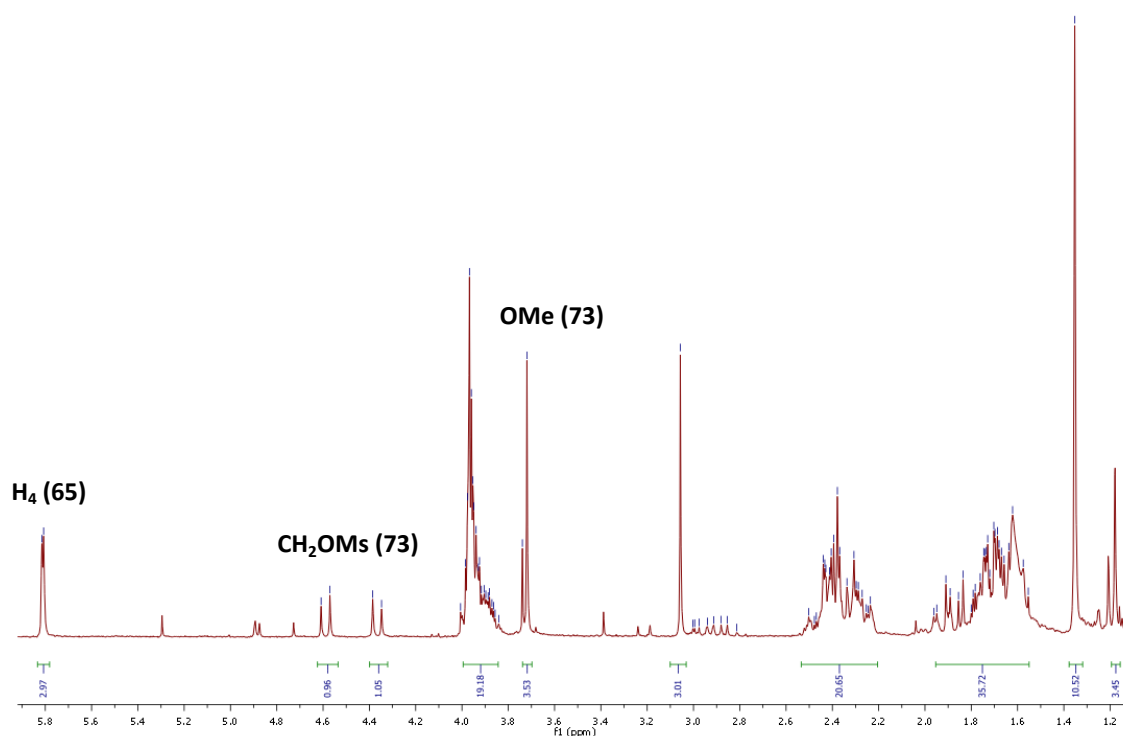


Figure 72 : Spectre RMN ^1H du mélange obtenu

Le mécanisme impliqué passe sûrement par la formation du composé **66**, qui subit une décarboxylation finale. L'acidité des hydrogènes du CH_3 du mésyle pourrait entraîner une déprotonation par la base faible présente dans le milieu.

Suite aux résultats obtenus et la fin de ces travaux approchant, nous avons décidé de poursuivre la fonctionnalisation du cycle A sur le composé **68** possédant la configuration inverse de celle du produit naturel, de manière à obtenir son diastéréoisomère et à valider les dernières étapes de réduction.

- Finalisation de la fonctionnalisation du cycle A sur le composé 68

Afin de terminer la fonctionnalisation du cycle A à partir du composé **68**, les deux carbonyles doivent être réduits, la réduction de la position C₃ devant être stéréo-sélective.

Dans le but de minimiser le coût et le nombre des réactifs à utiliser, la réduction de la position C₃ avec du NaBH₄ est étudiée. La configuration souhaitée étant un alcool équatorial, la réduction pourrait mener automatiquement au composé le plus stable. Malheureusement, nous avons pu observer la formation des deux alcools **74**, séparables, en mélange 1:1.

Une réduction de Luche nous a permis d'obtenir **74** par attaque sélective de l'hydrure en position axiale,^{139,140} l'alcool désiré qui est engagé dans une réduction au DiBAIH pour donner le diol **75** (Schéma 69).

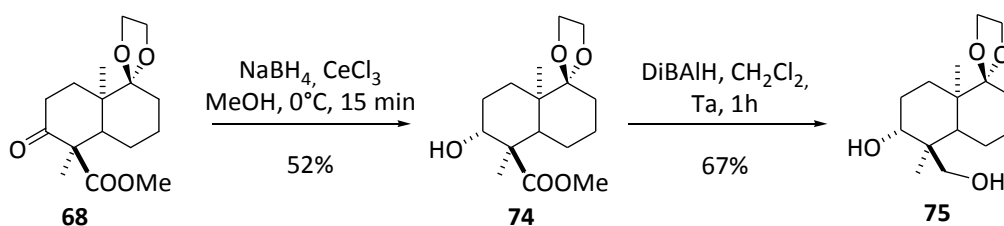


Schéma 69 : Fin de la fonctionnalisation du cycle A

3.2.2.4. Bilan de la fonctionnalisation du cycle A

Les voies explorées en version racémique ont permis d'obtenir le composé **75** correctement fonctionnalisé, avec la configuration du C₄ inverse de celle du produit naturel. Ce diol est obtenu avec 12% de rendement global sur cinq étapes.

Malgré ce problème de configuration, plusieurs points positifs peuvent être mis en évidence :

¹³⁹ Luche, J.L. *J.Am.Chem.Soc.* **1978**, *100*, 2226-2227

¹⁴⁰ Hart, D.J.; Li, J.; Wu, W.-L.; Kozikowski, A.P. *J.Org.Chem.* **1997**, *62*, 5023-5033

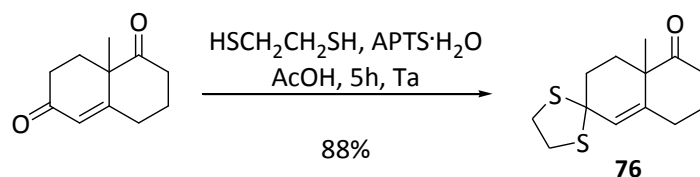


Schéma 71 : Protection du carbonyle en C₃

Suivant le schéma rétro-synthétique ci-dessous, la fonctionnalisation du cycle B devrait aboutir à la préparation du composé **XII**, celui-ci pouvant être issu du composé **XIII** suite à un réarrangement sigmatropique [3,3] de type Claisen¹⁴² (Schéma 72).

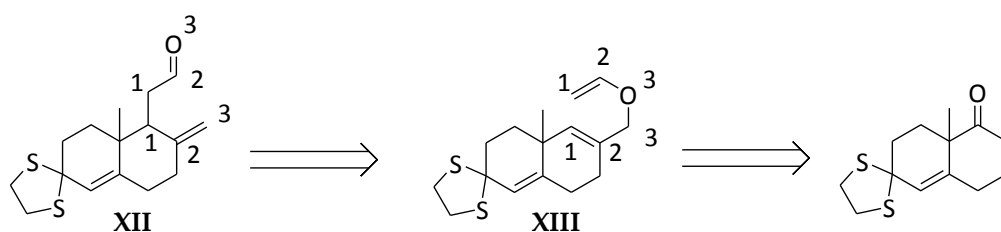


Schéma 72 : Schéma rétro-synthétique pour la préparation du composé XII

L'état de transition de type chaise de l'étape clé du réarrangement permettrait d'obtenir un composé de type **XII** avec la configuration α désirée pour la chaîne portée par le C₉, comme indiqué Figure 73.

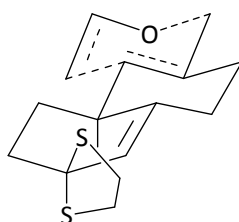


Figure 73 : Etat de transition du réarrangement de Claisen

Dans un premier temps, la fonctionnalisation du cycle B est étudiée *via* un réarrangement de Claisen.

¹⁴² Castro, A.M.M. *Chem.Rev.* **2004**, 104, 2939-3002

3.2.3.1. Fonctionnalisation du cycle B par réarrangement de Claisen

- Alkylation de la position 8

La première étape est l'introduction d'un électrophile en α du carbonyle. L'introduction d'un ester pourrait conduire, après réduction, à l'alcool primaire correspondant.

L'alkylation est réalisée dans des conditions classiques, par formation de l'énolate puis addition de méthylcyanoformate en tant qu'électrophile. Un mélange des composés **77** et **78** est obtenu lors du premier essai en présence de LDA (Schéma 73).

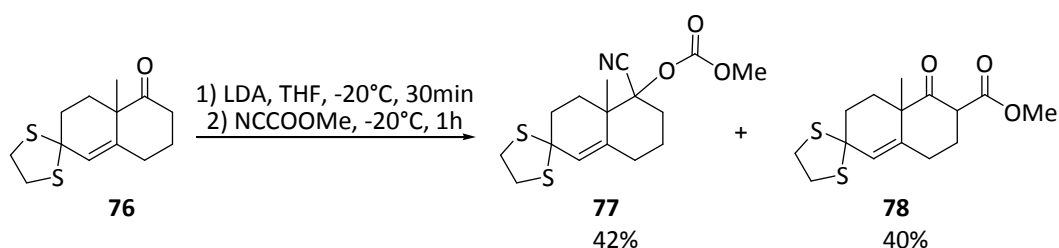


Schéma 73 : Tentative d'alkylation du C₈

Le produit secondaire **77** résulte de l'attaque nucléophile du nitrile sur le composé **76**, suivie de l'acylation de l'alcoolate ainsi formé.

Afin de favoriser la C-alkylation en C₈ plutôt que l'attaque nucléophile sur le carbonyle, l'optimisation de la réaction est étudiée en utilisant une autre base (NaH) ou d'autres électrophiles (ClCOOMe, (MeO)₂CO) et en faisant varier la température.

Le NaH ne semble pas déprotoner en position C₈, dans les conditions expérimentales étudiées. Le LDA conduit au produit secondaire **77** si le temps de formation de l'énolate est trop long. De plus, l'utilisation d'autres électrophiles n'a rien apporté.

Le composé dicarbonylé est néanmoins obtenu, mais avec un rendement peu satisfaisant. De plus, la réaction n'est pas reproductible en termes de rendements et de produits secondaires selon l'échelle à laquelle elle est réalisée.

Les conditions optimales ont été obtenues par un traitement à l'aide de KH^{143} dans le THF et le diméthylcarbonate permet d'obtenir le β -cétol 78 sous forme énolique, et ce, avec un très bon rendement (Schéma 74).

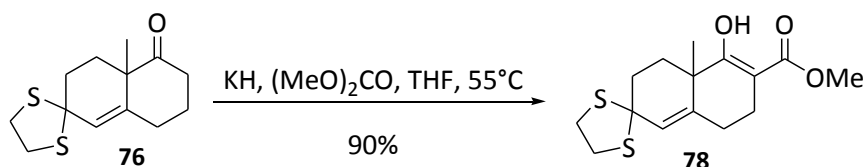


Schéma 74 : Conditions optimales de préparation du composé 78

- Préparation de l'alcool allylique

La suite de la synthèse est réalisée en s'inspirant des travaux de S. Kobayashi *et al.* (Schéma 75).¹⁴³ Un traitement avec du NaBH_4 dans le méthanol réduit la cétone sous forme d'énol. L'alcool 80 est activé sous forme de mésylate afin de faciliter son élimination en présence de DBU pour obtenir l'ester insaturé 81. Celui-ci est alors réduit par traitement au DibalH et l'alcool allylique 82 est obtenu avec un rendement de 52% sur l'ensemble de ces quatre étapes.

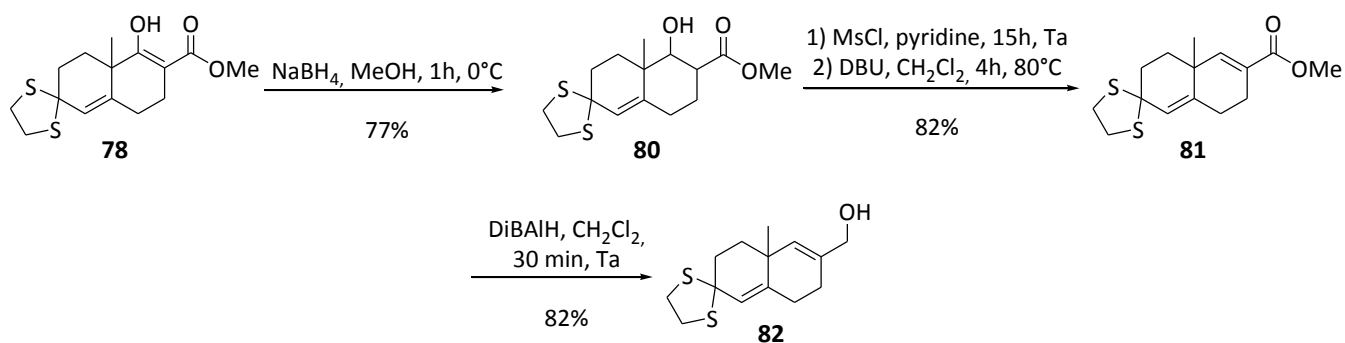


Schéma 75 : Préparation de l'alcool allylique

¹⁴³ Nakazaki, A.; Era, T.; Numada, Y.; Kobayashi, S. *Tetrahedron*, **2006**, 62, 6264-6271

- Préparation de l'éther vinylique

La préparation de l'éther vinylique à partir de l'alcool **82** a été envisagée afin d'obtenir le précurseur **83** de l'étape de réarrangement de Claisen (Schéma 76).¹⁴²

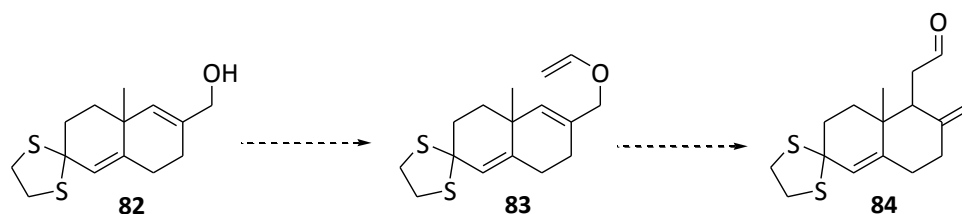


Schéma 76

La formation de l'éther nécessaire au réarrangement est habituellement réalisée par transéthérification dans un solvant du type éthyle vinyle éther, au reflux en présence de mercure ou de palladium.^{144,145} Cette manipulation ne permettant pas à la réaction de se faire, le solvant est remplacé par du butyle vinyle éther dont le point d'ébullition est plus élevé (94 °C). La transéthérification est catalysée par un métal de type Pd^{II} ou Hg^{II}.^{146,147} Vu la nocivité de l'utilisation du mercure, la réaction est d'abord tentée en présence de Pd(OAc)₂. Cependant, seul le composé de départ est récupéré quantitativement.

Un traitement au Hg(OCOFCF₃)₂ a fourni l'éther **83** avec 49% de rendement. Au cours de cette réaction, il se forme un produit secondaire, dont l'analyse en RMN du proton permet de dire qu'il s'agit vraisemblablement d'un aldéhyde, qui pourrait être l'aldéhyde **84** issu du réarrangement de Claisen. Cependant, l'identification n'est pas certaine puisque le composé en question est instable à température ambiante et seul l'éther **83** est isolé.

La littérature rapporte la possibilité de réaliser un réarrangement de Claisen à température ambiante, par une catalyse au palladium ou au mercure,¹⁴⁸ ce qui expliquerait la formation de l'aldéhyde dans les conditions expérimentales de formation de son précurseur, malgré la température inhabituellement faible que nous avons mise en œuvre (84°C) pour ce type de réaction.

¹⁴⁴ Watanabe, W.H.; Conlon, L.E. *J.Am.Chem.Soc.* **1957**, *79*, 2828-2833

¹⁴⁵ Burgstahler, A.W.; Nordin, I.C. *J.Am.Chem.Soc.* **1961**, *83*, 198-206

¹⁴⁶ Bosch, M.; Schlaf, M. *J.Org.Chem.* **2003**, *68*, 5225-5227

¹⁴⁷ Paquette, L.A.; Wang, T.-Z.; Philippo, C.M.G.; Wang, S. *J.Am.Chem.Soc.* **1994**, *116*, 3367-3374

¹⁴⁸ Overman, L.E. *Angew.Chem.Int.Ed.Engl.* **1984**, *23*, 579-586

L'aldéhyde étant instable, nous avons tenté de l'engager directement dans une réaction d'addition d'énolate. Cependant, la réaction a conduit à l'alcool **82** (Schéma 75, p128) produit de fragmentation.

La réduction de l'aldéhyde **84** obtenu après traitement conduit aussi à la formation du composé **82**.

Il a été rapporté que de longs temps réactionnels (supérieur à 5h) favorisent l'apparition de produits de fragmentation de l'éther vinylique. Ceux-ci résultent soit de la compétition avec le réarrangement si celui-ci se fait trop lentement, soit d'une hydrolyse du catalyseur.¹⁴⁹ Ainsi, au sein de la même réaction de transéthérification, nous avons pu observer le réarrangement sigmatropique désiré, le réarrangement de type rétro-Claisen (après retour à température ambiante) et la fragmentation de l'éther **83** pour redonner l'alcool allylique **82**.

Nous avons alors tenté de piéger l'aldéhyde *in situ* par un traitement au NaBH₄ afin d'obtenir l'alcool **85** (Schéma 77), cette réaction ne mène qu'à de la dégradation.

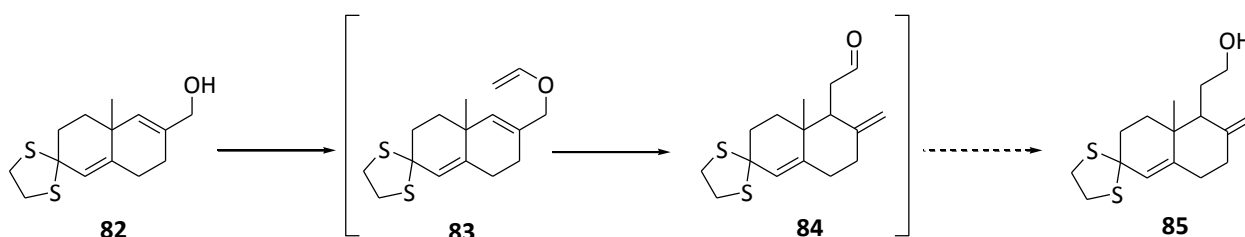


Schéma 77

Devant l'échec de cette première approche, un réarrangement de type Claisen-Ireland a été envisagé.¹⁵⁰ L'acétate allylique **86** a été préparé et engagé dans la formation de l'éther d'énol silylé correspondant afin d'obtenir le composé **87** spontanément dans le milieu réactionnel (Schéma 78).¹⁵¹

¹⁴⁹ Van der Baan, J.L.; Bickelhaupt, F. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 6267-6270

¹⁵⁰ Ireland, R.E.; Mueller, R.H. *J.Am.Chem.Soc.* **1972**, 94, 5897-5898

¹⁵¹ Probst, N.P.; Haudrechy, A.; Plé, K. *J.Org.Chem.* **2008**, 73, 4338-4341

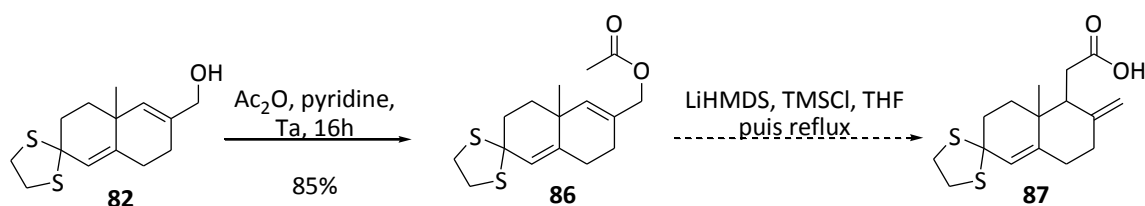


Schéma 78 : Réarrangement de Claisen-Ireland

Le réarrangement n'a pas abouti, seul le composé fragmenté **82** est isolé de manière quantitative.

D'autre part, l'éther **83** est engagé dans un réarrangement soit avec du $\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2$,¹⁴⁹ soit par chauffage dans un mélange MeOH/H₂O 2/5.¹⁵² Dans les deux cas, nous avons obtenu uniquement de la fragmentation.

L'alcool allylique **82** est traité par du triéthyle orthoacétate, afin d'obtenir directement l'ester **88**.¹⁵³ La réaction dans l'acide propionique ne permet pas d'obtenir le composé désiré (Schéma 79).

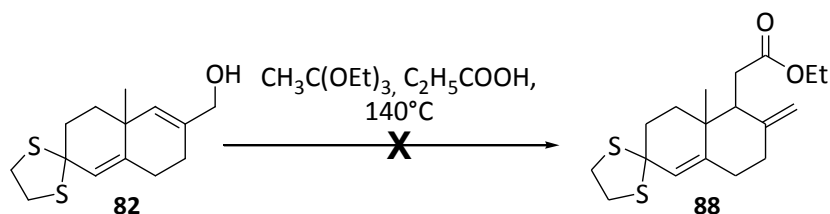


Schéma 79 : Préparation de l'ester **88**

D'après la littérature, d'autres alternatives auraient pu être testées.^{154,155}

Cependant, devant ces échecs, nous avons décidé de modifier la voie de synthèse pour la fonctionnalisation du cycle B.

¹⁵² Grieco, P.A.; Brandes, E.B.; McCann, S.; Clark, J.D. *J.Org.Chem.* **1989**, *54*, 5849-5851

¹⁵³ Baraldi, P.G.; Barco, A.; Benetti, S.; Pollini, G.P.; Polo, E.; Simoni, D. *J.Org. Chem.* **1985**, *50*, 23-29

¹⁵⁴ Oguchi, T.; Watanabe, K.; Abe, H.; Katoh, T. *Heterocycles* **2010**, *80*, 229-250

¹⁵⁵ Leclercq, C.; Markó, I.E. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7229-7233

3.2.3.2. Fonctionnalisation du cycle B par allongement de la chaîne en C₉

Afin de préparer le composé **XII** (Schéma 80), la cétone de Wieland-Miescher protégée **76** pourrait être substituée sur la position C₈, l'allongement de la chaîne en C₉ pourrait être réalisé par oléfination de type Wittig et mènerait au composé **XIV**. Après diverses manipulations de groupes fonctionnels, l'aldéhyde serait obtenu de manière à accueillir la lactone.

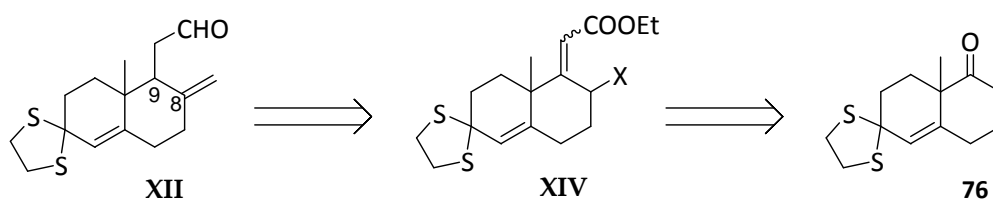


Schéma 80 : Schéma rétrosynthétique

Afin d'étudier la viabilité de cette approche, et notamment la séquence oléfination, réduction de la double liaison et réduction de l'ester, nous avons dans un premier temps réalisé la synthèse sur un composé modèle ne possédant pas de substituants en C₈.

- Allongement de la chaîne sur le bicyclic non substitué en position 8

Le composé **76** est engagé dans une oléfination de Horner-Emmons avec le triéthylphosphonoacétate afin de substituer la position C₉ (Schéma 81). L'ester **89** est isolé avec 78% de rendement d'un mélange *cis-trans*, les deux isomères étant en équilibre. Différents essais de réduction régio- et stéréo-sélective de la double liaison sont donc effectués.

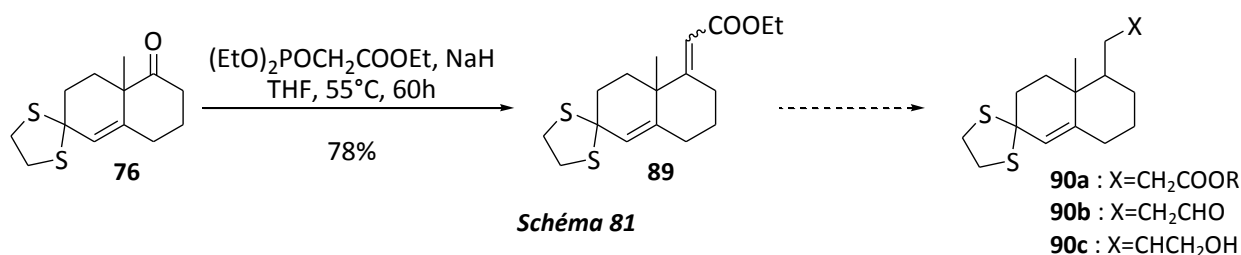


Schéma 81

De la même manière que précédemment, la stéréochimie *cis* des positions C₉ et C₁₀ pourrait être favorisée par la position équatoriale de la chaîne en C₉ après réduction.

Un protocole classique de réduction à l'aide de LiAlH₄ (1 éq.) dans le THF à reflux¹⁵⁶ conduit à un mélange d'aldéhyde **90b** (17%) et d'alcool allylique **91** (52%) (Schéma 82).

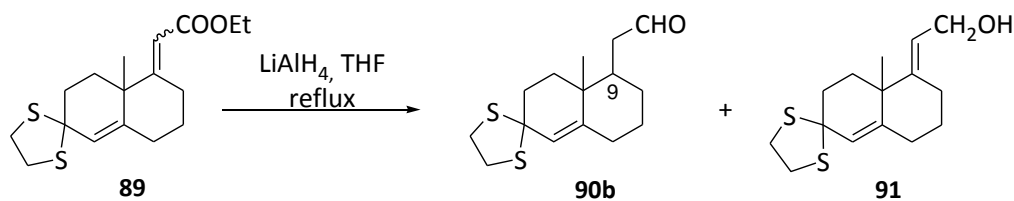


Schéma 82 : Réduction de l'ester 89 au LiAlH₄

Le Tableau 15 compile les différentes méthodes mises en œuvre.

Entrée	Réducteur	Solvant	Température	Résultat
1	LiAlH ₄	THF	65°C	17% 90b , 52% 91
2	LiAlH ₄	Toluène	110°C	72% 91
3	LiAlH ₄ , CuI	Toluène	Ta	89
4	LiAlH ₄ , CoCl ₂	Toluène	Ta	89
5	DibalH, MeCu, HMPA	THF	-50°C à Ta	89
6	LN	THF	-50°C à Ta	89
7	NBu ₄ NBH ₄	Toluène	95°C	89
8	[(Ph ₃ P)CuH] ₆	H ₂ O, THF	Ta	89
9	H ₂ , Pd/C	EtOH	Ta	89

Tableau 15 : Conditions opératoires testées pour la réduction de la double liaison

Le changement de solvant par du toluène n'a pas permis d'améliorer les résultats (Entrée 2).¹⁵⁷ Au contraire, dans ce cas, seul l'alcool allylique est obtenu. L'utilisation de co-facteurs métalliques tels que les sels de cuivre, de titane, de mercure¹⁵⁸ ou de cobalt¹⁵⁹ favoriserait

¹⁵⁶ Gammil, R.B.; Bell, L.T.; Nash, S.A. *J.Org.Chem.* **1984**, *49*, 3039

¹⁵⁷ D'Incan, E.; Loupy, A. *Tetrahedron* **1981**, *37*, 1171-1179

¹⁵⁸ Ashby, E.C.; Lin, J.-J.; Kovar, R. *J.Org.Chem.* **1976**, *41*, 1939-1943

¹⁵⁹ Ashby, E.C.; Lin, J.-J. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 4481-4484

dans certains cas l'attaque [1,4] de carbonyles insaturés. Mais ici, l'addition de CuI (Entrée 3) et de CoCl₂ (Entrée 4) a conduit à la récupération totale du composé de départ.

Le changement du LiAlH₄ par le DibalH (Entrée 5) en présence de cuivre¹⁶⁰ ne permet pas d'obtenir un composé réduit. L'utilisation du naphthalénure de lithium donne les mêmes résultats.

D'autres agents réducteurs tels que NBu₄BH₄,¹⁵⁷ [(Ph₃P)CuH]₆,^{161,162,163} ou H₂, Pd/C¹⁶⁴ sont inactifs (Entrées 7-9).

L'encombrement du C₉ rend difficile l'approche du réducteur empêchant la réduction de la double liaison. Afin de contourner le problème généré par l'encombrement stérique, nous avons réalisé une réduction radicalaire par un traitement avec du magnésium dans le MeOH.¹⁶⁵ L'ester méthylique saturé **90a** (R = Me) a été isolé avec 94% de rendement.

L'analyse nOe de ce composé a permis de mettre en évidence la configuration relative *cis* du méthyle angulaire et de la chaîne insérée. Cette stéréochimie correspond à la celle désirée pour la synthèse de l'andrographolide (Figure 74).

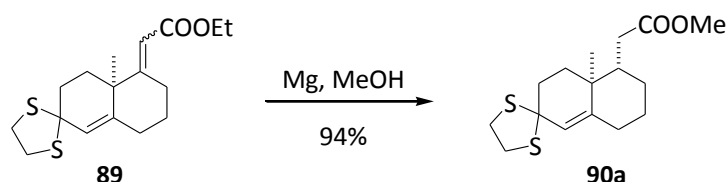


Figure 74 : Réduction de **89** et stéréochimie relative du composé **90a**

L'allongement de la chaîne en C₉ étant mis au point, l'objectif suivant englobe la fonctionnalisation de la position C₈, en essayant d'introduire un groupement précurseur de l'exo-méthylène final.

¹⁶⁰ Gless Jr., R.D. *Synth.Comm.* **1986**, *16*, 639-643

¹⁶¹ Mahoney, W.S.; Bretensky, D.M.; Stryker, J.M. *J.Am.Chem.Soc.* **1988**, *110*, 291-293

¹⁶² Bretensky, D.M.; Stryker, J.M. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 5677-5680

¹⁶³ Koenig, T.M.; Daeuble, J.F.; Bretensky, D.M.; Stryker, J.M. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 3237-3240

¹⁶⁴ Sauer, A.M.; Crowe, W.E.; Henderson, G.; Laine, R.A. *Synlett* **2010**, 445-448

¹⁶⁵ Profitt, J.A.; Watt, D.S.; Corey, E.J. *J.Org.Chem.* **1975**, *40*, 127-128

- Substitution de la position 8

Différents substituants en position C₈ peuvent être insérés sur la cétone de Wieland-Miescher convenablement protégé **76**. Un hydroxyle pourrait par exemple facilement conduire à une double liaison exocyclique par oxydation suivie d'une oléfination.

Une oxydation de la position C₈ permettrait d'obtenir l' α -hydroxycétone **92** (Schéma 83).

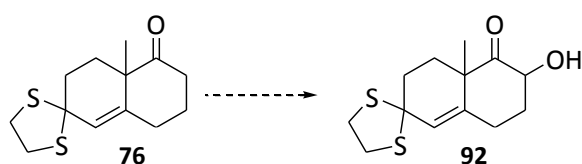


Schéma 83

D'après C. Zhu *et al.*,¹⁶⁶ le composé hydroxylé pourrait être obtenu en trois étapes : formation de l'éther d'énol silylé, époxydation de la double liaison formée entre C₈ et C₉, puis coupure du TMS (Schéma 84).

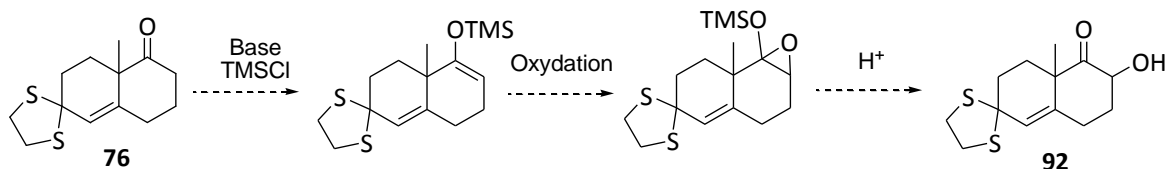


Schéma 84

Malheureusement, cette synthèse implique l'utilisation d'un oxydant (*m*CPBA, NBS ou SeO₂) pour l'époxydation, ce qui n'est pas compatible avec la protection par un dithioacétale.

L'introduction d'un aminométhyle pour l'élimination finale et l'obtention du méthylène exocyclique (Schéma 85) a échoué, seul le substrat de départ est récupéré.¹⁶⁷

¹⁶⁶ Zhu, C.; Tang, P.; Yu, B. *J.Am.Chem.Soc.* **2008**, *130*, 5872-5873

¹⁶⁷ Porzelle, A.; Williams, C.M. *Synthesis* **2006**, *18*, 3025-3030

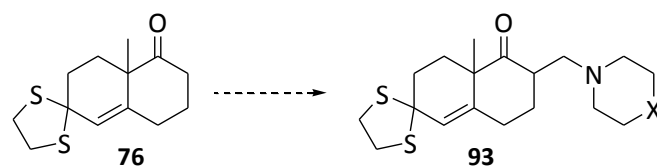


Schéma 85

Plusieurs tentatives d'hydroxyméthylation (KH/HCHO, KH/BOMCl, Proline/HCHO...) ont été effectuées sur le modèle de la formation du cétoester **78**. Dans tous les cas, seul le composé de départ a été récupéré quantitativement.

Le composé dicarboxylé **78** pourrait conduire au cétoal **94** par différents moyens, soit une séquence de protection du C₉/réduction de l'ester/déprotection, soit une séquence réduction/oxydation sélective C₉ (Schéma 86).

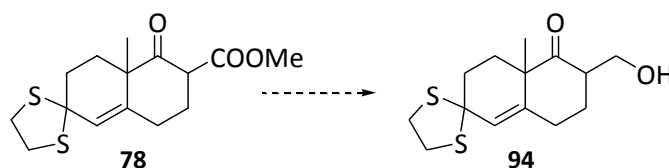


Schéma 86

Cette dernière est réalisée par traitement du composé **78** au LiAlH₄ de manière à obtenir le diol correspondant. Seul le produit d'élimination **95** est obtenu avec 48% de rendement (Schéma 87).

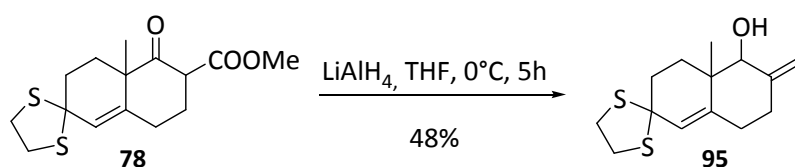


Schéma 87 : Réduction du composé dicarboxylé

D'après N.M. Yoon et H.C. Brown,¹⁶⁸ cette élimination est due à la complexation du métal sur le composé dicarbonylé. Elle peut se produire avec le LiAlH_4 ou le DibalH et pourrait être évitée avec AlH_3 , mais cela n'a pas été le cas avec le composé **78**, et nous avons aussi obtenu le composé éliminé.

Bien que surprenante, cette élimination nous a permis d'obtenir la liaison exocyclique désirée. Le composé **95** est donc engagé dans une réaction d'oxydation avec du periodinane de Dess-Martin, à 0°C , en 20 min afin d'éviter le clivage du dithiane. Malheureusement, une isomérisation de la double liaison exocyclique est observée, probablement due à la libération de 2 éq. d'acide acétique. Un mélange inséparable de **96a** et **96b** en proportion variable est observé (Schéma 88).

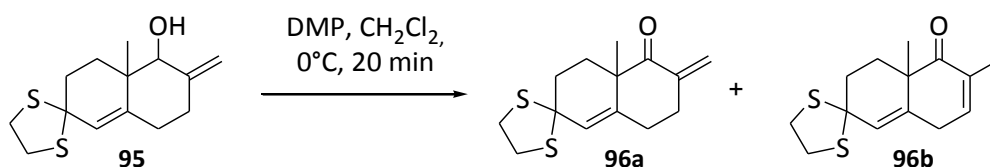


Schéma 88 : Oxydation de l'alcool **95**

D'autres conditions d'oxydation sont mises en œuvre en utilisant de l'IBX, qui ne conduisent qu'à une conversion de 47% en 48h. Le periodinane de Dess-Martin est alors utilisé en milieu tamponné par de la pyridine (10éq.) ce qui suffit à neutraliser l'acide acétique formé au cours de la réaction, et à obtenir le composé carbonylé **96a** avec 70% de rendement.

- Oléfination du carbonyle insaturé

Le composé **96a** est engagé dans la réaction d'oléfination de Horner-Emmons comme décrit précédemment, afin d'obtenir l'ester **97** correspondant (Schéma 89). Mais seul le composé isomérisé **96b** est isolé quantitativement.

¹⁶⁸ Yoon, N.M.; Brown, H.C. *J.Am.Chem.Soc.* **1968**, *90*, 2927-2938

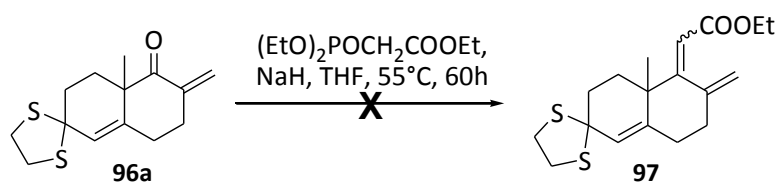


Schéma 89 : Tentative d'oléfination du composé 96a

- Préparation du céto

Au vu des résultats précédents, nous avons envisagé l'autre voie d'accès au céto (protection du C₉/réduction/déprotection). Les tentatives de formation d'acétal ou d'éther d'énol silylé sur le carbonyle du composé **78** n'ont pas abouti. D'autre part, les réactions avec l'éthylène glycol, le TBDMSCl et le TESCl ne donnent que du composé de départ. Le manque de stabilité de l'éther d'énol triméthylsilylé ne permet pas de poursuivre la synthèse. La séquence protection/réduction est donc réalisée en un pot et le céto **94** est obtenu avec 49% de rendement (Schéma 90).

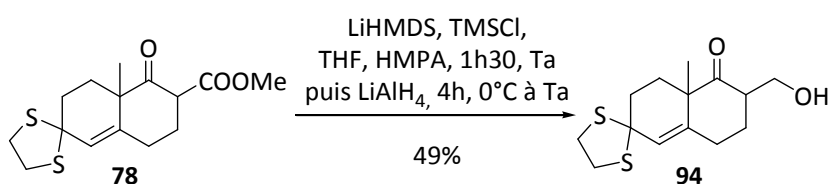


Schéma 90 : Préparation du céto 94

- Oléfination d'Horner-Wadsworth-Emmons du céto protégé

Une protection du céto **94** permet de mettre en œuvre la réaction de Horner-Emmons. Le composé chloroacétylé **98** est préparé avec 67% de rendement puis il est engagé dans la réaction d'oléfination sans succès, seul le composé déprotégé **94** est visualisé (Schéma 91).

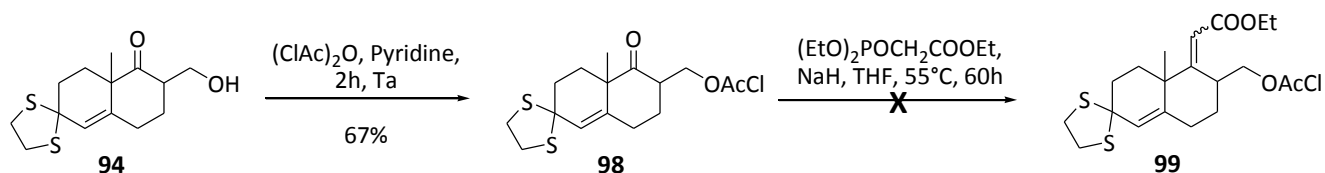


Schéma 91

Le cétole est alors protégé sous forme d'éther de triéthylsilyle **100** puis engagé dans la réaction d'oléfine, sans succès (Schéma 92).

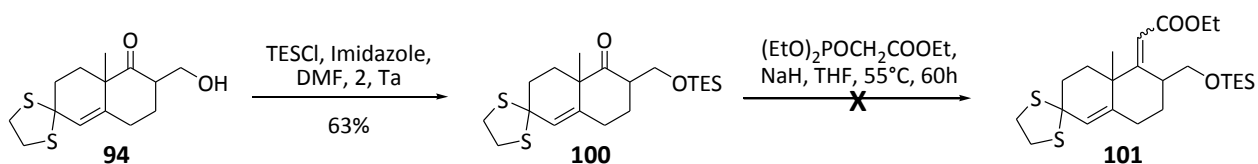


Schéma 92

La réaction d'Horner-Emmons est connue pour être très dépendante de l'encombrement stérique,¹⁶⁹ ce qui pourrait expliquer le manque de réactivité des composés **98** et **100**. Il existe plusieurs alternatives possibles, notamment les oléfinations de type Peterson¹⁷⁰ ou le réarrangement de Meyer-Schuster.¹⁷¹

Une homologation de la position C₉ a été envisagée, de manière à rendre le carbonyle plus accessible. La réaction de Wittig par un sel de phosphonium est tentée ; en vain. Finalement, un traitement du composé **76** par du triméthylsilyldiazométhane de lithium permet d'accéder à l'aldéhyde **102** avec un rendement de 29% (Schéma 93).¹⁷² Une analyse nOe du spectre RMN ¹H a montré qu'il existait une stéréochimie relative *cis* des positions C₉ et C₁₀.

¹⁶⁹ Maryanoff, B.E.; Reitz, A.B. *Chem.Rev.* **1989**, *89*, 863-927

¹⁷⁰ Peterson, D.J. *J.Org.Chem.* **1968**, *33*, 780-784

¹⁷¹ Meyer, K.H.; Schuster, K. *Chem.Ber.* **1922**, *55*, 819-823

¹⁷² K.Miwa, T.Aoyama, T.Shioiri, *Synlett* **1994**, 109

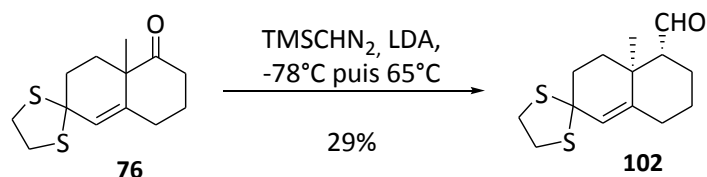


Schéma 93 : Homologation du carbonyle

Cette manipulation permet de montrer que l'homologation est faisable dans ces conditions, sur le modèle sans substitution en position C₈. C'est pourquoi la réaction a été réalisée sur l'éther silylé **100**, mais ne donnant dans ce cas que de la dégradation.

L'oléfination de Peterson sur le composé **100**^{173,174} ne conduit qu'à la désilylation de celui-ci avec 23% de rendement (Schéma 94).

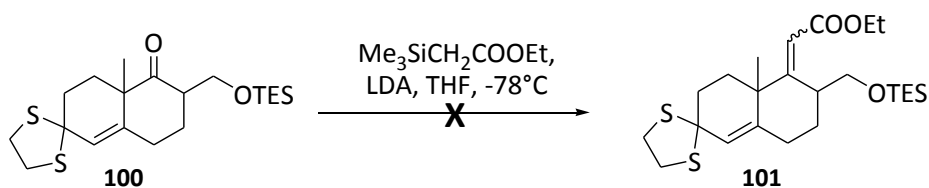


Schéma 94

- Réarrangement de Meyer-Schuster

Une oléfination de type Meyer-Schuster est envisagée afin de pallier les échecs précédents. Cette réaction implique l'addition d'un alcynure sur le carbonyle. L'alcool tertiaire ainsi formé est alors soumis à une catalyse à l'or qui conduit à l'ester insaturé.¹⁷⁵

¹⁷³ Iguchi, M.; Tomioka, K. *Org.Lett.* **2002**, 4, 4329-4331

¹⁷⁴ Yokoe, H.; Sasaki, H.; Yoshimura, T.; Shindo, M.; Yoshida, M.; Shshido, K. *Org.Lett.* **2007**, 9, 969-971

¹⁷⁵ Douglas, A.E.; Dudley, G.B. *Org.Lett.* **2006**, 8, 4027-4029

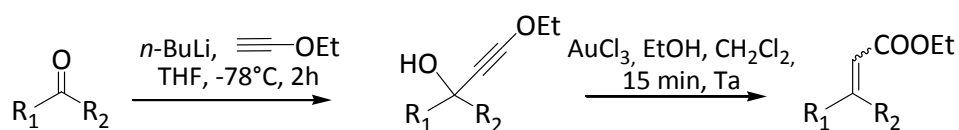


Schéma 95 : Réarrangement de Meyer-Schuster

La réaction est d'abord testée sur le composé **76** non substitué en C₈ conduisant au composé **89** avec un rendement moyen de 41% (Schéma 96).

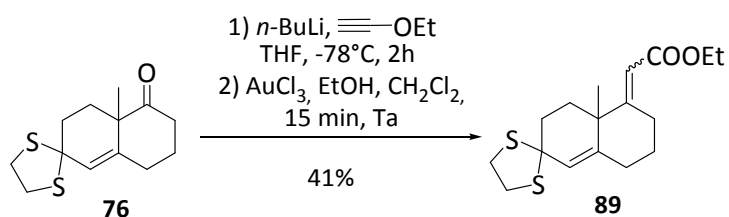


Schéma 96 : Réarrangement de Meyer-Schuster sur le composé **76**

Elle est ensuite réalisée sur l'éther silylé **100**, l'oléfination est bien observée avec un faible rendement. On remarque néanmoins la désilylation de l'ester insaturé conduisant à l'alcool **103**.

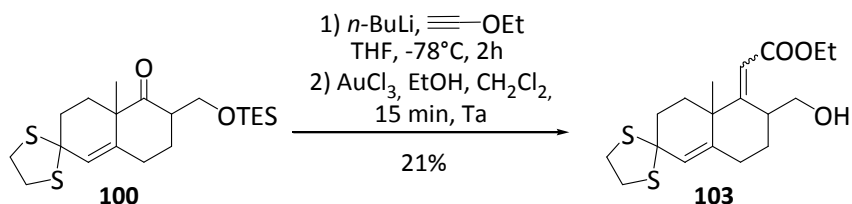


Schéma 97 : Réarrangement de Meyer-Schuster sur le cétoI protégé

Afin d'éviter la déprotection, le composé chloroacétylé **98** (Schéma 91, p139) est engagé, ne menant qu'à de la dégradation. Une tentative de protection du cétoI avec un groupement Fmoc est envisagée, seul le composé de départ est récupéré quantitativement lors de cette tentative de protection. Ce manque de réactivité est probablement dû à l'encombrement stérique.

La diminution de la température réactionnelle à 0°C ou de la quantité de catalyseur ne permet pas d'éviter la désilylation. Dans les deux cas, la réaction est ralentie et la conversion n'est que de 25% environ.

L'étape suivante implique la réduction avec le magnésium et l'utilisation du HCl, il n'est pas judicieux de reprotéger le composé à cette étape. D'autre part, nous avons observé une faible reproductibilité de cette réaction, avec une variation des rendements en fonction de l'échelle de la réaction.

- Addition de la lactone

Afin de terminer la fonctionnalisation du cycle B, l'étude des étapes suivantes a de nouveau été réalisée sans substitution sur le C₈, ce qui permet d'autre part d'obtenir un analogue du composé cible (Schéma 98).

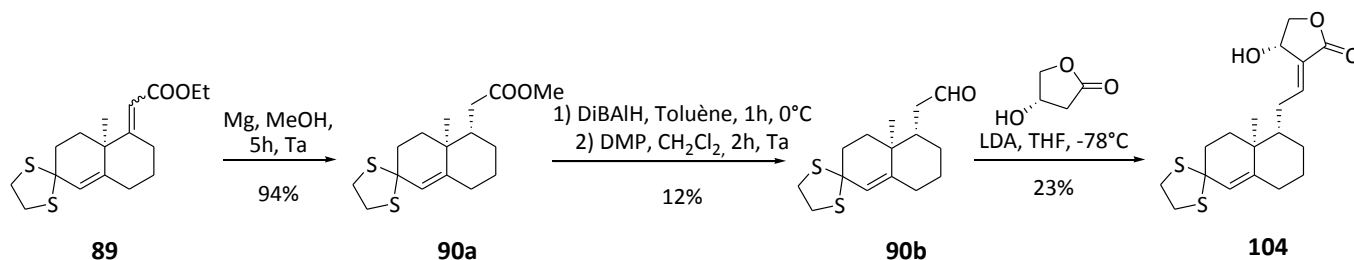


Schéma 98 : Obtention d'un analogue de l'andrographolide

L'ester α,β -insaturé **89** est engagé dans la réduction sélective de la double liaison conjuguée en utilisant du magnésium dans le MeOH. L'ester obtenu est alors réduit au DiBAIH et oxydé avec le periodinane de Dess-Martin pour fournir l'aldéhyde **90b** avec 12% de rendement. Ce faible rendement est probablement dû au manque de stabilité du composé lors du traitement et de la purification.

Pour finir, la butyrolactone est additionnée sous forme de dianion de lithium.¹⁷⁶ Le composé **104** possédant la chaîne désirée en position C₉ a été isolé avec 23% de rendement.

¹⁷⁶ Edmonds, D.J.; Muir, K.W.; Procter, D.J. *J.Org.Chem.* **2003**, *68*, 3190-3198

3.2.3.3. Conclusion sur la fonctionnalisation du cycle B

Les études menées sur le cycle B n'ont pas permis d'aboutir au composé entièrement fonctionnalisé. Il existe des problèmes de stabilité des composés intermédiaires, aboutissant soit à la dégradation des composés soit à de faibles rendements. De plus, à plusieurs reprises, l'encombrement stérique semble mener à une faible réactivité des composés intermédiaires.

L'analogue **104** a été obtenu avec 1% de rendement sur cinq étapes.

Certaines voies n'ont pas pu être testées, notamment l'oxydation de la position C₈ afin d'obtenir une α -hydroxycétone. Elle pourrait être réalisée comme proposé dans le Schéma 84 (p135), par oxydation en α du carbonyle. Enfin, l'ester insaturé obtenu par oléfination de Horner-Wadsworth-Emmons pourrait être utilisé afin de réaliser une oxydation allylique par du SeO₂ (Schéma 99).

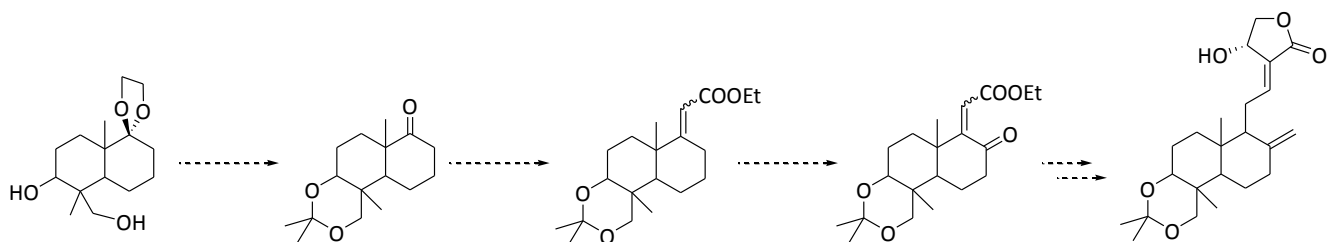


Schéma 99 : Autre voie à tester pour la fonctionnalisation du cycle B

Les études RMN ¹H menées sur ces substrats ont montré qu'il était possible d'introduire une chaîne en C₉, dont la configuration est *cis* par rapport au méthyle angulaire. Ainsi, concernant le cycle B, la stéréochimie de la chaîne latérale est parfaitement contrôlée et seule la fonctionnalisation de la position C₈ nous résiste encore.

Suite aux résultats obtenus pour les fonctionnalisations de chaque cycle, nous avons aussi préparé la cétone de Wieland-Miescher énantio-pure de manière à réaliser en parallèle les premières étapes de la synthèse totale énantio-sélective de notre composé cible.

3.2.4. Préparation de la cétone de Wieland-Miescher énantio-pure

3.2.4.1. Cyclisation de Hajos-Parrish

La préparation par addition aldolique asymétrique intramoléculaire de la cétone de Wieland-Miescher a été largement étudiée de par sa large utilité pour la synthèse totale de nombreux produits naturels (§1.2.4.2, p31).

Cette réaction, connue sous le nom de réaction de Hajos-Parrish-Eder-Sauer-Wiechert (HPESW), comprend en fait trois étapes distinctes : une addition de Michael, une addition aldolique et une déshydratation. L'étape qui permet l'énantiosélectivité de la réaction est l'étape d'addition aldolique qui est effectuée à l'aide d'un auxiliaire chiral. Afin de réaliser la synthèse totale et énantio-sélective de l'andrographolide, nous avons préparé le bicyclic **106** (Schéma 100).

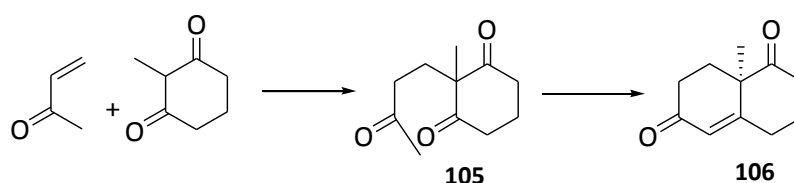


Schéma 100 : Schéma général de cyclisation de Hajos-Parrish

Le produit d'addition de Michael **105** est le résultat de la réaction entre la 2-méthyl-1,3-cyclohexanedione sur la méthylvinylcétone (MVK). Le composé **105** peut alors être engagé dans la cyclisation intramoléculaire par addition aldolique en utilisant un acide aminé. Ils sont connus pour être de bons auxiliaires chiraux de cette étape et impliquent un mécanisme basé sur la formation d'une énamine.⁶¹

D'après la littérature, la cétone de Wieland-Miescher peut être préparée en trois étapes successives⁶³ ou en purifiant le produit d'addition [1,4] avant cyclisation ou encore en une

réaction « one pot ». ^{59,177} La réaction d'addition peut être réalisée en présence ou non d'hydroquinone, ⁵⁹ de manière à éviter la polymérisation de MVK.

- Addition [1,4]

Pour l'addition [1,4], plusieurs conditions opératoires sont décrites. Les solvants (EtOH, DMF, H₂O) ainsi que l'ajout ou non d'hydroquinone sont testés.

Les conditions réactionnelles retenues pour cette réaction sont l'utilisation de l'eau comme solvant et 5éq. d'hydroquinone (Figure 75).

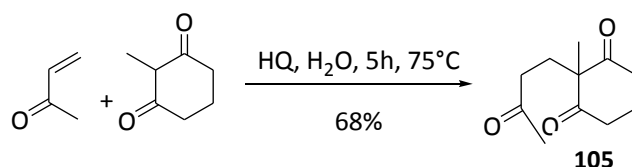


Figure 75 : Préparation de la tricétone **105**

Il est à noter que l'évaporation du solvant et la reprise du résidu ainsi obtenu dans le CH₂Cl₂ conduisent à l'isolation du composé **105** débarrassé de toutes traces d'impuretés.

Le produit d'addition doit être engagé rapidement dans la réaction de cyclisation. En effet, une analyse RMN ¹H de la tricétone **105** préparée depuis plusieurs jours montre la formation de la cétone de Wieland-Miescher de manière racémique.

- Cyclisation énantio-sélective

La cyclisation énantio-sélective de la tricétone est réalisée en utilisant divers auxiliaires chiraux reportés dans la littérature et donnant de bons résultats (*D*-proline, (1*R*,2*S*)-*cis*-pentacine et (1*R*,2*S*)-*cis*-hexacine) (Figure 76).

¹⁷⁷ Akahane, Y.; Inage, N.; Nagamine, T.; Inomata, K.; Endo, Y. *Heterocycles* **2007**, *74*, 637-648

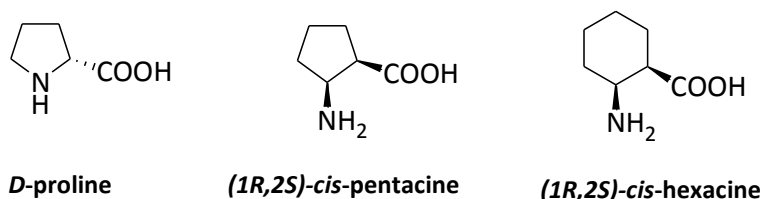


Figure 76

Au moment de la mise au point de cette étape, l'équipe de T. Akiyama¹⁷⁸ a montré qu'en utilisant le (*R*)-TRIP ((11*b-R*)-4-hydroxy-2,6-bis[2,4,6-tris(1-méthyléthyl)phényl]dinaphtho[2,1-d :1',2'-f]-1,3,2-dioxaphosphépin-4-oxyde) comme auxiliaire chiral (Figure 77), il était possible de réaliser cette cyclisation énantio-sélective.

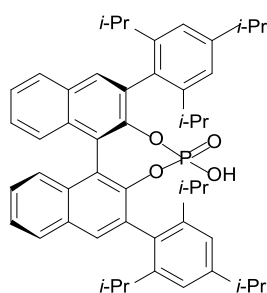


Figure 77 : (*R*)-TRIP

D'après la littérature, l'augmentation de la température réactionnelle entraîne une perte de stéréo-sélectivité,⁶⁴ c'est pourquoi nous avons choisi de conserver un temps réactionnel plus long. L'acétonitrile référencé pour donner de bons résultats⁵⁹ ne nous a pas apporté d'amélioration en termes d'excès énantiomérique.

Les excès énantiomériques ont été évalués par deux méthodes : la chromatographie supercritique sur phase chirale (ChiralPak IA (250x4,6 mm, 5 μm), n-Heptane/EtOH 90/10 (v/v), 1 mL/min, 35°C, détection UV 250 nm,¹⁷⁹ ainsi que la mesure du pouvoir rotatoire.¹⁸⁰

Le Tableau 16 résume les résultats obtenus.

¹⁷⁸ Mori, K.; Katoh, T.; Suzuki, T.; Noji, T.; Yamanaka, M.; Akiyama, T. *Angew.Chem.Int.Ed.* **2009**, *48*, 1-4

¹⁷⁹ Zhang, T.; Kientzy, C.; Franco, P.; Ohnishi, A.; Kagamihara, Y.; Kurosawa, H. *J.Chromatogr.A* **2005**, *1075*, 65-75

¹⁸⁰ Davies, S.G.; Russell, A.J.; Sheppard, R.L. Smith, A.D.; Thomson, J.E. *Org.Biomol.Chem.* **2007**, *5*, 3190-3200

Entrée	Auxiliaire chiral	Quantité	Solvant	T (°C)	T (h)	Rdt %	%ee ^a
1	<i>D</i> -proline	0,3 éq.	DMF	Ta	64	46	75
2	(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)- <i>Cis</i> -pentacine	0,3 éq.	DMF	Ta	64	44	Racémique
3	(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)- <i>Cis</i> -hexacine	0,3 éq.	DMF	Ta	64	41	Racémique
4	<i>D</i> -proline	1 éq.	DMF	Ta	64	33	75
5	<i>D</i> -proline	0,3 éq.	ACN	Ta	64	72	47
6	(<i>R</i>)-TRIP	0,1 éq.	Hexane	70	20	57	73
7	(<i>R</i>)-TRIP	0,3 éq.	DMF	Ta	64	75	88

^a %ee évalués par HPLC chirale

Tableau 16 : Conditions opératoires testées pour la cyclisation de Hajos-Parrish

Ainsi, lors de notre étude, nous avons pu montrer que l'utilisation de la *cis*-pentacine et de la *cis*-hexacine (Entrées 2 et 3) ne donne pas les résultats décrits dans la littérature.¹⁸⁰

Une quantité équimolaire de *D*-Proline (Entrée 4) ne permet pas non plus d'améliorer les résultats, le rendement est meilleur mais il y a une perte d'énantiosélectivité.

Ces résultats montrent que le (*R*)-TRIP¹⁷⁸ est le meilleur auxiliaire chiral (Entrées 6 et 7). De plus, le changement de solvant, dans ce cas, permet d'augmenter l'énantiosélectivité de la réaction et la cétone de Wieland-Miescher **106** est obtenue avec 75% de rendement et 88% d'excès énantiomérique (Figure 78, Schéma 101).

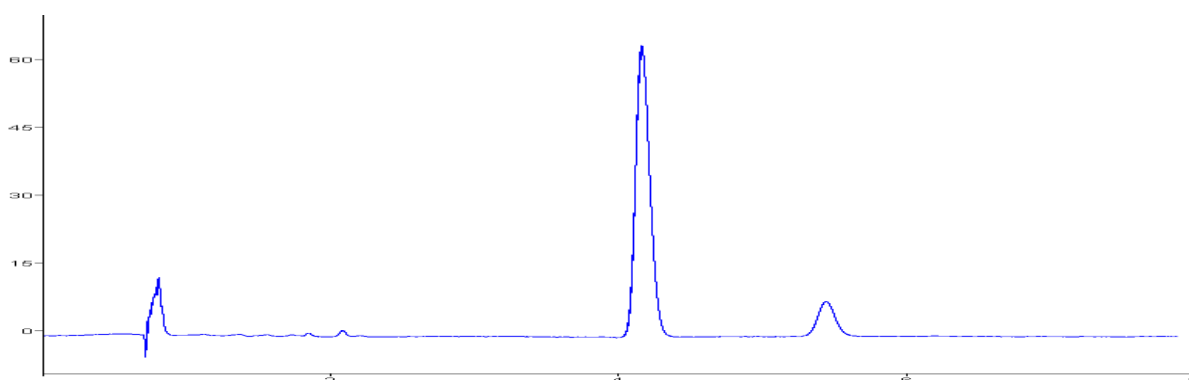


Figure 78 : Chromatogramme de 106 après cyclisation avec la *D*-Proline, 88% ee
ChiralPak IA (250x4,6 mm, 5 μm), *n*-Heptane/EtOH 90/10 (v/v), 1 mL/min, 35°C, détection UV 250 nm

De plus, nous avons pu confirmer rapidement cet excès par la mesure du pouvoir rotatoire. Ce dernier nous donne une estimation à 85%.

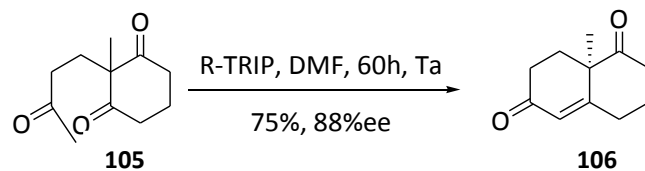


Schéma 101 : Cyclisation de Hajos-Parrish

3.2.4.2. Dédoublage du mélange énantio-enrichi

Afin de poursuivre la synthèse totale et énantio-pure de l'andrographolide, et en se basant sur les études effectuées en série racémique pour la fonctionnalisation des deux cycles, il nous a fallu réaliser un dédoublage du mélange énantio-enrichi de cétone de Wieland-Miescher **106**.

Pour effectuer la séparation à grande échelle, nous avons préparé les diastéréo-isomères correspondant. La fonctionnalisation du cycle A débutant par la protection du carbonyle C₉, l'éthylène glycol est remplacé par du (2*R*,3*R*)-butanediol (Schéma 102).

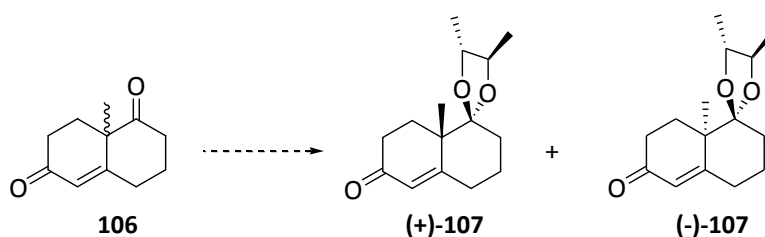


Schéma 102 : Dédoublage du mélange énantio-enrichi

- Protection sélective de la position 9

La protection est d'abord tentée dans les conditions classiques (Toluène, APTS) sans résultat. Seul le composé de départ est isolé quantitativement. Les conditions réactionnelles sont modifiées et le composé **106** est traité par le (2*R*,3*R*)-butanediol dans le diméthoxyéthane

avec du $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$.¹⁸¹ Un mélange de six composés difficilement séparables a été obtenu (Schéma 103).

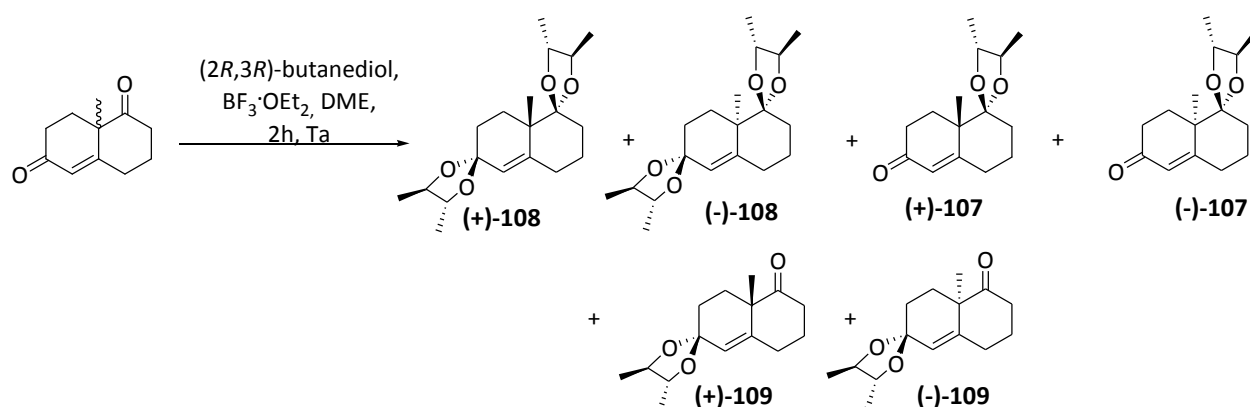


Schéma 103 : Première tentative de formation de diastéréo-isomères

La stéréochimie des composés est alors mise en évidence par déprotection des groupements protecteurs en milieu acide et mesure du pouvoir rotatoire du produit obtenu.

Par exemple, la déprotection du monoacétal **(+)-107** est réalisée par un traitement au PPTS dans l'acétone à reflux. La réaction n'est pas totale mais permet d'analyser le composé déprotégé (Schéma 104).

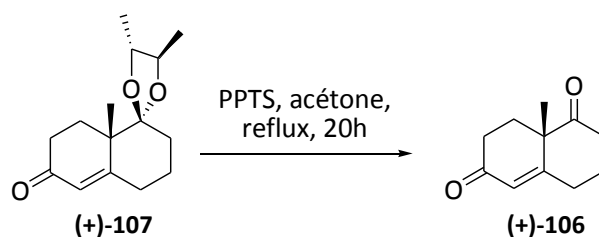


Schéma 104 : Déprotection de l'acétal **(+)-107**

La déprotection du diacétal **(+)-108** est réalisée dans les mêmes conditions et n'est pas totale non plus. Elle permet cependant de mettre en évidence la présence du composé déprotégé sur une seule position **(+)-107**.

Les composés **(+)-109** et **(-)-109** sont obtenus en mélange inséparables.

¹⁸¹ de March, P.; Escoda, M.; Figueredo, M.; Font, J.; Alvarez-Larena, A.; Piniella, J.F. *J.Org.Chem.* **1995**, *60*, 3895-3897

Même en réduisant la quantité de (2*R*,3*R*)-butanediol à 1,1 éq., la formation des quatre produits secondaires n'est pas évitée.

La purification des diacétals étant plus facile par rapport à celle des monoacétals, nous avons tenté de former uniquement les diacétals. Cependant, du monoacétal reste toujours présent, même après addition de réactifs.

Vu les résultats obtenus, nous avons décidé de protéger la position C₃ avec de l'éthane dithiol, puis la position C₉ avec le (2*R*,3*R*)-butanediol.

- Protection du C₃ puis du C₉

Le composé **76** est préparé à partir de la cétone de Wieland-Miescher énantio-enrichie. La protection du carbonyle est réalisée et les diastéréo-isomères sont séparés (Schéma 105).

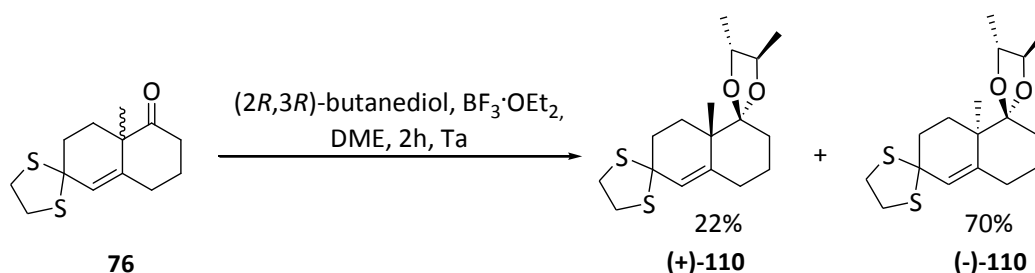


Schéma 105 : Dédoublé par formation de diastéréoisomères

Le composé (-)-**110** est ensuite engagé dans une réaction de déprotection sélective du thioacétal avec du PIFA.¹⁸² Le composé déprotégé (-)-**107** (Schéma 103, p149) a été obtenu quantitativement par un traitement avec HCl aqueux dans le MeOH à reflux.

Il a été utilisé dans la réduction alkylante avec le LN (Schéma 106). Cette réaction a mené qu'à de la dégradation.

¹⁸² Stork, G.; Zhao, K. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 287-290

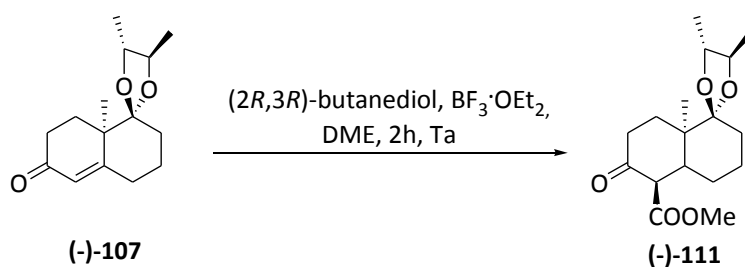


Schéma 106 : Réduction alkylante

Face à ce résultat, nous avons choisi de déprotéger entièrement le composé **(-)-110** afin de préparer le composé **(-)-65** (Schéma 54, p113). Pour la déprotection totale du composé **(-)-110**, il s'est avéré que la déprotection de l'acétal avant celle du thioacétal donnait de meilleurs résultats (Schéma 107).

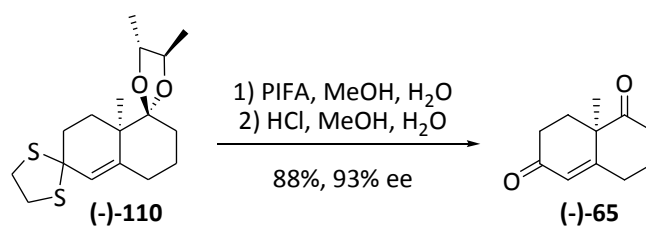


Schéma 107

A partir de ce composé **(-)-65**, la synthèse totale et énantio-sélective semble réalisable en suivant les méthodes mises au point sur les composés racémiques. Ce travail est en cours de finalisation au laboratoire.

Conclusion Générale

Au cours de ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés aux composés diterpéniques issus d'*Andrographis paniculata*.

Dans un premier temps, des extraits bruts obtenus à partir de compléments alimentaires ont été analysés par HPLC, LC-MS. Trois composés majoritaires ont été mis en évidence, ainsi que quelques composés minoritaires. Une purification par chromatographie flash sur gel de silice de ces extraits bruts nous a permis d'isoler les trois composés majoritaires, ceux-ci ont été entièrement caractérisés (Figure 79).

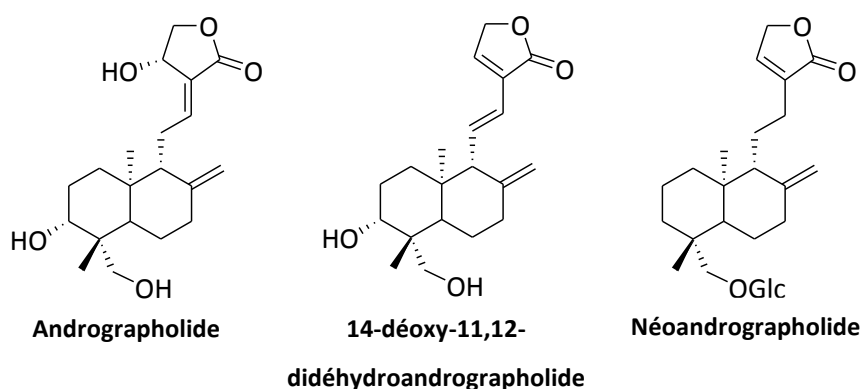
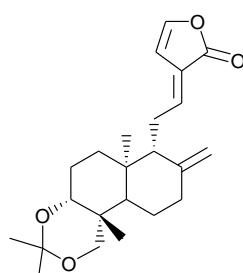


Figure 79 : Structures des trois composés majoritaires isolés des compléments alimentaires

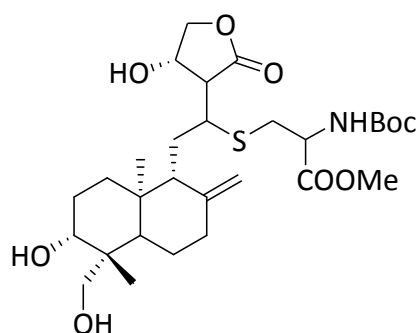
La mise au point d'une méthode de quantification nous a permis de connaître la concentration de ces trois composés dans les quatre compléments alimentaires.

Dans un deuxième temps, les composés naturels ont fait l'objet de modifications structurales, et six nouveaux composés ont pu être préparés par voie héli-synthétique. L'activité inhibitrice de NFκB des neuf substrats dérivés d'andrographolide a été évaluée. Ainsi, nous avons pu confirmer que le composé naturel le plus actif est bien l'andrographolide, composé en général majoritaire dans les extraits. Parmi les composés préparés, le composé **5** a montré une inhibition du NFκB supérieure à celle de l'AG.



Composé 5

Le mécanisme d'inhibition mentionne la formation d'une liaison avec un résidu cystéine du NFκB, l'andrographolide a été mise en présence d'un analogue de ce résidu afin de déterminer les groupes fonctionnels mis en jeu pour cette activité biologique. Par la formation du composé **10** (Figure 50, p81), nous avons pu montrer que la lactone insaturée joue le rôle d'accepteur de Michael. Ceci explique pourquoi une modification de la lactone entraîne une baisse de l'inhibition, contrairement à une modification du diol.



Composé 10

Enfin, l'étude de l'activité inhibitrice des extraits bruts a montré qu'elle ne dépendait que de leur composition, une activité synergique entre plusieurs composés a été écartée.

Suite à ces résultats et devant la possibilité limitée de modifier les dérivés d'andrographolide par héli-synthèse, nous nous sommes intéressés à la synthèse totale de l'andrographolide, de manière à mettre en place la chimie nécessaire à une étude pharmacologique.

Après une première approche infructueuse *via* une cyclisation biomimétique, une voie se basant sur la cétone de Wieland-Miescher, très employée pour la synthèse de composés

terpéniques, a été envisagée. Cette approche nous a permis d'obtenir des résultats très encourageants et semble très prometteuse pour l'obtention de la cible naturelle.

Le squelette bicyclique a pu être formé de manière stéréo-sélective et un dédoublement par formation de diastéréo-isomères a permis d'obtenir la cétone de Wieland-Miescher énantio-pure.

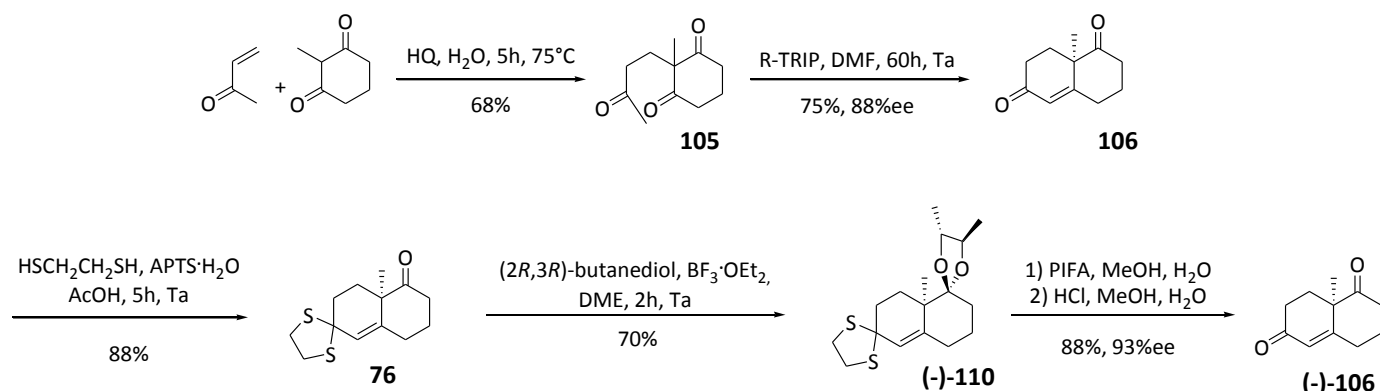


Schéma 108 : Préparation de la cétone de Wieland-Miescher

La fonctionnalisation du cycle A a montré quelques difficultés dues au manque de stabilité de certains intermédiaires. Cependant, les deux carbones stéréogènes C₃ et C₄ ont été créés, même si le C₄ possède la configuration inverse de celle du produit naturel dans le composé **75**. L'hydroxyméthylation du composé **66** est rendu difficile par le manque de stabilité des produits sous forme d'hydroxyméthyle activé, et le composé **72** n'a pas pu être utilisé pour poursuivre la synthèse totale de l'andrographolide. Cependant, il pourrait être utile dans la pharmacomodulation du composé naturel.

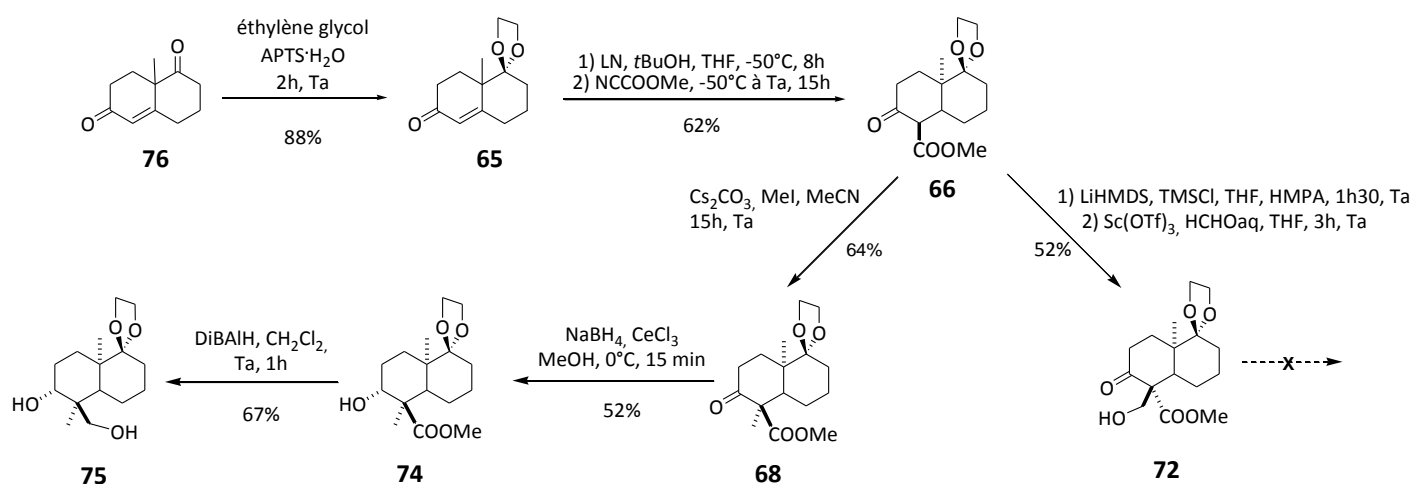


Schéma 109 : Etude de la fonctionnalisation du cycle A

La fonctionnalisation du cycle B a, elle aussi, montré quelques difficultés. Le manque de stabilité des intermédiaires réactionnels n'a pas permis de réaliser la synthèse *via* un réarrangement de Claisen. De plus, la fonctionnalisation de la position C₈ rend les substrats encombrés et peu réactifs (Schéma 110). En effet, ni le composé **96a**, ni les dérivés protégés de **94** (silylés et estérifiés) n'ont permis l'oléfination du carbonyle.

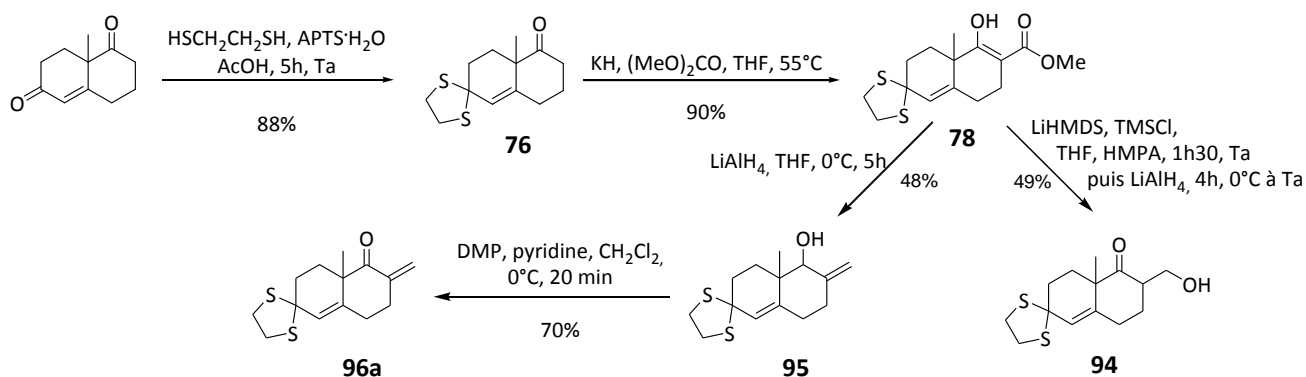


Schéma 110 : Tentatives de fonctionnalisation du cycle B avec un substituant en C₈

Cependant, une lactone diterpénique analogue ne comportant pas de méthylène en position C₈ a pu être obtenue (Schéma 111).

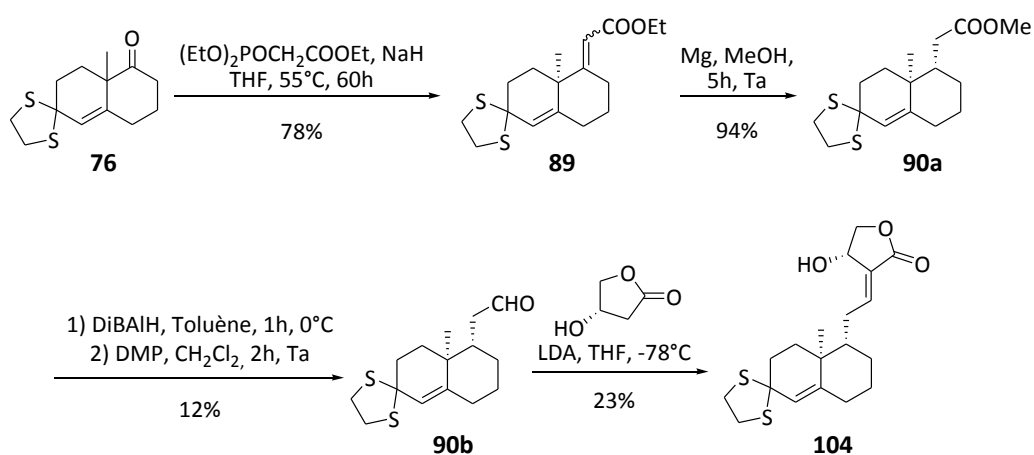


Schéma 111 : Préparation de l'analogue non substitué en position C₈

Ainsi, grâce aux méthodes de synthèse étudiées et mises au point, il nous semble possible de réaliser la synthèse de l'andrographolide et/ou d'analogues, par la voie présentée ci-dessous, ce qui sera mis en œuvre prochainement au laboratoire.

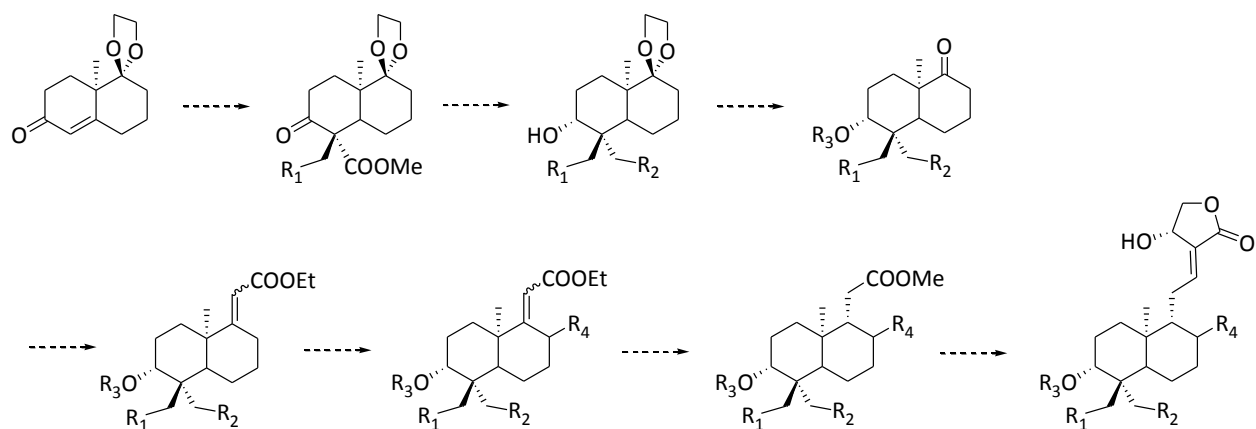


Schéma 112 : Synthèse possible pour la préparation d'analogues d'andrographolide

Andrographolide : $R_1 = \text{CH}_3$, $R_2 = \text{OH}$, $R_3 = \text{H}$, $R_4 = \text{CH}_2$

Partie expérimentale

Analyses chromatographiques

Les expériences HPLC ont été menées sur un appareil Agilent HP 1100 (Waldbronn, Allemagne), couplé à un détecteur UV Kontron Ultra-Violet (Zurich, Suisse) et piloté par un logiciel EZchrome Elite.

Du méthanol fournit par Carlo Erba (Val de Reuil, France) et de l'eau purifiée (résistance < 18 M Ω) par le système Elgastar UHP II (Elga, Antony, France) à partir d'eau ultrapure, ont été utilisés pour la phase mobile HPLC et pour préparer les solutions mères d'analytes.

Chromatographie

Les CCM ont été réalisées sur des feuilles d'aluminium recouvertes de silice Merck 60F₂₅₄ (épaisseur 0,2 mm). Elles ont été révélées par pulvérisation de *p*-anisaldéhyde puis par chauffage au moyen d'un décapeur thermique.

Les chromatographies flash sont réalisées sur gel de silice (E.Merck, 40-63 μ m).

Spectrométrie

Les spectres de masse ont été obtenus à partir d'un spectromètre Micromass Quattro Ultima triple quadripôle opérant en modes négatif ou positif, ou d'un spectromètre Perkin-Elmer SCIEX API 300, en mode positif, équipé d'une source d'ionisation par électrospray.

Les spectres de masse haute résolution ont été réalisés à partir d'un spectromètre

Les spectres RMN ¹H et ¹³C ont été enregistrés à 25°C au moyen de spectromètres Bruker DPX-250 ou AV-400. Les déplacements chimiques (δ) sont mesurés en ppm (s : singulet, d : doublet, dd : doublet de doublet, t : triplet, q : quadruplet, m : massif) par rapport :

- Au Me₄Si en tant que standard interne pour les spectres effectués dans de CDCl₃.
- Au signal résiduel du DMSO et du MeOH pour les spectres effectués dans ces solvants.

Autres analyses physiques

Les pouvoirs rotatoires optiques ont été mesurés à 20°C avec un polarimètre Perkin-Elmer 341.

Les points de fusion ont été déterminés dans des tubes capillaires au moyen d'un appareil Büchi.

Méthodes analytiques

Extractions

Le résidu sec obtenu à partir des compléments alimentaires est mis en suspension dans le MeOH (15 mL/g). Trois extractions sont effectuées par sonication dans le méthanol à température ambiante pendant 1 h. Le résidu est filtré sur papier (Whatman #1) et le solvant est évaporé.

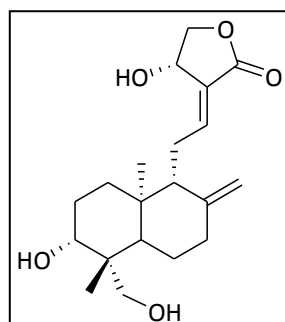
Purification

Les composés **1**, **2** et **3** ont été obtenus par purification de l'échantillon A de compléments alimentaires, par chromatographie sur gel de silice (**1** : MeOH/CHCl₃ 3/97 ; **2** : MeOH/CHCl₃ 8/92 ; **3** : MeOH/CHCl₃ 12/88).

Préparation des solutions pour la méthode de quantification

Les solutions mères ont été préparées à 1 mg/mL de MeOH. Les solutions de calibrations de concentrations connues ont été préparées en diluant la solution mère dans une proportion convenable d'eau et de méthanol afin d'obtenir une composition finale eau/méthanol 20/80. Les solutions d'échantillons à tester ont été préparées en dissolvant l'extrait brut dans un mélange eau/méthanol 20/80 de manière à avoir une solution de concentration 1 mg/mL en extrait brut, puis dilué pour obtenir une concentration finale de 0,5 mg/mL.

Andrographolide (Composé 1)



$$C_{20}H_{30}O_5$$

$$MM = 350,21 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

RMN ^1H (400 MHz, DMSO): δ 6.62 (1H, dt, $J_{11,12} = 7.0 \text{ Hz}$, $J_{12,14} = 1.5 \text{ Hz}$, H_{12}), 5.71 (1H, d, $J_{14,OH} = 6.0 \text{ Hz}$, OH_{14}), 5.05 (1H, d, $J_{3,OH} = 5.0 \text{ Hz}$, OH_3), 4.91 (1H, t, $J_{14,15} = 6.0 \text{ Hz}$, H_{14}), 4.81 (1H, s, H_{17A}), 4.62 (1H, s, H_{17B}), 4.39 (1H, dd, $J_{15A,15B} = 10 \text{ Hz}$, $J_{14,15A} = 6.0 \text{ Hz}$, H_{15A}), 4.13 (1H, dd, $J_{19B,OH} = 7.5 \text{ Hz}$, $J_{19A,OH} = 2.5 \text{ Hz}$, OH_{19}), 4.03 (1H, dd, $J_{15A,15B} = 10.0 \text{ Hz}$, $J_{14,15B} = 2.0 \text{ Hz}$, H_{15B}), 3.84 (1H, dd, $J_{19A,19B} = 11.0 \text{ Hz}$, $J_{19A,OH} = 2.5 \text{ Hz}$, H_{19A}), 3.29-3.20 (2H, m, H_3 , H_{19B}), 2.46 (1H, m, H_{11A}), 2.32 (1H, br d, $J_{7A,7B} = 13.0 \text{ Hz}$, H_{7A}), 1.6-1.84 (2H, m, H_{7B} , H_{11B}), 1.75-1.61 (5H, m, H_{1A} , H_2 , H_{6A} , H_9), 1.35 (1H, dq, $J_{6A,6B} J_{6B,7B} = 13.0 \text{ Hz}$, $J_{6B,7A} = 4.0 \text{ Hz}$, H_{6B}), 1.23-1.17 (2H, H_{1B} , H_5), 1.08 (3H, s, H_{18}), 0.66 (3H, s, H_{20}).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO): δ 170.8 (C_{16}), 148.5 (C_8), 147.2 (C_{12}), 129.9 (C_{13}), 109.2 (C_{17}), 79.3 (C_3), 75.2 (C_{15}), 65.4 (C_{14}), 63.6 (C_{19}), 56.4 (C_9), 55.3 (C_5), 43.1 (C_{10}), 39.5 (C_4), 38.4 (C_7), 38.1 (C_{11}), 37.4 (C_1), 28.8 (C_2), 24.8 (C_6), 24.0 (C_{18}), 15.6 (C_{20}).

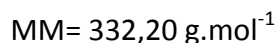
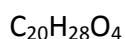
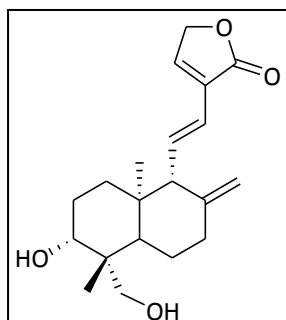
IR (Diamant ATR): 3387, 2924, 1753, 1488, 1030, 978, 657 (cm^{-1}).

m/z mode négatif: 331 [$\text{M}-\text{H}_2\text{O}$] $^-$, 349 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$, 395 [$\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}$] $^-$,
mode positif: 351 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 373 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

$[\alpha]_D$ -97,2 (c 0.60, MeOH)

HRMS calculée pour $C_{20}H_{31}O_5$: 351,2167. Trouvée : 351,2166.

14-déoxy-11,12-didéhydroandrographolide (Composé 2)



RMN ^1H (400 MHz, DMSO): δ 7.65 (1H, brs, H_{14}), 6.74 (1H, dd, $J_{11,12} = 15.5 \text{ Hz}$, $J_{9,11} = 10.0 \text{ Hz}$, H_{11}), 6.12 (1H, d, $J_{11,12} = 15.5 \text{ Hz}$, H_{12}), 5.03 (1H, d, $J_{3,\text{OH}} = 5.0 \text{ Hz}$, OH_3), 4.89 (2H, brs, H_{15}), 4.73 (1H, s, $\text{H}_{17\text{A}}$), 4.42 (1H, s, $\text{H}_{17\text{B}}$), 4.12 (1H, t, $J_{\text{OH},19\text{B}} = 6.5 \text{ Hz}$, OH_{19}), 3.84 (1H, dd, $J_{19\text{A},19\text{B}} = 13.0 \text{ Hz}$, $J_{19\text{A},\text{OH}} = 5.0 \text{ Hz}$, $\text{H}_{19\text{A}}$), 3.28-3.16 (2H, m, H_3 , $\text{H}_{19\text{B}}$), 2.36-2.32 (2H, m, H_9 , $\text{H}_{7\text{A}}$), 1.97 (1H, m, $\text{H}_{7\text{B}}$), 1.72 (1H, m, $\text{H}_{2\text{A}}$), 1.58-1.54 (2H, m, $\text{H}_{2\text{B}}$, $\text{H}_{6\text{A}}$), 1.40 (1H, dd, $J_{6\text{A},6\text{B}} = 13.0 \text{ Hz}$, $J_{6\text{B},7\text{B}} = 4.0 \text{ Hz}$, $\text{H}_{6\text{B}}$), 1.28-1.12 (3H, m, H_1 , H_5), 1.07 (3H, s, H_{18}), 0.76 (3H, s, H_{20}).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO): δ 172.9 (C_{16}), 149.5 (C_8), 147.2 (C_{14}), 134.7 (C_{11}), 127.5 (C_{13}), 121.6 (C_{12}), 108.5 (C_{17}), 79.1 (C_3), 63.1 (C_{19}), 61.0 (C_9), 54.2 (C_5), 42.8 (C_4), 38.4 (C_1), 36.7 (C_7), 29.4 (C_{10}), 28.1 (C_2), 23.6 (C_6), 23.4 (C_{18}), 15.9 (C_{20}).

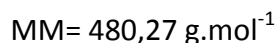
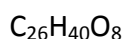
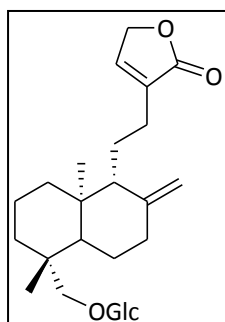
IR (Diamant ATR): 3297, 2916, 2848, 1751, 1704, 1472, 1034, 678 (cm^{-1}).

m/z mode négatif: 331 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$, 377 [$\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}$] $^-$,
mode positif: 355 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

$[\alpha]_{\text{D}}$ -11,3 (c 0.80, MeOH)

HRMS calculée pour $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{NaO}_4$: 355,2035. Trouvée : 355,2036.

Néoandrographolide (Composé 3)



RMN ^1H (400 MHz, DMSO): δ 7.46 (1H, s, H₁₄), 4.86-4.78 (6H, m, 3xOH, H₁₅, H_{17A}), 4.59 (1H, s, H_{17B}), 4.38 (1H, t, $J_{6',\text{OH}} = 6.0$ Hz, OH_{6'}), 4.02 (1H, d, $J_{1',2'} = 8.0$ Hz, H_{1'}), 3.88 (1H, d, $J_{19A,19B} = 10.0$ Hz, H_{19A}), 3.63 (1H, dd, $J_{6'A,6'B} = 10.5$ Hz, $J_{5',6'A} = 6.0$ Hz, H_{6'A}), 3.43 (1H, dd, $J_{6'A,6'B} = 10.5$ Hz, $J_{5',6'B} = 5.0$ Hz, H_{6'B}), 3.17-3.04 (3H, m, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'}), 2.92 (1H, m, H_{2'}), 2.36-0.90 (16H, m, H₁, H₂, H₃, H₅, H₆, H₇, H₉, H₁₁, H₁₂), 0.95 (3H, s, H₁₈), 0.61 (3H, s, H₂₀).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO): δ 174.6 (C₁₆), 148.1 (C₈), 147.4 (C₁₄), 132.6 (C₁₃), 107.0 (C₁₇), 104.0 (C_{1'}), 77.3, 77.1, 70.6 (C_{3'}, C_{4'}, C_{5'}), 74.0 (C_{2'}), 71.2 (C₁₅), 70.9 (C₁₉), 61.5 (C_{6'}), 56.1 (C₉), 55.8 (C₅), 38.8, 38.4, 36.1, 21.9, 19.0 (C₁, C₂, C₃, C₆, C₇, C₁₁, C₁₂), 38.3 (C₄), 28.0 (C₁₈), 24.4 (C₁₀), 15.6 (C₂₀).

IR (Diamant ATR): 3369, 2916, 2848, 1746, 1472, 1031, 719, 692 (cm⁻¹).

m/z mode négatif: 479 [M-H]⁻, 525 [M-H+HCOOH]⁻,
mode positif: 503 [M+Na]⁺.

$[\alpha]_D$ -20,2 (c 0.60, MeOH)

HRMS calculée pour C₂₆H₄₀O₈: 481,2795. Trouvée : 481,2796.

Evaluation de l'activité inhibitrice

Les cellules A549/NFκB-luc ont été obtenues par co-transfection de cellules A549 (ATCC P/N CCL-185, Panomics) avec pNFκB-luc (Panomics P/N LR0051) et pHyg, suivie d'une sélection par hygromycine. Elles maintiennent une intégration chromosomale du gène rapporteur de la luciférase, régulé par de multiples copies d'éléments de réponse NFκB. Elles sont mises en culture dans un milieu DMEM, complété de 10% FBS en présence de 100 µg/ml d'hygromycine, 100 unités/ml de pénicilline et 100 µg/ml de pénicilline and streptomycine, respectivement. Le promoteur NFκB rapporteur de luciférase a été utilisé pour tester l'activité de l'activation du NFκB.

Les solutions mères ont été préparées par dissolution de l'échantillon dans le DMSO, à une concentration 10 mg/mL.

Test de viabilité

La viabilité des cellules a été évaluée après 24 h et 48 h, sur des cellules stimulées et non stimulées avec du TNFα (10 ng/mL, Sigma). Les cellules A549/NFκB-luc sont incubées avec les différents échantillons, stimulées ou non, dans 200 µL de milieu de culture. Après 24 h, 20 µL d'Alamar Blue sont additionnés. Les cellules sont incubées 4h, puis la fluorescence est mesurée (excitation λ = 560 nm, émission λ = 590 nm). Un témoin négatif incubé seul permet de calculer les pourcentages de viabilité pour chaque composé testé.

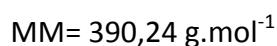
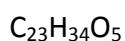
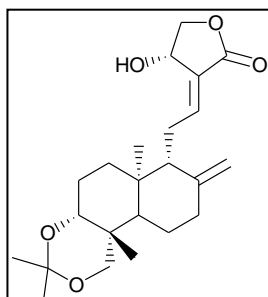
Evaluation de l'inhibition du NFκB

Les cellules A549/NFκB-luc sont incubées avec les différents échantillons obtenus à partir des compléments alimentaires ou avec leur solvant, et sont stimulées avec du TNFα (10 ng/mL, Sigma) dans 1 mL de milieu de culture. Après 24 h, le niveau de luciférase est mesuré par luminescence. Les cellules sont lavées avec du PBS et centrifugées (7 min, 1500rpm). Après élimination du surnageant, le tampon d'homogénéisation (0,2 mL de solution MgCl₂ 8 mM, dithiothréitol 1 mM, EDTA 1 mM, glycérol 15%, Triton X-100 1%, tampon tris-

phosphate pH 7.8 25 mM) est additionné dans chaque puits. Le tissu de culture est décollé par agitation et gardé 10 min à 20°C. Les solutions sont récoltées et centrifugées (10 min, 3000 rpm). De l'ATP (95 µL d'une solution de tampon d'homogénéisation sans Triton-X100 2 mM) est additionné à 60 µL de surnageant et vigoureusement agité. La luminescence est mesurée pendant 4 s à l'aide d'un luminomètre (LUMAT LB 9501, Berthold, Wildbach, Germany) après addition de 0.15 mL de solution de luciférine 167 mM dans l'eau.

(S,E)-4-hydroxy-3-(2-((4aR,6aS,7R,10bR)-3,3,6a,10b-tétraméthyl-8-méthylène-décahydro-1H-naphtho[2,1-d][1,3]dioxin-7-yl)éthylidène)-dihydrofuran-2(3H)-one

(Composé 4)



A une solution de composé **1** (2,85 mmol, 1 g) dans 25 mL de DMF, sous argon à température ambiante, sont additionnés du PPTS (0,4 éq., 1,14 mmol, 287 mg) et du 2,2-diméthoxypropane (4 éq., 11,4 mmol, 1,4 mL). La solution est agitée 5 h, puis elle est diluée dans AcOEt. Une solution de NaHCO₃ saturée est ajoutée, la phase aqueuse est extraite trois fois. Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec solution de NaCl saturée, séchées sur MgSO₄ et concentrées. Une purification par chromatographie sur colonne de silice (CH₂Cl₂/Acétone 19/1) donne **4** sous forme d'une huile jaune (1,02 g, 90%).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO): δ 6.94 (1H, dt, J_{11,12} = 7.0 Hz, J_{12,14} = 1.5 Hz, H₁₂), 5.02 (1H, brs, H₁₄), 4.88 (1H, s, H_{17A}), 4.60 (1H, s, H_{17B}), 4.43 (1H, dd, J_{15A,15B} = 10.5 Hz, J_{14,15A} = 6.0 Hz, H_{15A}), 4.24 (1H, dd, J_{15A,15B} = 10.5 Hz, J_{14,15B} = 2.0 Hz, H_{15B}), 3.94 (1H, d, J_{19A,19B} = 11.5 Hz, H_{19A}), 3.47 (1H, dd, J_{2A,3} = 8.5 Hz, J_{2B,3} = 3.5 Hz, H₃), 3.16 (1H, d, J_{19A,19B} = 11.5 Hz, H_{19B}), 2.56 (2H, m, H₁₁), 2.42 (1H, br d, J_{7A,7B} = 13.0 Hz, H_{7A}), 1.97 (1H, m, H_{7B}), 1.84-1.69 (4H, m, H_{1A}, H_{2A}, H_{6A}, H₉), 1.41 (3H, s, CH₃), 1.39 (3H, s, CH₃), 1.31-1.22 (4H, H_{1B}, H_{2B}, H₅, H_{6B}), 1.18 (3H, s, H₁₈), 0.94 (3H, s, H₂₀).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO): δ 169.9 (C₁₆), 148.9 (C₁₂), 147.0 (C₈), 127.9 (C₁₃), 108.8 (C₁₇), 99.2 (O-C-O), 76.2 (C₃), 74.2 (C₁₅), 66.2 (C₁₄), 63.9 (C₁₉), 56.0 (C₉), 52.2 (C₅), 38.4, 37.9 (C₁₀,

C₄), 37.6 (C₇), 36.5 (C₁), 26.4 (CH₃), 26.1 (C₁₈), 25.3 (CH₃), 25.0 (C₂), 24.9 (C₁₁), 23.2 (C₆), 16.2 (C₂₀).

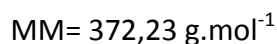
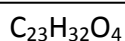
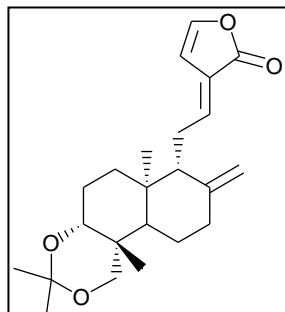
IR (Diamant ATR): 3326, 2965, 1725, 1413, 1030, 919, 696 (cm⁻¹).

m/z 413 [M+Na]⁺.

[α]_D - 86,6 (c 0.70, MeOH)

HRMS calculée pour C₂₃H₃₅O₅ : 391,2482. Trouvée : 391,2479.

(E)-3-(2-((4aR,6aS,7R,10bR)-3,3,6a,10b-tétraméthyl-8-méthylène-décahydro-1H-naphtho[2,1-d][1,3]dioxin-7-yl)éthylidène)furan-2(3H)-one
(Composé 5)



Une solution de composé **4** (2,56 mmol, 1 g) dans 20 mL de pyridine et 10 mL d'anhydride acétique, sous argon à température ambiante, est agitée 20 h. La solution est diluée dans AcOEt et de l'eau est ajoutée. La phase aqueuse est extraite trois fois, les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution de NaCl saturée, séchées sur $MgSO_4$ et concentrées. Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/ CH_2Cl_2 , 5/95) donne **5** sous la forme d'une pâte blanche (530 mg, 48%).

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 6.97 (1H, d, $J_{14,15} = 1.5$ Hz, H_{15}), 6.68 (1H, dt, $J_{11,12} = 7.5$ Hz, $J_{12,14} = 1.5$ Hz, H_{12}), 6.16 (1H, d, $J_{14,15} = 1.5$ Hz, H_{14}), 4.84 (1H, s, H_{17A}), 4.43 (1H, s, H_{17B}), 3.93 (1H, d, $J_{19A,19B} = 11.5$ Hz, H_{19A}), 3.45 (1H, dd, $J_{2A,3} = 8.5$ Hz, $J_{2B,3} = 3.5$ Hz, H_3), 3.16 (1H, d, $J_{19A,19B} = 11.5$ Hz, H_{19B}), 2.45-2.42 (2H, m, H_{11} , H_{7A}), 2.05-1.52 (5H, m, H_{1A} , H_{2A} , H_{6A} , H_{7B} , H_9), 1.39 (3H, s, CH_3), 1.35 (3H, s, CH_3), 1.32-1.24 (4H, H_{1B} , H_{2B} , H_5 , H_{6B}), 1.18 (3H, s, H_{18}), 0.94 (3H, s, H_{20}).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): δ 167.9 (C_{16}), 147.0 (C_8), 145.3 (C_{12}), 144.4 (C_{14}), 125.7 (C_{13}), 108.7 (C_{17}), 105.0 (C_{15}), 99.1 (O-C-O), 76.1 (C_3), 63.9 (C_{19}), 56.0 (C_9), 53.0 (C_5), 38.5, 37.9 (C_{10} , C_4), 37.6 (C_7), 36.4 (C_1), 26.5 (CH_3), 25.7 (C_{18}), 25.3 (CH_3), 24.9 (C_2), 24.9 (C_{11}), 23.1 (C_6), 16.3 (C_{20}).

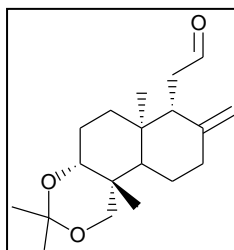
IR (Diamant ATR): 2995, 1736, 1432, 1116, 879, 722 (cm^{-1}).

m/z 395 [M+Na]⁺.

[α]_D - 14,8 (c 0.55, EtOH).

2-((4aR,6aS,7R,10bR)-3,3,6a,10b-tétraméthyl-8-méthylène-décahydro-1H-naphtho[2,1-d][1,3]dioxin-7-yl)acétaldéhyde

(Composé 6)



$C_{19}H_{30}O_3$

MM= 306,22 g.mol⁻¹

A une solution de composé **5** (0,14 mmol, 50 mg) dans 1,5 ml de THF, sous argon à 0°C, est additionné du KMnO₄ (2,3 éq., 0,31 mmol, 50 mg) par portion sur 10 min. La solution est agitée 2 h à 40°C, puis de l'eau est ajoutée, la solution est filtrée sur célite et lavée avec du CH₂Cl₂. La phase aqueuse est extraite deux fois, les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution de NaCl saturé, séchées sur MgSO₄ et concentrées. Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/CH₂Cl₂ 5/95) donne **6** sous la forme d'une huile transparente (12 mg, 30%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 9.64 (1H, d, J_{11,12} = 3.0 Hz, H₁₂), 4.83 (1H, s, H_{13A}), 4.42 (1H, s, H_{13B}), 3.95 (1H, d, J_{15A,15B} = 11.5 Hz, H_{15A}), 3.45 (1H, dd, J_{2A,3} = 9.0 Hz, J_{2B,3} = 4.0 Hz, H₃), 3.17 (1H, d, J_{15A,15B} = 11.5 Hz, H_{15B}), 2.55 (1H, ddd, J_{9,11A} = 11.0, J_{11A,11B} = 16.5 Hz, Hz, J_{11A,12} = 3.0 Hz, H_{11A}), 2.41 (1H, ddd, J_{9,11B} = 7.0, J_{11A,11B} = 16.5 Hz, Hz, J_{11B,12} = 3.0 Hz, H_{11B}), 2.44-2.39 (1H, m, H_{7A}), 2.33 (1H, brd, J_{9,11A} = 11.0, H₉), 2.08-1.94 (2H, m, H_{2A}, H_{7B}), 1.80-1.70 (2H, m, H_{1A}, H_{2B}), 1.64-1.58 (2H, m, H₅, H_{6A}), 1.41 (3H, s, CH₃), 1.34 (3H, s, CH₃), 1.32-1.22 (2H, H_{1B}, H_{6B}), 1.20 (3H, s, H₁₄), 0.90 (3H, s, H₁₆).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 202 (C₁₂), 147.6 (C₈), 108.8 (C₁₃), 99.0 (O-C-O), 76.4 (C₃), 63.8 (C₁₅), 52.0 (C₅), 50.5 (C₉), 40.0 (C₁₁), 37.9, 37.8 (C₄, C₁₀), 37.3 (C₇), 34.6 (C₆), 27.2 (CH₃), 26.1 (C₁₄), 25.3 (CH₃), 25.0 (C₂), 22.9 (C₁), 16.2 (C₁₆).

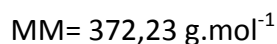
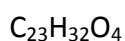
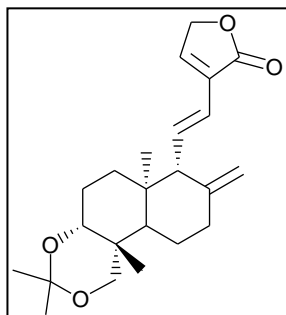
IR (Diamant ATR): 2987, 2763, 2751, 1402, 1021, 922, 708 (cm⁻¹).

m/z 361 [M+Na+MeOH]⁺.

[α]_D - 37,3 (c 0.63, MeOH)

3-((E)-2-((4aR,6aR,7R,10bR)-3,3,6a,10b-tétraméthyl-8-méthylène-décahydro-1H-naphtho[2,1-d][1,3]dioxin-7-yl)vinyl)furan-2(5H)-one

(Composé 7)



Le composé **7** est un produit secondaire isolé lors de la préparation du composé **5**.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7.14 (1H, brs, H₁₄), 6.86 (1H, dd, J_{11,12} = 15.5 Hz, J_{9,11} = 10.0 Hz, H₁₁), 6.08 (1H, d, J_{11,12} = 15.5 Hz, H₁₂), 4.79 (2H, brs, H₁₅), 4.77 (1H, s, H_{17A}), 4.53 (1H, s, H_{17B}), 4.06 (1H, d, J_{19A,19B} = 11.5 Hz, H_{19A}), 3.44 (1H, dd, J_{2A,3} = 8.5 Hz, J_{2B,3} = 3.5 Hz, H₃), 3.22 (1H, d, J_{19A,19B} = 11.5 Hz, H_{19B}), 2.45-2.42 (2H, m, H_{7A}, H₉), 2.05-1.52 (5H, m, H_{1A}, H_{2A}, H_{6A}, H_{7B}), 1.42 (3H, s, CH₃), 1.35 (3H, s, CH₃), 1.32-1.24 (4H, H_{1B}, H_{2B}, H₅, H_{6B}), 1.27 (3H, s, H₁₈), 0.99 (3H, s, H₂₀).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 172.9 (C₁₆), 148.3 (C₈), 142.8 (C₁₄), 136.0 (C₁₁), 127.5 (C₁₃), 121.2 (C₁₂), 109.4 (C₁₇), 98.4 (O-C-O), 78.4 (C₃), 69.6 (C₁₅), 63.3 (C₁₉), 61.4 (C₉), 54.1 (C₅), 38.3 (C₄), 37.9 (C₁), 37.3 (C₇), 29.4 (C₁₀), 25.9 (C₂), 25.3 (C₆), 22.3 (C₁₈), 16.2 (C₂₀).

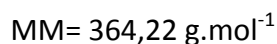
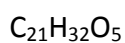
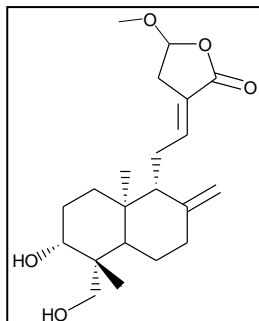
IR (Diamant ATR): 2995, 1736, 1432, 1116, 879, 722 (cm⁻¹).

m/z 395 [M+Na]⁺.

[α]_D -20,4 (c 0.67, MeOH)

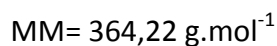
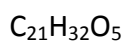
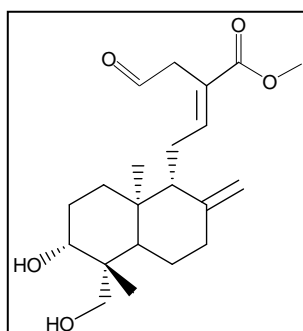
(E)-3-(2-((1R,5R,6R,8aS)-6-hydroxy-5-(hydroxyméthyl)-5,8a-diméthyl-2-méthylène-décahydronaphthalèn-1-yl)éthylidène)-5-méthoxy-dihydrofuran-2(3H)-one

(Composé 8)



(E)-méthyl 4-((1R,5R,6R,8aS)-6-hydroxy-5-(hydroxyméthyl)-5,8a-diméthyl-2-méthylène-décahydronaphthalèn-1-yl)-2-(2-oxoéthyl)but-2-énoate

(Composé 9)



A une solution de composé **1** (1 mmol, 390 mg) dans 10 mL de MeOH anhydre, sous argon à 0°C, est additionné le MeONa (1 éq., 1 mmol, 54 mg). La solution est agitée 3 h 30 min à température ambiante, 2 mL d'une solution aqueuse de NH₄Cl saturé sont ajoutés et les solvants sont évaporés. Une purification par chromatographie sur gel de silice (MeOH/CHCl₃ 5/95) donne les composés **8** (109 mg, 30%) et **9** (68 mg, 17%) sous la forme de pâtes blanches.

Composé 8

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 6.66 (1H, t, $J_{11,12} = 7.0$ Hz, H_{12}), 5.44 (1H, dd, $J_{14A,15} = 6.5$ Hz, $J_{14B,15} = 3.5$ Hz, H_{15}), 4.81 (1H, d, $J_{9,17A} = 5.0$ Hz, H_{17A}), 4.36 (1H, s, $J_{9,17B} = 9.5$ Hz, H_{17B}), 4.15 (1H, d, $J_{19A,19B} = 11.0$ Hz, H_{19A}), 3.49 (3H, s, OCH_3), 3.44 (1H, t, $J_{2A,3} = 9.0$ Hz, H_3), 3.27 (1H, dd, $J_{19A,19B} = 11.0$ Hz, $J_{19B,\text{OH}} = 1.5$ Hz, H_{19B}), 2.96 (1H, dd, $J_{14A,15} = 7.0$ Hz, $J_{14A,14B} = 9.0$ Hz, H_{14A}), 2.64 (1H, d, $J_{14A,14B} = 9.0$ Hz, H_{14B}), 2.31 (1H, br d, $J_{7A,7B} = 13.0$ Hz, H_{7A}), 2.27 (1H, m, H_{11A}), 2.19 (1H, m, H_{11B}), 1.93 (1H, m, H_{7B}), 1.82-1.71 (6H, m, H_{1A} , H_2 , H_6 , H_9), 1.22-1.17 (2H, H_{1B} , H_5), 1.21 (3H, s, H_{18}), 0.64 (3H, s, H_{20}).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO): δ 169.6 (C_{16}), 146.8 (C_8), 142.4 (C_{12}), 124.1 (C_{13}), 108.3 (C_{17}), 102.1 (C_{15}), 80.2 (C_3), 64.0 (C_{19}), 56.6 (OCH_3), 55.6 (C_9), 55.0 (C_5), 42.6 (C_{10}), 37.6 (C_7), 36.9 (C_1), 35.8 (C_4), 31.8 (C_{14}), 28.0 (C_6), 25.5 (C_{11}), 23.6 (C_2), 22.6 (C_{18}), 15.0 (C_{20}).

IR (Diamant ATR): 3339, 2963, 1752, 1422, 1072, 928, 667 (cm^{-1}).

m/z 297 $[\text{M}-\text{MeOH}-2\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$, 315 $[\text{M}-\text{MeOH}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$, 329 $[\text{M}-2\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$, 333 $[\text{M}-\text{MeOH}+\text{H}]^+$, 347 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$, 365 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 387 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 419 $[\text{M}+\text{MeOH}+\text{Na}]^+$, 729 $[2\text{M}+\text{H}]^+$, 751 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$.

$[\alpha]_D$ -18,0 (c 0.50, CHCl_3).

HRMS calculée pour $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{O}_5$: 365,2323. Trouvée : 365,2322.

Composé 9

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 9.64 (1H, s, H_{15}), 6.93 (1H, t, $J_{11,12} = 6.5$ Hz, H_{12}), 4.86 (2H, s, H_{17}), 4.37 (1H, d, $J_{19A,19B} = 11.0$ Hz, H_{19A}), 4.15 (1H, d, $J_{19A,19B} = 11.0$ Hz, H_{19B}), 3.71 (3H, s, OCH_3), 3.49-3.26 (3H, m, H_3 , H_{14}), 2.99 (1H, m, H_{11A}), 2.61 (1H, m, H_{11B}), 1.71 (12H, m, H_1 , H_2 , H_5 , H_6 , H_7 , H_9), 1.23 (3H, s, H_{18}), 0.68 (3H, s, H_{20}).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO): δ 198.3 (C₁₅), 167.1 (C₁₆), 146.8 (C₈), 142.4 (C₁₂), 123.4 (C₁₃), 108.5 (C₁₇), 80.2 (C₃), 64.0 (C₁₉), 55.6 (C₉), 55.0 (OCH₃), 52.0 (C₅), 42.7 (C₁₀), 37.6, 36.8, 26.4, 23.7 (C₁, C₂, C₆, C₇), 36.0 (C₄), 28.1 (C₁₄), 24.4 (C₁₁), 22.7 (C₁₈), 15.2 (C₂₀).

IR (Diamant ATR): 3365, 2944, 2772, 2759, 1739, 1467, 1120, 934, 728 (cm⁻¹).

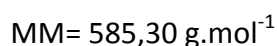
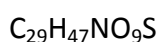
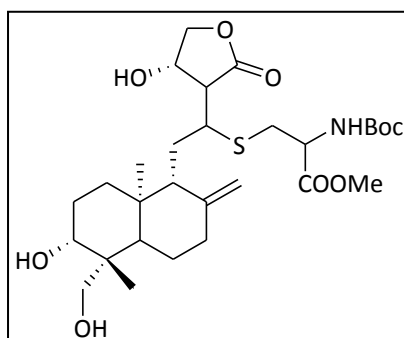
m/z 297 [M-MeOH-2H₂O+H]⁺, 329 [M-2H₂O+H]⁺, 333 [M-MeOH+H]⁺, 347 [M-H₂O+H]⁺, 365 [M+H]⁺, 387 [M+Na]⁺, 419 [M+MeOH+Na]⁺, 729 [2M+H]⁺, 751 [2M+Na]⁺, 783 [2M+MeOH+Na]⁺.

[α]_D -18,1 (c 0.91, CHCl₃).

HRMS calculée pour C₂₁H₃₃O₅ : 365,2324. Trouvée : 365,2322.

Méthyle 2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(1-((4S)-4-hydroxy-2-oxo-tétrahydrofuran-3-yl)-2-((1R,5R,6R,8aS)-6-hydroxy-5-(hydroxyméthyl)-5,8a-diméthyl-2-méthylène-décahydronaphthalèn-1-yl)-éthylthio)propanoate

(Composé 10)



A une solution de NH-Boc-L-Cystéine méthyl ester (2 éq., 0,28 mmol, 59 μ L) dans 5,9 mL de DMF et 3,5 mL de tampon phosphate, à température ambiante, est additionnée une solution de composé **1** (0,14 mmol, 50 mg) dans 1 mL de DMF. La solution est agitée 30 min, puis diluée avec AcOEt. De l'eau est ajoutée, la phase aqueuse est extraite trois fois, les phases organiques sont rassemblées, lavées avec de l'eau, puis avec une solution de NaCl saturé, séchées sur $MgSO_4$ et concentrées. Une purification par chromatographie sur gel de silice ($CHCl_3/MeOH$, 97/3) donne **10** (33 mg, 40%) sous la forme d'une huile blanche.

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.97 (1H, s, NH), 4.88 (1H, brs, H_{17A}), 4.72-4.59 (2H, m, H_{14}), 4.49 (1H, s, H_{17B}), 4.41 (1H, m, $H_{1'}$), 4.39 (1H, dd, $J_{15A,15B} = 10.0$ Hz, $J_{14,15A} = 7.0$ Hz, H_{15A}), 4.15 (1H, d, $J_{19A,19B} = 10.0$ Hz, H_{19A}), 4.03 (1H, dd, $J_{15A,15B} = 10.0$ Hz, $J_{14,15B} = 5.5$ Hz, H_{15B}), 3.74 (3H, s, OCH_3), 3.44 (1H, m, H_3), 3.29 (1H, d, $J_{19A,19B} = 10.0$ Hz, H_{19B}), 3.12 (1H, m, H_{12A}), 3.03 (1H, m, H_{11A}), 2.81 (1H, m, H_{11B}), 2.70 (1H, m, H_{13}), 2.41 (1H, dd, $J_{2'A,2'B} = 12.0$ Hz, $J_{1',2'A} = 6.5$ Hz, $H_{2'A}$), 2.16 (1H, dd, $J_{2'A,2'B} = 12.0$ Hz, $J_{1',2'B} = 8.0$ Hz, $H_{2'A}$), 1.98-1.26 (10H, m, $H_1, H_2, H_5, H_6, H_7, H_9$), 1.42 (9H, s, $C(CH_3)_3$), 1.23 (3H, s, H_{18}), 0.64 (3H, s, H_{20}).

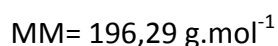
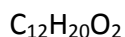
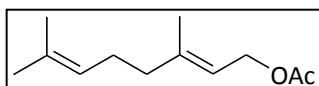
RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): δ 175.6 (C_{16}), 171.2 (CO), 155.2 (NCO), 146.3 (C_8), 107.6 (C_{17}), 80.5 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 80.4 (C_3), 73.1 (C_{15}), 69.9 (C_{14}), 64.1 (C_{19}), 55.4 (C_9), 55.0 (C_5), 54.7 (C_{13}), 53.6

(C1'), 52.6 (OCH₃), 45.2 (C₁₂), 42.7(C₁₀), 39.6 (C₄), 38.2 (C_{2'}), 36.5 (C₁₁), 34.9 (C₇), 29.6 (C₁), 28.3 (C(C₂H₅)₃), 27.3 (C₂), 24.0 (C₆), 22.7 (C₁₈), 15.7 (C₂₀).

IR (Diamant ATR): 3423, 2934, 2875, 1714, 1322, 1103, 897 (cm⁻¹).

m/z 586 [M+H]⁺, 608 [M+Na]⁺.

[α]_D -63,2 (c 0.63, MeOH)

Synthèse**Acétate de 3,7-diméthyl-octa-2,6-diényl
(Composé 11)**

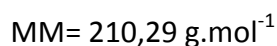
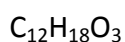
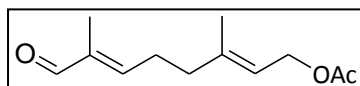
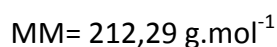
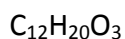
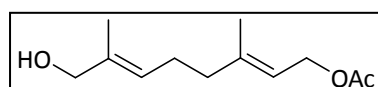
Le géraniol (13 mmol, 2,24 mL) est dilué dans 10 mL de pyridine. 5 mL d'anhydride acétique sont ajoutés à 0°C. La solution est agitée la nuit à température ambiante. Le lendemain, elle est diluée dans AcOEt, lavée à l'eau. La phase aqueuse est extraite avec AcOEt, les phases organiques sont rassemblées, lavées avec de l'eau et une solution de NaCl saturée, séchées sur MgSO_4 et concentrées. La pyridine est coévaporée au toluène. Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 1/9) donne l'alcool protégé **11** (2,47 g, 98%) sous la forme d'un liquide transparent.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.34 (1H, tq, $J_{1,2} = 7.0 \text{ Hz}$, $^4J_{2,4}$, $J_{2,9} = 1.5 \text{ Hz}$, H_2), 5.08 (1H, qt, $J_{5,6} = 6.5 \text{ Hz}$, $^4J_{6,8} = 1.5 \text{ Hz}$, H_6), 4.59 (2H, d, $J_{1,2} = 7.0 \text{ Hz}$, H_1), 2.09-2.00 (4H, m, H_4 , H_5), 2.05 (3H, s, $\text{CH}_3 \text{ Ac}$), 1.70 (3H, s, H_{10}), 1.68 (3H, s, H_8 ou H_9), 1.60 (3H, s, H_9 ou H_8).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 171.1 (C=O), 142.2, 131.8 (C_3 , C_7), 123.7 (C_6), 118.2 (C_2), 61.4 (C_1) 39.5, 26.3 (C_4 , C_5), 25.6 (CH_3), 21.0, 17.6 (C_8 , C_9), 16.4 (C_{10}).

IR (diamant ATR): 2974, 1715, 1360, 1237, 1017 (cm^{-1}).

m/z 219 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

Acétate de 3,7-diméthyl-8-oxo-octa-2,6-diényl**(Composé 12)****Acétate de 8-hydroxy-3,7-diméthyl-octa-2,6-diényl****(Composé 13)**

A une solution de dioxyde de sélénium (0,5 éq., 1,27 mmol, 141 mg) dans 5 mL de CH_2Cl_2 sont ajoutés 1,18 mL de solution de *tert*butylhydroperoxyde 70% dans l'eau (3,6 éq., 9,17 mmol) à température ambiante. L'acétate **11** (2,54 mmol, 500 mg) est ensuite ajouté et la solution est agitée 3 h 30 min à température ambiante. Elle est alors diluée dans le CH_2Cl_2 et lavée avec une solution saturée de NaHCO_3 . La phase aqueuse est extraite au CH_2Cl_2 , les phases organiques sont rassemblées, lavées deux fois à l'eau puis avec une solution de NaCl saturée, séchées sur MgSO_4 et concentrées. Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 1/9, 1/5, 1/3) donne l'alcool allylique **13** (213 mg, 40%) sous forme d'un liquide transparent, ainsi que l'aldéhyde **12** correspondant (86 mg, 16%) sous la forme d'un liquide transparent. Il reste de l'acétate de départ (21 mg, 4%).

Composé 12

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 9.39 (1H, s, H₈), 6.46 (1H, tq, $J_{5,6} = 7.5$ Hz, $^4J_{6,10} = 1.5$ Hz, H₆), 5.39 (1H, qt, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, $^4J_{2,9} = 1.5$ Hz, H₂), 4.59 (2H, d, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, H₁), 2.50 (2H, dt, $J_{4,5}$, $J_{5,6} = 7.5$ Hz, H₅), 2.24 (2H, t, $J_{4,5} = 7.5$ Hz, H₄), 2.05 (3H, s, CH₃), 1.75 (6H, s, H₉, H₁₀).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 194.9 (C₈), 170.8 (C=O), 153.3 (C₆), 140.2, 139.5 (C₃, C₇), 119.5 (C₂), 60.9 (C₁), 37.6 (C₄), 26.8 (C₅), 20.8 (CH₃), 16.2 (C₉), 9.1 (C₁₀).

IR (diamant ATR): 2958, 2832, 2744, 1728, 1063 (cm^{-1}).

m/z 233 [M+Na]⁺.

Composé 13

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.36 (2x1H, 2xqt, $J_{1,2}$, $J_{5,6} = 7.0$ Hz, $^4J_{2,9}$, $^4J_{6,10} = 1.5$ Hz, H₂, H₆), 4.58 (2H, d, $J_{1,2} = 7.0$ Hz, H₁), 3.97 (2H, s, H₈), 2.46 (1H, s, OH), 2.17 (2H, dt, $J_{4,5}$, $J_{5,6} = 7.0$ Hz, H₅), 2.08 (2H, t, $J_{4,5} = 7.0$ Hz, H₄), 2.05 (3H, s, CH₃), 1.71, 1.66 (2x3H, 2xs, H₉, H₁₀).

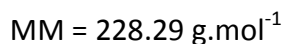
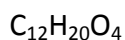
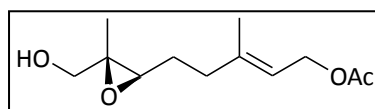
RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 171.0 (C=O), 141.5, 135.1 (C₃, C₇), 124.7 et 118.4 (C₂, C₆), 68.3 (C₈), 61.2 (C₁), 38.8 (C₄), 25.5 (C₅), 20.7 (CH₃), 13.9 et 13.4 (C₁₂, C₁₃).

IR (diamant ATR): 3415, 2982, 1719, 1384, 1274, 1017 (cm^{-1}).

m/z 235 [M+Na]⁺.

Acétate de 5-(3-hydroxyméthyle-3-méthyl-oxiranyl)-3-méthyl-pent-2-ényl

(Composé 14)



Dans le CH_2Cl_2 anhydre avec une pointe de spatule de tamis moléculaire à -20°C sont additionnés du $\text{Ti}(\text{O}i\text{Pr})_4$ (0,1 éq., 0,156 mmol, 44,3 mg) et du *D*-(-)-diéthyltartrate (0,1 éq., 0,156 mmol, 32 mg), la solution est agitée 10 min à -20°C . L'alcool **13** (1,56 mmol, 331 mg) est additionné à -20°C et la solution est agitée 10 min. Finalement, *t*BuOOH (2 éq., 3,12 mmol) est ajouté à -20°C et la solution est mise au congélateur pendant 24 h. Le lendemain, 5 mL de solution aqueuse d'acide tartrique 10% sont additionnés et le mélange est agité 30 min entre -20°C et Ta. La phase aqueuse est extraite au CH_2Cl_2 , la phase organique est lavée avec de l'eau et une solution de NaCl saturée, séchée sur MgSO_4 et concentrée. Une purification par chromatographie sur colonne de silice (AcOEt/EP 1/2) donne l'époxyde **14** (277 mg, 78%, 84%ee) sous la forme d'un liquide transparent.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.39 (1H, dt, $J_{1,2} = 7.5 \text{ Hz}$, $J_{2,9}$, $J_{2,10} = 1.5 \text{ Hz}$, H_2), 4.59 (2H, d, $J_{1,2} = 7.0 \text{ Hz}$, H_1), 3.66 (1H, d, $J_{8A,8B} = 12.0 \text{ Hz}$, H_{8A}), 3.55 (1H, dd, $J_{8A,8B} = 12.0 \text{ Hz}$, $J_{8B,\text{OH}} = 5.5 \text{ Hz}$, H_{8B}), 3.01 (1H, t, $J_{5,6} = 6.0 \text{ Hz}$, H_6), 2.40 (1H, s, OH), 2.23-2.15 (4H, m, H_4 , H_5), 2.05 (3H, s, CH_3), 1.74 (3H, s, H_9), 1.28 (3H, s, H_{10}).

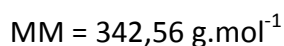
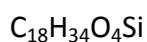
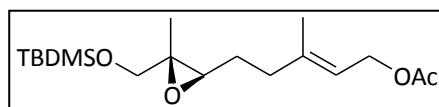
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 171.0 (C=O), 140.8 (C_3), 118.9 (C_2), 65.4 (C_8), 62.1 (C_1), 61.1 (C_7), 59.6 (C_6), 35.9 (C_4), 26.3 (C_5), 20.8 (CH_3), 16.3 (C_{10}), 14.1 (C_{11}).

IR (diamant ATR): 3411, 2966, 1715, 1368, 1233, 1041 (cm^{-1}).

m/z 229 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 246 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 251 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

$[\alpha]_D$ +11,6 (c 1.00, CHCl_3).

Acétate de 5-(3-(tert-butyl-diméthyl-silanyloxyméthyl)-3-méthyl-oxiranyl)-3-méthyl-pent-2-ène (Composé 15)



A une solution du composé **14** (1,35 mmol, 300 mg) dans 5 mL de DMF à 0°C sous argon, sont additionnés l'imidazole (2,4 éq., 3,15 mmol, 214 mg) et le TBDMSCl (1,2 éq., 1,57 mmol, 237 mg). La solution est agitée 1 h en remontant à température ambiante. De l'eau glacée est additionnée et la phase aqueuse est extraite au CH₂Cl₂. La phase organique est lavée avec de l'eau et une solution de NaCl saturée, séchée sur MgSO₄ et concentrée. Une purification par chromatographie sur colonne de silice (AcOEt/EP 1/9) donne le composé **15** (439 mg, 98%) sous la forme d'un liquide transparent.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5.35 (1H, t, J_{2,1} = 7.0 Hz, H₂), 4.56 (2H, d, J_{1,2} = 7.0 Hz, H₁), 3.54 (2H, s, H₈), 2.83 (1H, t, J_{6,5} = 6.0 Hz, H₆), 2.18-2.11 (2H, m, H₄), 2.02 (3H, s, CH₃), 1.70 (3H, s, H₉), 1.65-1.59 (2H, m, H₅), 1.24 (3H, s, H₁₀), 0.87 (9H, s, tBu), 0.03 et 0.02 (2x3H, 2xs, 2CH₃)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 171.0 (CO), 141.2 (C₃), 118.9 (C₂), 67.8 (C₈), 61.2 (C₁), 61.0 (C₇), 60.4 (C₆), 36.2 (C₄), 26.6 (C₅), 25.8 (C(CH₃)₃), 21.0 (CH₃), 18.3 (C(CH₃)₃), 16.5 (C₉), 14.1 (C₁₀), 5.4 (Si(CH₃)₂).

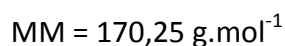
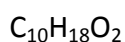
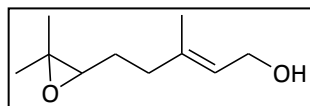
IR (diamand ATR): 2958, 1732, 1229, 1078, 775 (cm⁻¹).

m/z 343[M+H]⁺, 365[M+Na]⁺.

[α]_D +27 (c 0.50, CHCl₃).

5-(3,3-Diméthyl-oxiranyl)-3-méthyl-pent-2-èn-1-ol

(Composé 16)



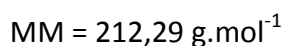
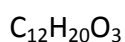
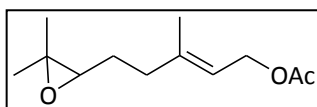
A une solution de géraniol (6,5 mmol, 1 g) dans 20 mL THF/H₂O (3/1) à 0°C est ajoutée la N-bromosuccinimide (1 éq., 6,5 mmol, 1,15 g). Le mélange est agité 2 h de 0°C à température ambiante. Le milieu est dilué dans AcOEt et lavé avec de l'eau distillée. La phase aqueuse est extraite trois fois avec AcOEt et les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution de NaCl saturée, séchées sur MgSO₄ et concentrées. Le résidu obtenu est dissout dans 25 mL MeOH et traité avec K₂CO₃ (1,35 g, 9,73 mmol, 1,5 éq.). La solution est agitée 3 h à température ambiante, filtrée et le solvant est évaporé. Une purification par chromatographie sur colonne de gel de silice, (EP/AcOEt 1/1) donne le composé **16** sous forme d'un liquide transparent (725 mg, 66%).

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃): δ 5.44 (1H, dt, J_{1,2} = 5.0 Hz, J_{2,10} = 2.5 Hz, H₂), 4.15 (2H, d, J_{1,2} = 5.0 Hz, H₁), 2.69 (1H, dt, J_{5,6} = 5.0 Hz, J_{6,8} J_{6,9} = 7.5 Hz, H₆), 2.10 (2H, m, H₅), 1.67 (3H, s, H₁₀), 1.63 (2H, m, H₄), 1.30 et 1.26 (2×3H, 2s, H₈, H₉).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 138.7 (C₃), 123.8 (C₂), 63.9 (C₆), 59.3 (C₇), 58.3 (C₁), 36.2 (C₄), 27.1 (C₅), 24.8 (C₈ ou C₉), 18.7 (C₉ ou C₈), 16.3 (C₁₀).

IR (diamant ATR): 3395, 2961, 1668, 1448, 1379, 1117, 998, 676 (cm⁻¹).

m/z 193 [M+Na]⁺.

Acétate de 5-(3,3-diméthyl-oxiranyl)-3-méthyl-pent-2-ényl**(Composé 17)**

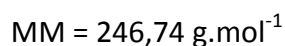
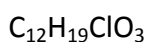
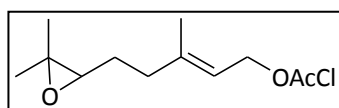
Le composé **17** est obtenu selon le même protocole que le composé **11**. Le produit brut est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt 1/1) pour donner **17** (1,9 g, 35%) sous forme d'une huile jaune.

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 5.37 (1H, dt, $J_{1,2}$ 5.0 Hz, $J_{2,10}$ = 1.5 Hz, H_2), 4.59 (2H, d, $J_{1,2}$ = 2.5 Hz, H_1), 2.69 (1H, t, $J_{5,6}$ = 7.5 Hz, $J_{6,8}$, $J_{6,9}$ = 2.5 Hz, H_6), 2.12 (2H, m, H_5), 2.05 (3H, s, $\text{CH}_3(\text{OAc})$), 1.67 (3H, s, H_{10}), 1.64 (2H, m, H_4), 1.31 et 1.26 ($2\times 3\text{H}$, $2\times \text{s}$, H_8 , H_9).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 171.0 (C_{11}), 141.2 (C_3), 118.8 (C_2), 63.8 (C_6), 61.8 (C_7), 58.5 (C_1), 36.1 (C_4), 27.0 (C_5), 24.8 (C_{12}), 21.0 (C_8 ou C_9), 18.7 (C_9 ou C_8), 16.4 (C_{10}).

IR (diamant ATR): 2961, 1736, 1447, 1378, 1229, 1022, 679 (cm^{-1}).

m/z 235.5 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

Chloroacétate de 5-(3,3-diméthyl-oxiranyl)-3-méthyl-pent-2-ènyl**(Composé 18)**

Le composé **18** est obtenu selon le même protocole que le composé **11** à partir du composé **16** (6,4 mmol, 1 g) et en utilisant de l'anhydride chloroacétique (2 éq., 12,8 mmol, 2,18 g). Une chromatographie sur colonne de silice (EP/AcOEt 9/1) donne le composé **18** (1,23 g, 78%) sous forme d'une huile jaune.

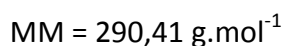
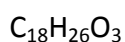
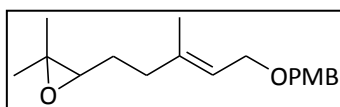
RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 5,40 (1H, dt, $J_{1,2} = 5.0$ Hz, $J_{2,10} = 2.5$ Hz, H_2), 4.71 (2H, d, $J_{1,2} = 5.0$ Hz, H_1), 4.07 (2H, s, H_{11}), 2.69 (1H, t, $J_{5,6} = 5.0$ Hz, $J_{6,8}, J_{6,9} = 2.5$ Hz, H_6), 2.14 (2H, m, H_5), 1,76 (3H, s, H_{10}), 1,66 (2H, m, H_4), 1.32 et 1.27 (2 \times 3H, 2 \times s, H_8, H_9).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 167.2 (C_{11}) 142.6 (C_3), 111.9 (C_2), 63.8 (C_6), 62.8 (C_7), 58.3 (C_1), 40.9 (C_{12}), 36.2 (C_4), 27.0 (C_5), 24.8, 18.7 (C_8, C_9), 16.3 (C_{10}).

IR (diamant ATR): 2961, 1753, 1167, 956, 786, 681 (cm^{-1}).

m/z 269.5 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

3-[5-(4-Méthoxy-benzyloxy)-3-méthyl-pent-3-ènyl]-2,2-diméthyl-oxirane
(Composé 19)



A une solution de composé **16** (5,87 mmol, 1 g) dans 6 mL DMF, sous argon à 0°C, sont ajoutés l'hydrure de sodium (1,1 éq., 6,4 mmol, 25 mg) et le bromure de 4-méthoxybenzyle (1,5 éq., 8,8 mmol, 1,3 mL). La suspension est agitée 1 h 30 min à température ambiante. Le milieu réactionnel est dilué avec AcOEt et lavé avec de l'eau distillée. La phase aqueuse est extraite trois fois avec AcOEt, les phases organiques sont rassemblées et lavées avec une solution de NaCl saturée, séchées sur MgSO₄ et concentrées. Une chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt 5/1, 1/1) donne le composé **19** (1,12 g, 66%) sous forme d'une huile orange.

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃): δ 7.26 (2H, d, H aromatiques), 6.96 (2H, d, H aromatiques), 5.41 (1H, t, J_{1,2} = 7.5 Hz, J_{2,10} = 10.0 Hz, H₂), 4.44 (2H, s, H₁₁), 3.99 (2H, d, J_{1,2} = 5.0 Hz, H₁), 3.80 (2H, s, H₁₂), 2.70 (1H, t, J_{5,6} = 2.5 Hz, J_{6,8}, J_{6,9} = 7.5 Hz, H₆), 2.15 (2H, m, H₅), 1.66 (3H, s, H₁₀), 1.63 (2H, m, H₄), 1.30, 1.26 (2×3H, 2×s, H₈, H₉).

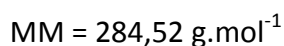
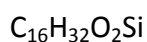
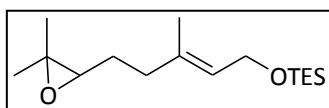
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 159.3 (CO), 130.8, 129.6, 113.9 (C aromatiques), 139.4 (C₃), 121.7 (C₂), 72.0 (C₁₁), 66.4 (C₁), 64.2 (C₆), 58.5 (C₇), 55.5 (C₁₂), 36.4 (C₄), 27.4 (C₅), 25.9, 18.9 (C₈, C₉), 16.7 (C₁₀).

IR (diamant ATR): 3374, 2972, 1612, 1513, 1245, 1003, 816, 675 (cm⁻¹).

m/z 313 [M+Na]⁺.

5-(3,3-Diméthyl-oxiranyl)-3-méthyl-pent-2-ényloxy]-triéthyl-silane

(Composé 20)



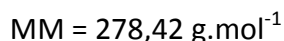
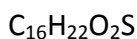
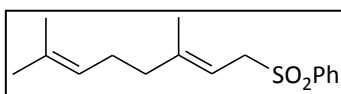
A une solution de composé **16** (5,87 mmol, 1 g) dans 9 mL DMF, sous argon à 0°C, sont ajoutés l'imidazole (2,4 éq., 14 mmol, 95 mg) et le chlorure de triéthylsilyle (1,2 éq., 7,04 mmol, 1,1 mL). La suspension est agitée 1 h 30 min à température ambiante. Le milieu réactionnel est dilué avec AcOEt et lavé avec de l'eau distillée. La phase aqueuse est extraite trois fois avec AcOEt, les phases organiques sont rassemblées et lavées avec une solution aqueuse de NaCl saturée, séchées sur MgSO_4 et concentrées. Une chromatographie sur colonne de silice (EP/AcOEt 10/1) donne le composé **20** (1,35 g, 81%) sous forme d'une huile jaune claire.

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 5.35 (1H, t, $J_{1,2} = 5.0 \text{ Hz}$, $J_{2,10} = 7.5 \text{ Hz}$, H_2), 4.17 (2H, d, $J_{1,2} = 5.0 \text{ Hz}$, H_1), 2.70 (1H, t, $J_{5,6} = 2.5 \text{ Hz}$, $J_{6,8}$, $J_{6,9} = 7.5 \text{ Hz}$, H_6), 2.07 (2H, m, H_5), 1.65 (3H, s, H_{10}), 1.63 (2H, m, H_4), 1.30 et 1.26 (2×3H, 2×s, H_8 et H_9), 0.94 (9H, t, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.58 (6H, s, 3× CH_2Si).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 136.6 (C_3), 124.9 (C_2), 64.2 (C_6), 59.9 (C_7), 58.5 (C_1), 36.3 (C_4), 27.3 (C_5), 25.0, 18.9 (C_8 , C_9), 16.5 (C_{10}), 6.9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 4.7 (CH_2Si).

IR (diamant ATR): 2955, 1459, 1240, 1060, 1006, 726 (cm^{-1}).

m/z 307.5 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

(3,7-Diméthyl-octa-2,6-diène-1-sulfonyl)-benzène**(Composé 21)**

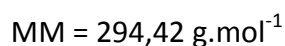
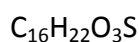
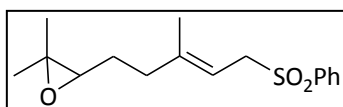
A une solution de géranol (129,65 mmol, 20 g) dans 350 mL THF anhydre, sous argon à température ambiante, est ajouté le chlorure de mésyle (1,3 éq., 168,55 mmol, 13 mL). Le milieu réactionnel est refroidi à -45°C , et la triéthylamine (2 éq., 259,3 mmol, 36 mL) est ajoutée goutte à goutte. Après 1 h 30 min, une solution de bromure de lithium (4 éq., 518,6 mmol, 45 g) dans 7,5 mL THF est additionnée. La solution est agitée 2 h, puis de l'eau glacée est ajoutée et le milieu est dilué avec de l'heptane. La phase aqueuse est extraite trois fois avec de l'heptane, les phases organiques sont rassemblées et lavées avec une solution de NaCl saturée, séchées sur MgSO_4 et concentrées. Le produit bromé (21 g, 74%) brut, sous forme d'une huile jaune, est traité sans autre purification par une solution de benzène sulfinate de sodium (1,2 éq., 116 mmol, 19,05 g) dans 15 mL DMF. La solution est agitée la nuit, à température ambiante, puis elle est diluée avec de l'eau glacée. La phase aqueuse est extraite trois fois avec du pentane, les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution de NaCl saturée, séchées sur MgSO_4 et concentrées. Une purification par chromatographie sur colonne de silice (EP/AcOEt 9/1) donne **21** sous forme d'une huile jaune pâle (19,3 g, 71%).

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 7.68 (2H, d, H aromatiques), 7.62 (1H, t, H aromatique), 7.51 (2H, t, H aromatiques), 5.17 (1H, t, $J_{1,2} = 5.0 \text{ Hz}$, $J_{2,10} = 10.0 \text{ Hz}$, H_2), 5.02 (1H, t, $J_{5,6} = 2,5 \text{ Hz}$, $J_{6,8}$, $J_{6,9} = 5.0 \text{ Hz}$, H_6), 3.80 (2H, d, $J_{1,2} = 5.0 \text{ Hz}$, H_1), 2.00 (2H, s, H_4 , H_5), 1.69 (3H, s, H_{10}), 1.59, 1.32 (2 \times 3H, 2xs, H_8 , H_9).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 146.3, 132.0, 128.9, 128.5 (C aromatiques), 138.6, 133.4 (C_3 , C_7), 123.4, 110.3 (C_2 , C_6), 56.1 (C_1), 39.6 (C_4), 26.1 (C_5), 25.6, 17.6 (C_9 , C_{10}), 16.1 (C_8).

IR (diamant ATR): 2918, 1446, 1304, 1148, 1083, 998, 731, 688 (cm⁻¹).

m/z 301.5 [M+Na]⁺.

3-(5-Benzènesulfonyl-3-méthyl-pent-3-ènyl)-2,2-diméthyl-oxirane**(Composé 22)**

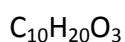
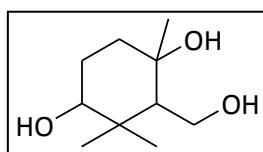
Le composé **22** est obtenu selon le même protocole que le composé **16** à partir du composé **21**. Une chromatographie sur colonne de silice (EP/AcOEt 1/1) donne **22** (500 mg, 39%) sous forme d'une huile jaune.

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 7.86 (2H, d, H aromatiques), 7.62 (1H, t, H aromatique), 7.52 (2H, t, H aromatiques), 5.22 (1H, t, $J_{1,2} = 5.0 \text{ Hz}$, $J_{2,10} = 10.0 \text{ Hz}$, H_2), 3.81 (2H, d, $J_{1,2} = 5.0 \text{ Hz}$, H_1), 2.65 (1H, t, $J_{5,6} = 5.0 \text{ Hz}$, $J_{6,8}$, $J_{6,9} = 7.5 \text{ Hz}$, H_6), 2.07 (1H, m, H_5), 1.52 (2H, m, H_4), 1.38 (3H, s, H_{10}), 1.31, 1.26 (2 \times 3H, 2 \times s, H_8 , H_9).

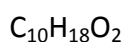
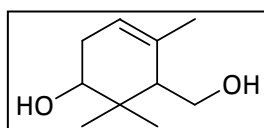
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 145.9, 133.9, 129.3, 128.8 (C aromatiques), 139.0 (C_3), 111.21(C_2), 63,9 (C_6), 58.7 (C_7), 56.3 (C_1), 36.7 (C_4), 27.4 (C_5), 25.1, 19.0 (C_9 , C_{10}), 16.5 (C_8).

IR (diamant ATR): 2966, 1447, 1304, 1147, 1084, 738, 688 (cm^{-1}).

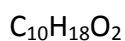
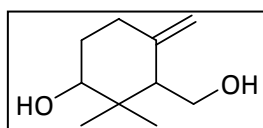
m/z 318 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

2-Hydroxyméthyle-1,3,3-triméthyl-cyclohexane-1,4-diol**(Composé 23)**

$$\text{MM} = 188,27 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

3-Hydroxyméthyle-2,2-diméthyl-4-méthylène-cyclohexanol**(Composé 24)**

$$\text{MM} = 170,25 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

5-Hydroxyméthyle-4,6,6-triméthyl-cyclohex-3-èneol**(Composé 25)**

$$\text{MM} = 170,25 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

A une solution de composé **20** (1,76 mmol, 500 mg) et d'une pointe de spatule de tamis moléculaire 4 Å dans 10 mL de CH_2Cl_2 distillé, sous argon à -78°C , est additionné le $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ (1 éq., 1,76 mmol, 220 μL). La solution est agitée 10 min à -78°C , Et_3N (3 éq., 5,28 mmol, 750 μL) est ajouté et la solution est agitée 10 min en remontant à température ambiante. Une chromatographie sur colonne de silice (EP/AcOEt 1/2, 1/1) donne les composés cyclisés **23** (25 mg, 8%), **24** et **25** (mélange 10:8, 40 mg, 13%).

Composé 23

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 3.77 (1H, d, J_{4,5} = 5.0 Hz, H₄), 3.69 (2H, ABq, J_{7,2} = 7.0 Hz, H₇), 1.94 (1H, m, H_{5A}), 1.70 (1H, ddd, J_{5B,4} = 5.0 Hz, J_{5B,6A} = 9.0 Hz, J_{5B,5A} = 12.0 Hz, H_{5B}), 1.60-1.53 (4H, m, H_{6A}, 3OH), 1.49-1.44 (2H, m, H₂, H_{6B}), 1.41 (3H, s, CH₃), 1.10 et 1.07 (2x3H, 2s, 2xCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 86.0 (C₄), 77.3 (C₁), 61.4 (C₇), 57.8 (C₂), 44.7 (C₃), 38.4 (C₆), 26.3 (C₅), 26.4 et 23.1 (2xCH₃), 18.4 (CH₃).

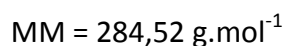
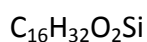
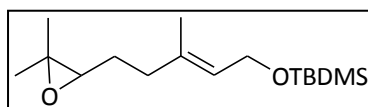
IR (diamant ATR): 3343, 2975, 1438, 1304, 1153, 1082, 740, 688 (cm⁻¹).

m/z 189 [M+H]⁺

Composé 24 et 25

IR (diamant ATR): 3329, 2983, 1447, 1304, 1133, 1078, 738, 688 (cm⁻¹).

m/z 193 [M+H]⁺

tert-butyl(5-(3,3-diméthyloxiran-2-yl)-3-méthylpent-2-ényloxy)diméthylsilane**(Composé 26)**

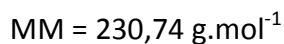
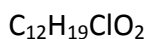
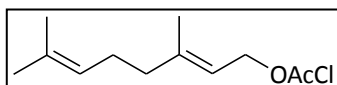
Le composé **26** est obtenu selon le même protocole que le composé **15**, à partir du composé **16** (5,87 mmol, 1 g). Une chromatographie sur colonne de silice (EP/AcOEt 9/1) donne le composé **26** (1,45 g, 87%) sous forme d'une huile jaune claire.

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 5.30 (1H, dt, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, $J_{2,10} = 1.5$ Hz, H_2), 4.19 (2H, d, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, H_1), 2.72 (1H, t, $J_{5,6} = 2.5$ Hz, $J_{6,8}, J_{6,9} = 7.5$ Hz, H_6), 2.09 (2H, m, H_5), 1.68 (3H, s, H_{10}), 1.63 (2H, m, H_4), 1,30 et 1.26 (2 \times 3H, 2 \times s, H_8 et H_9), 0.90 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.07 (6H, s, 2 \times CH_3Si).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 136.8 (C_3), 124.4 (C_2), 64.2 (C_6), 59.7 (C_7), 58.8 (C_1), 39.3 (C_4), 26.3 (C_5), 26.0 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 25.7, 17.9 (C_8, C_9), 18.4 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 16.3 (C_{10}), -5.0 (2 \times CH_3Si).

IR (diamant ATR): 2963, 1447, 1224, 1032, 784 (cm^{-1}).

m/z 307.5 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

Chloroacétate de 3,7-diméthyl-octa-2,6-diényl**(Composé 27)**

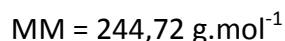
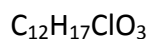
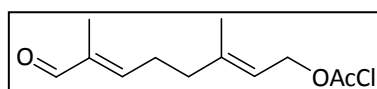
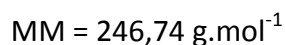
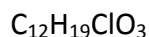
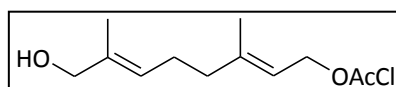
A une suspension de géraniol (32,4 mmol, 5 g) dans 15 mL pyridine et 45 mL CH_2Cl_2 est ajouté de l'anhydride chloroacétique (2 éq., 64,8 mmol, 10,8 g). La solution est agitée 2 h à température ambiante. De la glace est additionnée au milieu réactionnel. La phase aqueuse est extraite trois fois avec du CH_2Cl_2 et les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution de NaHCO_3 saturée, séchées sur MgSO_4 et concentrées. Une purification par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 9/1) donne le composé **27** sous forme d'une huile jaune 7,67 g (quantitatif).

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 5.35 (1H, t, $J_{1,2} = 7.5\text{Hz}$, H_2), 5.08 (1H, t, $J_{5,6} = 7.5\text{ Hz}$, H_6), 4.71 (2H, d, $J_{1,2} = 7.5\text{ Hz}$, H_1), 4.06 (2H, s, H_{11}), 2.11-2.06 (4H, m, H_4 , H_5), 1.72, 1.68, 1.60 (3x3H, 3s, H_8 , H_9 , H_{10}).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 167.2 (CO), 143.9, 132.2 (C_3 , C_7), 123.8, 117.6 (C_2 , C_6), 63.3 (C_1), 41.2 (CH_2Cl), 39.7 (C_4), 26.4 (C_5), 25.9, 17.9, 16.5 (C_8 , C_9 , C_{10}).

IR (diamant ATR): 2918, 1756, 1445, 954, 787 (cm^{-1}).

m/z 253 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

Chloroacétate de 3,7-diméthyl-8-oxo-octa-2,6-diényl**(Composé 28)****Chloroacétate de 8-hydroxy-3,7-diméthyl-octa-2,6-diényl****(Composé 29)**

Les composés **28** et **29** sont obtenus selon le même protocole que les composés **12** et **13** à partir du composé **27** (33 mmol, 7,6 g). Le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 3/1) pour donner le composé de départ **27** (11%), le composé **28** (0,76 g, 9%) et le composé **29** (5,91 g, 73%) tous trois sous forme de liquides jaunes.

Composé 28

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 9.39 (1H, s, H_8), 6.44 (1H, t, $J_{5,6} = 8.0$ Hz, H_5), 5.40 (1H, t, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, H_2), 4.72 (2H, d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H_1), 4.06 (2H, s, CH_2Cl), 2.50 (2H, dt, $J_{4,5}, J_{5,6} = 7.5$ Hz, H_5), 2.25 (2H, t, $J_{4,5} = 7.5$ Hz, H_4), 1.77, 1.75 (2x3H, 2s, $\text{H}_9, \text{H}_{10}$).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 195.3 (C_8), 167.4 (CO), 153.3, 118.8 (C_2, C_6), 141.9, 139.9 (C_3, C_7), 62.9 (C_1), 41.1 (CH_2Cl), 37.9 (C_4), 27.1 (C_5), 16.6, 9.49 ($\text{C}_9, \text{C}_{10}$).

IR (Diamant ATR): 2956, 1752, 1681, 1167, 956 785 (cm^{-1}).

m/z 267 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

Composé 29

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 5.36 (2H, dt, $J_{1,2}$, $J_{5,6}$ = 7.5 Hz, $J_{2,9}$, $J_{6,10}$ = 2.0 Hz, H_2 et H_6), 4.70 (2H, d, $J_{1,2}$ = 7.5 Hz, H_1), 4.06 (2H, s, H_{11}), 3.99 (2H, s, H_8), 2.15 (2H, dt, $J_{4,5}$, $J_{5,6}$ = 7.5 Hz, H_5), 2.08 (2H, t, $J_{4,5}$ = 7.5 Hz, H_4), 1.72, 1.66 (2x3H, 2s, H_9 , H_{10}).

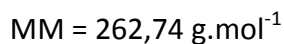
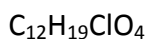
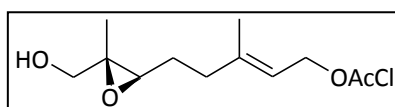
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 167.5 (CO), 143.3, 135.5 (C_3 , C_7), 125.2, 117.9 (C_2 , C_6), 69.0 (C_8), 63.2 (C_1), 41.1 (CH_2Cl), 39.2 (C_4), 25.8 (C_5), 16.6, 13.9 (C_9 , C_{10}).

IR (Diamant ATR): 3377, 2919, 1737, 1445, 1167, 953, 737 (cm^{-1}).

m/z 269 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

Chloroacétate de 5-(3-hydroxyméthyl-3-méthyl-oxiranyl)-3-méthyl-pent-2-ènyl

(Composé 30)



Le composé **30** est obtenu selon le même protocole que le composé **14** à partir du composé **29** (19,5 mmol, 4,8 g). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 1/1) pour obtenir **30** (4,7 g, 93%) sous forme d'une huile jaune.

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃): δ 5.41 (1H, t, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, H₂), 4.71 (2H, d, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, H₁), 4.06 (2H, s, H₁₂), 3.63 (1H, d, $J_{8A,8B} = 12.0$ Hz, H_{8A}), 3.56 (1H, dd, $J_{8A,8B} = 12.0$ Hz, $J_{8B,OH} = 5.5$ Hz, H_{8B}), 3.02 (1H, t, $J_{5,6} = 5.0$ Hz, H₆), 2.13 (2H, m, H₅), 1.66 (2H, m, H₄), 1.64 (1H, brs, OH), 1.75, 1.28 (2×3H, 2s, H₉, H₁₀).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 167.3 (CO), 142.3 (C₃), 118.3 (C₂), 65.2 (C₈), 62.8 (C₁), 60.9 (C₇), 59.5 (C₆), 40.9 (CH₂Cl), 36.1 (C₄), 25.2 (C₅), 16.5, 14.2 (C₉, C₁₀).

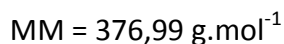
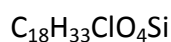
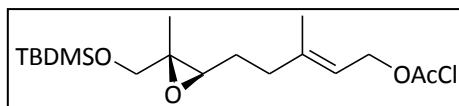
IR (Diamant ATR): 3436, 2928, 1738, 1249, 1167, 1094, 955, 786, 685 (cm⁻¹).

m/z 286 [M+Na]⁺.

[α]_D +3,8 (c 1.00, CHCl₃).

[(E)-5-[(2S,3S)-3-[(tert-butyl(diméthyl)silyl)oxyméthyl]-3-méthyl-oxiran-2-yl]-3-méthyl-pent-2-ényl] 2-chloroacétate

(Composé 31)



Le composé **31** est obtenu selon le même protocole que le composé **15** à partir du composé **30** (3,8 mmol, 1 g). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 5/1) pour donner **31** (1,1 g, 78%) sous forme d'une huile jaune.

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃): δ 5.40 (1H, dt, J_{1,2} = 6.5 Hz, H₂), 4.71 (2H, d, J_{1,2} = 6.5 Hz, H₁), 4.06 (2H, s, CH₂Cl), 3.57 (2H, s, H₈), 2.85 (1H, t, J_{5,6} = 6.5 Hz, H₆), 2.19 (2H, m, H₅), 1.75 (3H, s, H₉ ou H₁₀), 1.69 (2H, m, H₄), 1.27 (3H, s, H₁₀ ou H₉), 0.89 (9H, s, C(CH₃)₃), 0.06 (3H, s, CH₃Si), 0.05 (3H, s, CH₃Si).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 167.5 (CO), 142.5 (C₃), 117.9 (C₂), 67.7 (C₈), 62.8 (C₇), 61.0 (C₆), 60.3 (C₁), 40.9 (CH₂Cl), 36.2 (C₄), 26.5 (C₅), 25.8 (C(CH₃)₃), 18.3 (C(CH₃)₃), 16.5, 14.2 (C₉, C₁₀), -5.3 (CH₃Si).

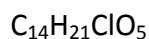
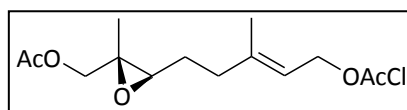
IR (Diamant ATR): 2929, 1754, 1251, 1092, 836, 777, 667 (cm⁻¹).

m/z 399 [M+Na]⁺.

[α]_D +2,6 (c 1.20, CHCl₃).

Chloroacétate de 5-(3-acétoxyméthyl-3-méthyl-oxiranyl)-3-méthyl-pent-2-ényl

(Composé 32)



$$\text{MM} = 304,77 \text{ g.mol}^{-1}$$

Le composé **32** est obtenu selon le même protocole que le composé **11** à partir du composé **30** (3,8 mmol, 1g). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 1/1) pour donner **32** (625 mg, 54%) sous forme d'une huile jaune.

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 5.40 (1H, t, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, H_2), 4.71 (2H, d, $J_{1,2} = 7.0$ Hz, H_1), 4.06 (2H, s, CH_2Cl), 4.04 (2H, ABq, $J_{8A,8B} = 12.0$ Hz, H_8), 2.86 (1H, dt, $J_{5,6} = 6.5$ Hz, H_6), 2.22 (2H, m, H_5), 2.09 (3H, s, CH_3CO), 1.71 (3H, s, H_9 ou H_{10}), 1.68 (2H, m, H_4), 1.31 (3H, s, H_{10} ou H_9).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 170.6, 167.2 (CO), 142.2 (C_3), 118.2 (C_2), 70.7 (C_8), 68.3 (C_6), 62.7 (C_7), 58.4 (C_1), 40.9 (CH_2Cl), 36.0 (C_4), 26.2 (C_5), 20.7 (CH_3CO), 16.4, 14.4 (C_9 , C_{10}).

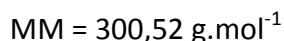
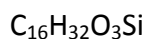
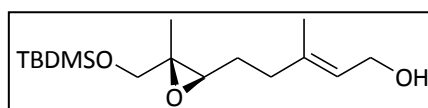
IR (Diamant ATR): 2963, 1738, 1376, 1212, 1146, 1082, 963, 706 (cm^{-1}).

m/z 329 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

$[\alpha]_D$ +5.8 (c 1.00, CHCl_3).

5-[3-(tert-Butyl-diméthyl-silanyloxyméthyl)-3-méthyl-oxiranyl]-3-méthyl-pent-2-èn-1-ol

(Composé 33)



A une solution du composé **31** (2,11 mmol, 75 mg) dans 6 mL EtOH, sous argon à 0°C, est ajouté le borohydrure de sodium (1 éq., 11,36 mmol, 0,75 mg). La solution est agitée 1 h 30 min à température ambiante, puis de l'eau glacée est additionnée et la solution est diluée dans le CH₂Cl₂. La phase aqueuse est extraite trois fois puis la phase organique est lavée avec une solution de NaCl saturée, séchée sur MgSO₄ et concentrée. Le composé **33** (50 mg, 78%) est obtenu sous forme d'une huile incolore et engagé directement dans l'étape suivante.

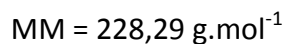
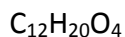
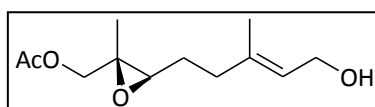
RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃): δ 5.47 (1H, dt, J_{1,2} = 6.5 Hz, H₂), 4.16 (2H, d, J_{1,2} = 6.5 Hz, H₁), 3.57 (2H, s, CH₂Cl), 2.86 (1H, dt, J_{5,6} = 6.5 Hz, H₆), 2.18 (2H, m, H₅), 1.71 (3H, s, H₉ ou H₁₀), 1.68 (2H, m, H₄), 1.66 (1H, brs, OH), 1.27 (3H, s, H₁₀ ou H₉), 0.90 (9H, s, C(CH₃)₃), 0.06 (3H, s, CH₃Si), 0.05 (3H, s, CH₃Si).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 138.9 (C₃), 124.0 (C₂), 67.8 (C₈), 60.9 (C₇), 60.5 (C₆), 59.2 (C₁), 36.2 (C₄), 26.6 (C₅), 25.8 (C(CH₃)₃), 18.3 (C(CH₃)₃), 16.5, 14.2 (C₉ ou C₁₀), -5.3 (CH₃Si).

IR (Diamant ATR): 3407, 1953, 1094, 835, 776, 666 (cm⁻¹).

m/z 323 [M+Na]⁺.

[α]_D +8.8 (c 0.50, CHCl₃).

Acétate de 3-(5-hydroxy-3-méthyl-pent-3-ènyl)-2-méthyl-oxiranylméthyl**(Composé 34)**

Le composé **34** est obtenu selon le même protocole que le composé **33** à partir du composé **32** (1,64 mmol, 500 mg). Le composé **34** obtenu sans autre purification (332 mg, 89%) sous forme d'une huile incolore.

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 5.46 (1H, dt, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, H_2), 4.16 (2H, d, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, H_1), 4.05 (2H, ABq, $J_{8A,8B} = 12.0$ Hz, H_8), 2.88 (1H, t, $J_{5,6} = 6.5$ Hz, H_6), 2.19 (2H, m, H_5), 2.10 (3H, s, CH_3CO), 1.71 (2H, m, H_4), 1.70, 1.31 (2x3H, 2s, $\text{H}_9, \text{H}_{10}$).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 170.9 (CO), 138.1 (C_3), 124.5 (C_2), 68.5 (C_8), 61.2 (C_6), 59.5 (C_7), 58.6 (C_1), 36.2 (C_4), 26.5 (C_5), 21.0 (CH_3CO), 16.4, 14.6 ($\text{C}_9, \text{C}_{10}$).

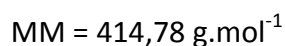
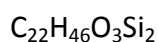
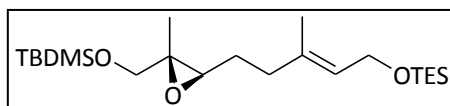
IR (Diamant ATR): 3398, 1924, 1722, 1094 (cm^{-1}).

m/z 250.5 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

$[\alpha]_D$ +6,3 (c 0.90, CHCl_3).

**2-(tert-Butyl-diméthyl-silanyloxyméthyl)-2-méthyl-3-(3-méthyl-5-triéthylsilanyloxy-pent-3-
 ènyl)-oxirane**

(Composé 35)



Le composé **35** est obtenu selon le même protocole que le composé **20** à partir du composé **33** (1,66 mmol, 500 mg). Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 19/1) pour donner **35** (670 mg, 97 %) sous forme d'un liquide jaune pâle.

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃): δ 5.37 (1H, t, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, H₂), 4.18 (2H, d, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, H₁), 3.57 (2H, s, H₈), 2.85 (1H, t, $J_{5,6} = 6.5$ Hz, H₆), 2.15 (2H, m, H₅), 1.68 (2H, m, H₄), 1.58, 1.26 (2x3H, 2s, H₉, H₁₀), 0.96 (9H, t, $J = 7.5$ Hz, CH₃), 0.89 (9H, m, C(CH₃)₃), 0.62 (6H, q, $J = 7.5$ Hz, CH₂Si), 0.06 (3H, CH₃Si), 0.05 (3H, s, CH₃Si).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 136.2, (C₃), 124.7 (C₂), 67.8 (C₈), 61.1 (C₇), 60.5 (C₆), 59.6 (C₁), 36.1 (C₄), 26.7 (C₅), 25.8 (C(CH₃)₃), 18.3 (C(CH₃)₃), (16.3 (C₁₀), 14.1 (C₉), 6.7 (CH₃), 4.7 (CH₂Si), -5.3 (CH₃Si).

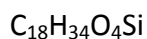
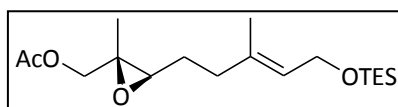
IR (diamant ATR): 2958, 1719, 1223, 829 (cm⁻¹).

m/z 437.5 [M+Na]⁺.

[α]_D +3,2 (c 0.90, CHCl₃).

Acétate de 2-méthyl-3-(3-méthyl-5-triéthylsilanyloxy-pent-3-ényl)-oxiranylméthyl

(Composé 36)



$$\text{MM} = 342,56 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

Le composé **36** est obtenu selon le même protocole que le composé **20** à partir de **34** (1,44 mmol, 330 mg). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 9/1) pour donner **36** (238 mg, 48%) sous forme d'une huile incolore.

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 5.37 (1H, t, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, H_2), 4.17 (2H, d, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, H_1), 4.04 (2H, ABq, $J_{8A,8B} = 12.0$ Hz, H_8), 2.88 (1H, t, $J_{5,6} = 6.5$ Hz, H_6), 2.20 (2H, m, H_5), 2.09 (3H, s, CH_3CO), 1.68 (2H, m, H_4), 1.66, 1.31 (2x3H, 2s, $\text{H}_9, \text{H}_{10}$), 0.96 (9H, t, $J = 7.5$ Hz, CH_3), 0.58 (6H, q, $J = 7.5$ Hz, CH_2Si).

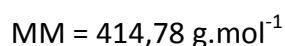
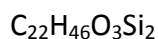
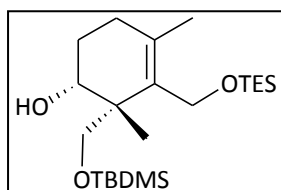
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 171.2 (CO), 136.4 (C_3), 125.5 (C_2), 69.0 (C_8), 61.5 (C_6), 60.1 (C_7), 59.0 (C_1), 36.5 (C_4), 26.9 (C_5), 21.3 (CH_3CO), 16.4, 14.6 ($\text{C}_9, \text{C}_{10}$), 7.3 (CH_3), 5.0 (CH_2Si).

IR (diamant ATR): 2976, 1725, 1328, 1041, 927 (cm^{-1}).

m/z 365.5 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

$[\alpha]_D$ +3,8 (c 1.00, CHCl_3).

2-(tert-Butyl-diméthyl-silanyloxyméthyl)-2,4-diméthyl-3-triéthylsilanyloxyméthyl-cyclohex-3-ène (Composé 37)



Le composé **37** est obtenu selon le même protocole que les composés **23**, **24** et **25** à partir de **35** (0,72 mmol, 300 mg). Une chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 1/1) donne **37** (57 mg, 20%) sous forme d'un solide blanc.

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 4.07 (2H, ABq, $J_{\text{AB}} = 11.5$ Hz, CH_2OTES), 4.04 (1H, brs, OH), 3.87 (1H, dd, $J_{1,6\text{A}} = 10.0$ Hz, $J_{1,6\text{B}} = 5.0$ Hz, H_1), 3.78 (2H, ABq, $J_{\text{AB}} = 10.0$ Hz, CH_2OTBDMS), 2.32-1.72 (4H, m, H_5 , H_6), 1.68 (3H, s, CH_3), 1.09 (3H, s, CH_3), 0.98 (9H, t, $J = 7.5$ Hz, CH_3), 0.92 (9H, t, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.64 (6H, t, $J = 7.5$ Hz, CH_2Si), 0.08 (6H, s, CH_2Si).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 134.6, 132.0 (C_3 , C_4), 75.4 (C_1), 73.2 (CH_2OTBDMS), 58.4 (CH_2OTES), 43.4 (C_2), 31.3, 25.9 (C_5 , C_6), 25.8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 19.2 (CH_3), 18.1 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 15.9 (CH_3), 6.9 (CH_3), 4.3 (CH_2Si), -5.6 (CH_3Si).

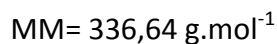
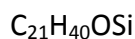
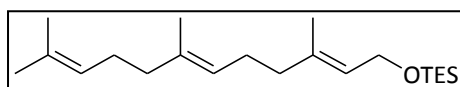
IR (diamant ATR): 3461, 3315, 2987, 1687, 1203, 1017 (cm^{-1}).

m/z 365.5 ($\text{M}+\text{Na}^+$).

$[\alpha]_{\text{D}}$ +17,7 (c 0.73, CHCl_3).

Triéthyl-(3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triényloxy)-silane

(Composé 38)



Le composé **38** est obtenu selon le même protocole que le composé **20** à partir du farnesol (9 mmol, 2g). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH_2Cl_2 /acétone 9/1) pour donner **38** (2,82 g, 93%) sous forme d'une huile incolore.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : δ 5.31 (1H, dt, $J_{1,2} = 6.5 \text{ Hz}$, $J_{2,14} = 1.0 \text{ Hz}$, H_2), 5.07 (2H, dt, $J_{5,6}$, $J_{9,10} = 6.5 \text{ Hz}$, $J_{6,13}$, $J_{10,12} = 1.0 \text{ Hz}$, H_6 , H_{10}), 4.15 (2H, d, $J_{1,2} = 6.5 \text{ Hz}$, H_1), 2.11-1.93 (8H, m, H_4 , H_5 , H_8 , H_9), 1.66, 1.58 (12H, 2s, H_{12} , $\text{H}_{12'}$, H_{13} , H_{14}), 0.95 (9H, t, $J = 7.5 \text{ Hz}$, $3\times\text{CH}_3$), 0.59 (6H, q, $J = 7.5 \text{ Hz}$, $3\times\text{CH}_2\text{Si}$).

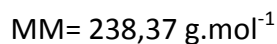
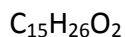
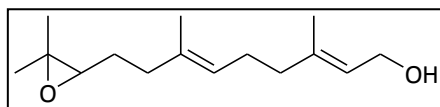
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : δ 137.2, 135.2, 131.3 (C_3 , C_7 , C_{11}), 124.3, 124.2, 123.9 (C_2 , C_6 , C_{10}), 59.8 (C_1), 39.7, 31.9, 26.7, 26.3 (C_4 , C_5 , C_8 , C_9), 25.7, 23.4, 17.6, 16.3 (C_{12} , $\text{C}_{12'}$, C_{13} , C_{14}), 6.77(CH_3), 4.5 (CH_2Si).

IR (diamant ATR): 2962, 1728, 1057, 1000, 726 (cm^{-1}).

m/z 359 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

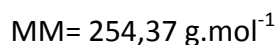
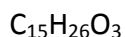
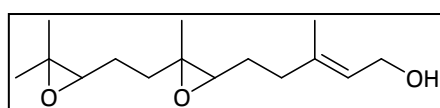
9-(3,3-Diméthyl-oxiranyl)-3,7-diméthyl-nona-2,6-diène-1-ol

(Composé 39)



5-{3-[2-(3,3-Diméthyl-oxiranyl)-éthyl]-3-méthyl-oxiranyl}-3-méthyl-pent-2-ène-1-ol

(Composé 40)



Les composés **39** et **40** sont obtenus selon le même protocole que le composé **16** à partir du composé **38** (2,97 mmol, 670 mg). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH_2Cl_2 pur puis avec acétone 1%, 5%, 10%) pour donner les composés **39** (209 mg, 29%) et **40** (68 mg, 9%) sous forme d'huiles incolores.

Composé 39

RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3$) : δ 5.41 (1H, t, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, H_2), 5.16 (1H, m, H_6), 4.15 (2H, d, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, H_1), 2.70 (1H, t, $J_{9,10} = 6.5$ Hz, H_{10}), 2.12-2.05 (6H, m, H_4 , H_5 , H_8), 1.70 (2H, m, H_9), 1.67, 1.62 (2x3H, 2s, H_{12} et $H_{12'}$), 1.30, 1.26 (2x3H, 2s, H_{13} et H_{14}).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) : δ 139.2 (C_7), 134.4 (C_3), 124.5 (C_2), 123.7 (C_6), 64.1 (C_{10}), 59.29 (C_{11}), 58.3 (C_1), 39.4 (C_4), 36.3 (C_8), 27.3 (C_9), 26.2 (C_5), 24.8 (C_{12A}), 18.8 (C_{12B}), 16.2 (C_{14}), 15.9 (C_{13}).

IR (diamant ATR): 3403, 2957, 1711, 1336, 1042 (cm^{-1}).

m/z 239.5 $[M+H]^+$.

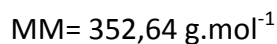
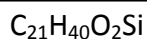
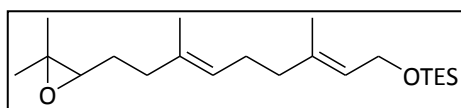
Composé 40

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃) : δ8.84 (1H, bs, OH), 5.47 (1H, t, J_{1,2} = 7.0 Hz, H₂), 5.17 (2H, J_{1,2} = 7.0 Hz, H₁), 2.77 (2H, m, H₆, H₁₀), 2.18-1.97 (4H, m, H₄, H₈), 1.78-1.61 (10H, m, H₅, H₉, H₁₂, H_{12'}), 1.28, 1.19 (2x3H, 2s, H₁₃ et H₁₄).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ138.5 (C₃), 124.3 (C₂), 64.1 (C₁₀), 62.9 (C₆), 60.5 (C₇), 59.4 (C₁₁), 58.7 (C₁), 36.4 (C₄), 35.3 (C₈), 27.0 (C₅), 24.9 (C_{12A}), 24.7 (C₉), 18.8 (C_{12B}), 16.9 (C₁₄), 16.4 (C₁₃).

IR (diamant ATR): 3423, 2928, 1702, 1268, 1104 (cm⁻¹).

m/z 255.5 [M+H]⁺.

9-(3,3-Diméthyl-oxiranyl)-3,7-diméthyl-nona-2,6-diényloxy-triéthyl-silane**(Composé 41)**

Le composé **41** est obtenu selon le même protocole que le composé **20** à partir du composé **39** (0,83 mmol, 200 mg). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 9/1) pour donner le composé **41** (173 mg, 59%) sous forme d'une huile incolore.

RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) : δ 5.44 (1H, t, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, H_2), 5.26 (1H, t, $J_{5,6} = 6.5$ Hz, H_6), 5.27 (2H, d, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, H_1), 2.80 (1H, t, $J_{9,10} = 6.5$ Hz, H_{10}), 2.21-2.10 (6H, m, H_4 , H_5 , H_8), 1.78 (2H, m, H_9), 1.72, 1.68 (6H, 2s, H_{13} , H_{14}), 1.40, 1.35 (2x3H, 2s, H_{12} et $\text{H}_{12'}$), 1.05 (9H, t, $J = 8.0$ Hz, 3x CH_3), 0.71 (6H, q, $J = 8.0$ Hz, 3x CH_2Si).

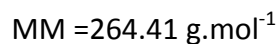
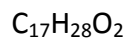
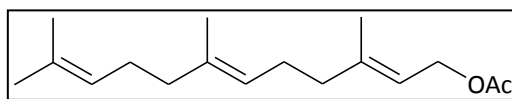
RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3) : δ 137.8, 137.3 (C_3 , C_7), 124.8, 124.4 (C_2 , C_6), 64.4 (C_{10}), 60.0 (C_1), 58.5 (C_{11}), 39.7, 36.5, 27.6, 26.5 (C_4 , C_5 , C_8 , C_9), 25.1, 23.6, 18.9, 16.5 (C_{12} , $\text{C}_{12'}$, C_{13} , C_{14}), 7.0 (CH_3), 4.7 (CH_2Si).

IR (diamant ATR): 2945, 1711, 1388, 897 (cm^{-1}).

m/z 374.5 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

Acétate de 3,7,11-triméthyl-dodeca-2,6,10-triènyle

(Composé 42)



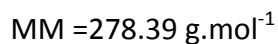
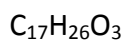
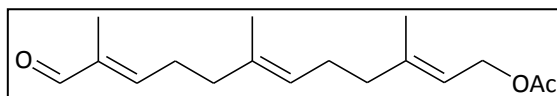
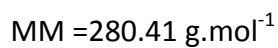
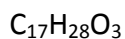
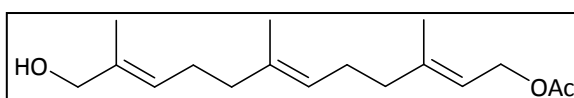
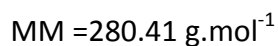
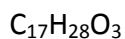
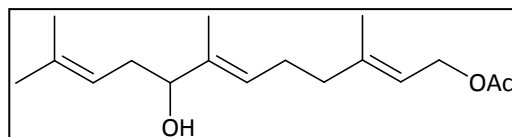
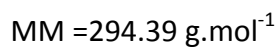
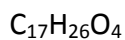
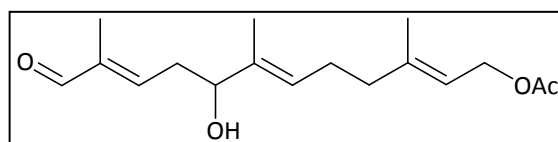
Le composé **42** est obtenu selon le même protocole que le composé **11** à partir du farnesol (9 mmol, 2g). Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 1/19) donne l'alcool protégé **42** (2,4 g, 100%) sous la forme d'un liquide transparent.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.36 (1H, t, $J_{1,2} = 7.0$ Hz, H_2), 5.09 (2H, H_6 , H_{10}), 4.58 (2H, d, $J_{1,2} = 7.0$ Hz, H_1), 2.10-1.94 (8H, m, H_4 , H_5 , H_8 , H_9), 2.05 (3H, s, CH_3 OAc), 1.76-1.55 (12H, 4xs, 2x H_{12} , H_{13} , H_{14}).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 171.1 (CO), 142.2, 136.1, 135.5 (C_3 , C_7 , C_{11}), 124.7, 124.3 (C_6 , C_{10}), 118.3 (C_2), 61.4 (C_1), 39.3, 32.4, 26.1, 25.6 (C_4 , C_5 , C_8 , C_9), 21.1, 17.5, 16.4, 13.6 (C_{12} , C_{13} , C_{14} , C_{15}).

IR (diamant ATR): 2970, 1728, 1221, 1023 (cm^{-1}).

m/z 287 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

Acétate de 3,7,11-triméthyl-12-oxo-dodéca-2,6,10-triènyl**(Composé 43)****Acétate de 12-hydroxy-3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triènyl****(Composé 44)****Acétate de 8-hydroxy-3,7,11-triméthyl-dodéca-2,6,10-triènyl****(Composé 45)****Acétate de 8-hydroxy-3,7,11-triméthyl-12-oxo-dodéca-2,6,10-triènyl****(Composé 46)**

A une solution de dioxyde de sélénium (0,5 éq., 0,75 mmol, 84 mg) dans 5 mL de CH₂Cl₂ est ajouté 1,1 mL de solution de *tert*butylhydroperoxyde 5M dans le décane (3,6 éq., 5,44 mmol) à température ambiante. L'acétate **42** (1,51 mmol, 400 mg) est ensuite ajouté et la solution est agitée 1 h à température ambiante. Elle est alors diluée dans le CH₂Cl₂ et lavée avec une solution saturée de NaHCO₃. La phase aqueuse est extraite au CH₂Cl₂, les phases organiques sont rassemblées, lavées deux fois à l'eau puis avec une solution de NaCl saturée, séchées sur MgSO₄ et concentrées. Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 1/9) donne l'aldéhyde **43** (30 mg, 7%), l'alcool allylique **44** (43 mg, 10%), l'alcool allylique **45** (6 mg, 1%) et l'aldéhyde **46** (52 mg, 12%) sous la forme de liquides transparents.

Composé 43

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 9.39 (1H, s, H₁₂), 6.46 (1H, dt, J_{5,6} = 7.5 Hz, J_{6,10} = 1.5 Hz, H₁₀), 5.34 (1H, m, H₂ ou H₆), 5.16 (1H, m, H₆ ou H₂), 4.57 (2H, d, J_{1,2} = 7.5 Hz, H₁), 2.45 (2H, dt, J_{8,9}, J_{9,10} = 7.5 Hz, H₉), 2.21-2.05 (6H, m, H₄, H₅, H₈), 2.05 (3H, s, CH₃ OAc), 1.76 (3H, s, H₁₅), 1.70, 1.63 (2x3H, 2xs, H₁₃, H₁₄).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 194.9 (C₁₂), 170.8 (CO), 153.3 (C₁₀), 141.1, 140.2, 139.5 (C₃, C₇, C₁₁), 125.8, 119.5 (C₂, C₆), 60.9 (C₁), 37.6, 32.5, 26.8, 25.6 (C₄, C₅, C₈, C₉), 20.8 (CH₃ OAc), 16.4, 15.9 (C₁₃, C₁₄), 9.2 (C₁₅).

IR (diamant ATR): 3464, 2949, 2851, 2748, 1719, 1237, 1021 (cm⁻¹).

m/z 279 [M+H]⁺, 301 [M+Na]⁺.

Composé 44

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5.40-5.32, 5.11 (3x1H, 3xm, H₂, H₆, H₁₀), 4.58 (2H, d, J_{1,2} = 7.5 Hz, H₁), 3.99 (2H, s, H₁₂), 2.17-1.99 (4x2H, m, H₄, H₅, H₈, H₉), 2.05 (3H, s, CH₃ OAc), 1.70, 1.67, 1.61 (3x3H, 3xs, H₁₃, H₁₄, H₁₅).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 171.1 (CO), 142.1, 135.3, 135.0 (C_3 , C_7 , C_{11}), 125.7, 124.6, 118.2 (C_2 , C_6 , C_{10}), 68.8 (C_{12}), 61.3 (C_1), 39.2, 32.0, 26.1 (C_4 , C_5 , C_8 , C_9), 20.9 (CH_3 OAc), 23.4, 16.4 et 13.6 (C_{13} , C_{14} , C_{15}).

IR (diamant ATR): 3403, 2974, 1732, 1225 (cm^{-1}).

m/z 303 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

Composé 45

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.37-5.31, 5.08 (3x1H, m, H_2 , H_6 , H_{10}), 4.57 (2H, d, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, H_1), 3.97 (1H, t, $J_{8,9} = 7.5$ Hz, H_8), 2.16-2.08 (3x2H, m, H_4 , H_5 , H_9), 2.04 (3H, s, CH_3 OAc), 1.71, 1.70, 1.63, 1.61 (4x3H, 4xs, H_{12} , H_{13} , H_{14} , H_{15}).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 171.2 (CO), 141.9, 141.3, 136.2 (C_3 , C_7 , C_{11}), 127.2, 126.6, 118.4 (C_2 , C_6 , C_{10}), 74.8 (C_8), 61.1 (C_1), 39.4, 34.1, 27.1 (C_4 , C_5 , C_9), 20.9 (CH_3 OAc), 24.3, 17.8, 16.3, 11.7 (C_{12} , C_{13} , C_{14} , C_{15}).

IR (diamant ATR): 3424, 2925, 1718, 1335, 1189 (cm^{-1}).

m/z 303 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

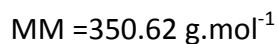
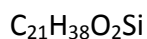
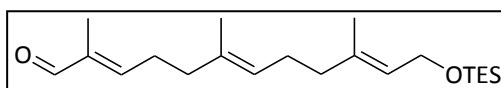
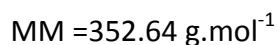
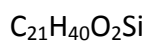
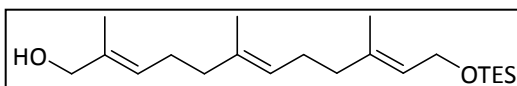
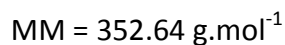
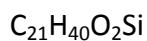
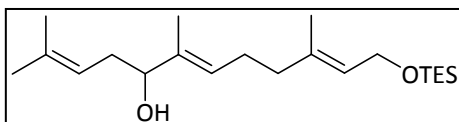
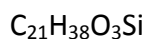
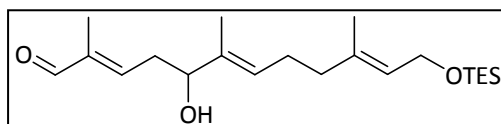
Composé 46

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 9.40 (1H, s, H_{12}), 6.52 (1H, t, $J_{9,10} = 7.5$ Hz, H_{10}), 5.45-5.30 (2x1H, m, H_2 , H_6), 4.58 (2H, d, $J_{1,2} = 7.0$ Hz, H_1), 4.19 (2H, t, $J_{8,9} = 7.0$ Hz, H_8), 2.61-2.07 (3x2H, m, H_4 , H_5 , H_9), 2.05 (3H, s, CH_3 OAc), 1.78, 1.70, 1.65 (3x3H, 3xs, H_{13} , H_{14} , H_{15}).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 195.1 (C_{12}), 171.2 (CO), 150.6 (C_{10}), 141.4, 141.3, 136.8 (C_3 , C_7 , C_{11}), 126.3, 118.9 (C_2 , C_6), 73.9 (C_8), 61.3 (C_1), 38.8, 34.5, 26.5 (C_4 , C_5 , C_9), 20.9 (CH_3 OAc), 16.4, 11.6, 9.4 (C_{13} , C_{14} , C_{15}).

IR (diamant ATR): 3458, 2952, 2841, 2722, 1721, 1317 (cm⁻¹).

m/z 317 [M+Na]⁺.

2,6,10-Triméthyl-12-triéthylsilanyloxy-dodéca-2,6,10-trièneal**(Composé 47)****2,6,10-Triméthyl-12-triéthylsilanyloxy-dodéca-2,6,10-triène-1-ol****(Composé 48)****2,6,10-Triméthyl-12-triéthylsilanyloxy-dodéca-2,6,10-triène-5-ol****(Composé 49)****5-Hydroxy-2,6,10-triméthyl-12-triéthylsilanyloxy-dodéca-2,6,10-trièneal****(Composé 50)**

Les composés **47** à **50** sont préparés selon le même protocole que les composés **43** à **46** à partir du composé **38** (1,48 mmol, 500 mg). Une purification par chromatographie sur gel de

silice (AcOEt/EP 1/9) donne l'aldéhyde **47** (13 mg, 3%), l'alcool allylique **48** (14 mg, 3%), l'alcool allylique **49** (15 mg, 3%) et l'aldéhyde **50** (6 mg, 1%) sous la forme de liquides transparents.

Composé 47

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 9.38 (1H, s, H₁), 6.46 (1H, dt, J_{3,4} = 7.5 Hz, J_{3,13} = 1.5 Hz, H₃), 5.35 (1H, m, H₇ ou H₁₁), 5.16 (1H, m, H₁₁ ou H₇), 4.16 (2H, d, J_{11,12} = 7.5 Hz, H₁₂), 2.46 (2H, dt, J_{3,4}, J_{4,5} = 7.5 Hz, H₄), 2.21-2.00 (6H, m, H₅, H₈, H₉), 1.74, 1.63, 1.58 (3x3H, 3s, H₁₃, H₁₄, H₁₅), 0.96 (9H, t, J = 7.5 Hz, 3xCH₃), 0.64 (6H, q, J = 7.5 Hz, CH₂Si).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 192.7 (C₁₂), 151.2 (C₃), 137.1, 136.2, 134.5 (C₂, C₆, C₁₀), 126.5, 125.2 (C₃, C₇), 61.8 (C₁₂), 39.4, 38.6, 26.2, 25.7 (C₄, C₅, C₈, C₉), 16.5, 14.2, 10.5 (C₁₃, C₁₄, C₁₅), 6.3 (CH₃), 4.5 (CH₂Si).

IR (diamant ATR): 2966, 2872, 2738, 1711, 1062, 1021 (cm⁻¹).

m/z 352[M+H]⁺

Composé 48

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5.40-5.30, 5.10 (3x1H, 3xm, H₃, H₇, H₁₁), 4.20 (2H, d, J_{11,12} = 6.5 Hz, H₁₂), 3.99 (2H, s, H₁), 2.26-2.05 (4x2H, m, H₄, H₅, H₈, H₉), 1.71, 1.64, 1.62 (3x3H, 3s, H₁₃, H₁₄, H₁₅), 0.96 (9H, t, J = 7.5 Hz, 3xCH₃), 0.64 (6H, q, J = 7.5 Hz, CH₂Si).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 136.5, 136.4, 134.9 (C₂, C₆, C₁₀), 125.8, 124.8, 124.6 (C₃, C₇, C₁₁), 69.5 (C₁), 60.9 (C₁₂), 40.0, 39.8, 27.0, 26.7 (C₄, C₅, C₈, C₉), 23.9, 16.5, 14.2 (C₁₃, C₁₄, C₁₅), 6.8 (CH₃), 4.5 (CH₂Si).

IR (diamant ATR): 3427, 2945, 1711, 1380 (cm⁻¹).

m/z 354 [M+H]⁺

Composé 49

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5.40-5.30, 5.08 (3x1H, m, H₃, H₇, H₁₁), 4.14 (2H, d, J_{11,12} = 7.5 Hz, H₁₂), 3.97 (1H, t, J_{4,5} = 7.5, H₅), 2.26-2.09 (3x2H, m, H₄, H₈, H₉), 1.73, 1.64, 1.58 (4x3H, 4s, H₁, H₁₃, H₁₄, H₁₅), 0.97 (9H, t, J = 7.5 Hz, 3xCH₃), 0.61 (6H, q, J = 7.5 Hz, CH₂Si).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 138.4, 137.8, 136.3 (C₂, C₆, C₁₀), 126.1, 125.2, 124.8 (C₃, C₇, C₁₁), 72.9 (C₅), 60.3 (C₁), 39.1, 37.4, 28.1 (C₄, C₈, C₉), 24.3, 17.2, 16.7, 14.5 (C₁₂, C₁₃, C₁₄, C₁₅), 6.7 (CH₃), 4.5 (CH₂Si).

IR (diamant ATR): 3432, 2948, 1711, 1382 (cm⁻¹).

m/z 354 [M+H]⁺

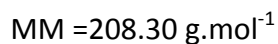
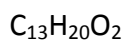
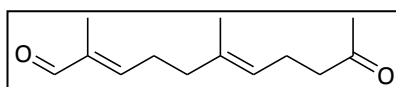
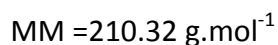
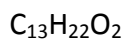
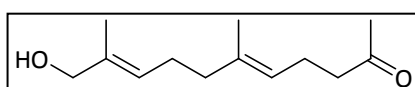
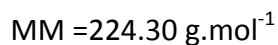
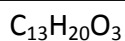
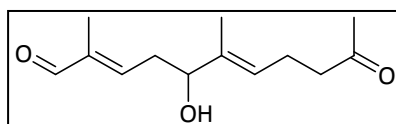
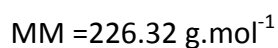
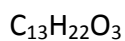
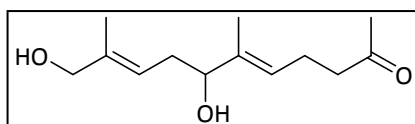
Composé 50

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 9.33 (1H, s, H₁), 5.41-5.10 (3x1H, m, H₃, H₇, H₁₁), 4.16 (2H, d, J_{11,12} = 7.0 Hz, H₁₂), 3.99 (2H, m, H₅), 2.08-2.04 (3x2H, m, H₄, H₈, H₉), 1.72, 1.68, 1.63 (3x3H, 3xs, H₁₃, H₁₄, H₁₅), 0.96 (9H, t, J = 7.5 Hz, 3xCH₃), 0.61 (6H, q, J = 7.5 Hz, CH₂Si).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 192.8 (C₁), 150.9 (C₃), 140.4, 137.3, 136.2 (C₃, C₇, C₁₁), 125.3, 122.9 (C₂, C₆), 75.5 (C₅), 60.1 (C₁), 39.2, 34.1, 26.6 (C₄, C₈, C₉), 17.4, 11.4, 9.2 (C₁₃, C₁₄, C₁₅), 6.8 (CH₃), 4.6 (CH₂Si).

IR (diamant ATR): 2962, 2842, 2737, 1712, 1038 (cm⁻¹).

m/z 390 [M+Na]⁺

2,6-Diméthyl-10-oxo-undéca-2,6-dièneal**(Composé 51)****11-Hydroxy-6,10-diméthyl-undéca-5,9-diène-2-one****(Composé 52)****5-Hydroxy-2,6-diméthyl-10-oxo-undéca-2,6-dièneal****(Composé 53)****7,11-Dihydroxy-6,10-diméthyl-undéca-5,9-diène-2-one****(Composé 54)**

Le géranylacétone (32,3 mmol, 6,28 g) est additionné à une solution de dioxyde de sélénium (0,5 éq., 16,1 mmol, 1,79 g) et de *tert*butylhydroperoxyde 70% dans l'eau (2 éq. 64,6 mmol,

8,88 mL) dans 100 mL de CH_2Cl_2 à 4°C. La solution est agitée 38 h à 4°C. Une solution de NaHCO_3 saturée est additionnée, la phase aqueuse est extraite deux fois, la phase organique est lavée avec une solution de NaCl saturée, séchée sur MgSO_4 et concentrée. Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 1:5, puis 1:3, puis 1:1) donne les composés **51** (605 mg, 9%), **52** (3,59 g, 53%), **53** (36 mg, 0.5%) et **54** (512 mg, 7%) et du géranylacétone de départ (1,3 g 21%) sous forme de liquides transparents.

Composé 51

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 9.39 (s, 1H, H_1), 6.46 (1H, t, $J_{3,4} = 7.0$ Hz, H_3), 5.12 (1H, $J_{7,8} = 7.0$ Hz, H_7), 2.48-2.42 (4H, m, H_4 , H_9), 2.26-2.16 (4H, m, H_5 , H_8) 2.13 (3H, s, H_{11}), 1.69 (3H, s, H_{12}), 1.62 (3H, s, H_{13}).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 208.5 (C_{10}), 195.2 (C_1), 154.2 (C_3), 139.5 (C_2), 134.7 (C_6), 124.0 (C_7), 43.5 (C_9), 37.9 (C_5), 29.9 (C_{11}), 27.3 (C_4), 22.3 (C_8), 15.8 (C_{13}), 9.2 (C_{12}).

IR (Diamant ATR): 2974, 2851, 2756, 1715, 1372, 1168, 1074 (cm^{-1}).

m/z 231 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

Composé 52

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.36 (1H, t, $J_{8,9} = 7.0$ Hz, H_9), 5.06 (1H, $J_{4,5} = 7.0$ Hz, H_5), 3.99 (2H, s, H_{11}), 2.49-2.42 (2H, m, H_4), 2.31-2.24 (2H, m, H_8), 2.17-1.98 (4H, m, H_3 , H_7), 2.13 (3H, s, H_1), 1.67 (3H, s, H_{12}), 1.62 (3H, s, H_{13}).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 208.4 (C_2), 138.6 (C_{10}), 135.1 (C_6), 126.3 (C_9), 124.0 (C_7), 69.3 (C_{11}), 43.8 (C_3), 38.6 (C_7), 29.9 (C_1), 26.7 (C_8), 22.5 (C_4), 16.2 (C_{12}), 11.4 (C_{13}).

IR (Diamant ATR): 3419, 2970, 1707, 1368, 1062 (cm^{-1}).

m/z 211 [M+H]⁺, 233 [M+Na]⁺.

Composé 53

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ9.39 (s, 1H, H₁), 6.51 (1H, t, J_{3,4} = 7.0 Hz, H₃), 5.41 (1H, J_{7,8} = 7.0 Hz, H₇), 4.19 (1H, t, J_{4,5} = 7.0 Hz, H₅), 2.59 (2H, dt, J_{4,5} = J_{3,4} = 7.0 Hz, H₄), 2.51 (2H, t, J_{8,9} = 7.0 Hz, H₉), 2.32 (2H, m, H₈), 2.14 (3H, s, H₁₁), 1.75 (3H, s, H₁₂), 1.67 (3H, s, H₁₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ208.2 (C₁₀), 195.2 (C₁), 150.4 (C₃), 140.6 (C₂), 137.5 (C₆), 125.2 (C₇), 75.9 (C₅), 43.1 (C₉), 34.5 (C₄), 29.9 (C₁₁), 21.8 (C₈), 11.6 (C₁₃), 9.2 (C₁₂).

IR (Diamant ATR): 3452, 2932, 2851, 2748, 1712, 1171, 1068 (cm⁻¹).

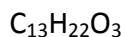
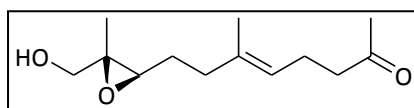
m/z 247 [M+Na]⁺.

Composé 54

spectres difficiles à décrire à la fois par la présence de plusieurs isomères cis trans du géranylacétone commercial et à la stéréochimie de l'alcool en C₇.

IR (Diamant ATR): 3421, 2984, 1711, 1368, 1074 (cm⁻¹).

m/z 227 [M+H]⁺.

8-(3-Hydroxyméthyl-3-méthyl-oxiranyl)-6-méthyl-oct-5-èn-2-one**(Composé 55)**

$$MM = 226,32 \text{ g.mol}^{-1}$$

Le composé **55** est obtenu selon le même protocole que le composé **14** à partir du composé **52** (5 mmol, 1,05 g). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 1/1) pour donner **55** (734 mg, 66%) sous forme d'un liquide transparent.

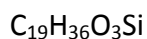
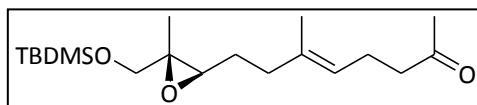
RMN ^1H (250 MHz, $CDCl_3$): δ 5.10 (1H, m, H₅), 3.60 (2H, m, H₁₁), 2.99 (1H, t, J_{8,9} = 6.5 Hz, H₉), 2.44 (2H, t, J_{3,4} = 7.5 Hz, H₃), 2.25 (2H, q, J_{3,4}, J_{4,5} = 7.5 Hz, H₄), 2.17-2.07 (2H, m, H₇), 2.11 (3H, s, H₁), 1.83 (1H, dd, J_{11,OH} = 8.5 Hz, OH), 1.67-1.62 (2H, m, H₈), 1.60 (3H, s, H₁₃), 1.25 (3H, s, H₁₂).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): δ 208.7 (C₂), 135.2 (C₆), 124.3 (C₅), 65.3 (C₁₁), 60.8 (C₁₀), 59.7 (C₉), 43.6 (C₃), 29.9 (C₁), 28.4 (C₇), 26.5 (C₈), 23.2 (C₁₃), 22.2 (C₄), 14.2 (C₁₂).

IR (Diamant ATR): 3424, 2978, 1703, 1372, 1008 (cm⁻¹).

m/z 227 [M+H]⁺, 249 [M+Na]⁺.

[α]_D +2,6 (c 1.20, CHCl₃).

8-[3-(tert-Butyl-diméthyl-silanyloxyméthyl)-3-méthyl-oxiranyl]-6-méthyl-oct-5-èn-2-one**(Composé 56)**

Le composé **56** est obtenu selon le même protocole que le composé **26** à partir du composé **55** (3,2 mmol, 724 mg). Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 9/1) pour donner **56** (809 mg, 74%) sous forme d'un liquide transparent.

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 5.10 (1H, t, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, H_5), 3.54 (2H, s, H_{11}), 2.82 (1H, t, $J_{8,9} = 6.0$ Hz, H_9), 2.43 (2H, t, $J_{3,4} = 7.5$ Hz, H_3), 2.25 (2H, dt, $J_{4,5} = 5.0$ Hz, $J_{3,4} = 7.5$ Hz, H_4), 2.17-2.03 (2H, m, H_7), 2.11 (3H, s, H_1), 1.63-1.58 (2H, m, H_8), 1.62 (3H, s, H_{12}), 1.25 (3H, s, H_{13}), 0.88 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.05 et 0.04 (2xH, 2xs, 2x CH_3Si).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 208.6 (C_2), 135.4 (C_6), 123.2 (C_5), 67.8 (C_{11}), 64.7 (C_{10}), 60.6 (C_9), 43.7 (C_3), 29.9 (C_1), 28.3 (C_7), 26.8 (C_8), 25.8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 23.3 (C_{12}), 22.4 (C_4), 18.3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 14.2 (C_{13}).

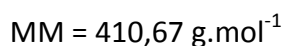
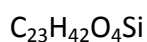
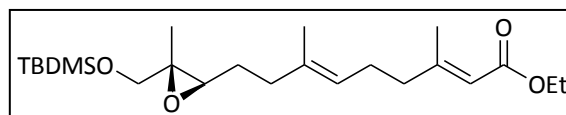
IR (Diamant ATR): 2953, 2937, 1715, 1245, 1082, 832 (cm^{-1}).

m/z 342 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

$[\alpha]_D$ +2,1 (c 1.30, CHCl_3).

9-[3-(tert-Butyl-diméthyl-silanyloxyméthyl)-3-méthyl-oxiranyl]-3,7-diméthyl-nona-2,6-diénoate d'éthyl

(Composé 57)



A une solution de NaH 60% dans l'huile (2 éq., 4,72 mmol, 189 mg) dans 25 mL de THF distillé, sont successivement additionnés sous argon, à 0°C, le diéthylphosphonate (2 éq., 4,72 mmol, 0,94 mL) et le composé **56** (2,36 mmol, 804 mg). La solution est agitée 60 h à température ambiante. Elle est ensuite traitée avec de l'eau, diluée dans l'AcOEt. La phase aqueuse est extraite deux fois, la phase organique est lavée avec une solution de NaCl saturée, séchée sur MgSO₄ et concentrée. Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 1/15) donne le composé **57** (560 mg, 58%) sous la forme d'un liquide transparent.

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃): δ 5.63 (1H, s, H₂), 5.12 (1H, m, H₆), 4.12 (2H, q, J = 7.0 Hz, OCH₂), 3.55 (2H, s, H₁₂), 2.82 (1H, t, J_{8,9} = 6.0 Hz, H₁₀), 2.13-2.04 (9H, m, H₄, H₅, H₈), 1.68 (3H, s, H₁₄), 1.61-1.54 (2H, m, H₉), 1.60 (3H, s, H₁₅), 1.24 (3H, t, J = 7.0 Hz, CH₃CH₂), 0.87 (9H, s, C(CH₃)₃), 0.04, 0.03 (2x3H, 2s, 2xCH₃Si) .

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 193.1 (C=O), 135.2 (C₇), 125.5 (C₃), 123.5 (C₆), 115.5 (C₂), 67.8 (C₁₂), 60.6 (C₁₁), 60.4 (C₁₀), 59.5 (OCH₂), 40.9 (C₄), 28.8 (C₈), 27.2 (C₉), 25.8 (C(CH₃)₃), 25.5 (C₅), 22.9 (C₁₃), 18.7 (C₁₄), 18.3 (C(CH₃)₃), 15.7 (C₁₅), 14.3 (CH₃CH₂), -5.4 (2xCH₃Si).

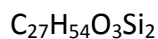
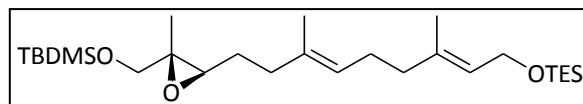
IR (Diamant ATR): 2949, 1711, 1658, 1454, 1139, 1049, 833 (cm⁻¹).

m/z 434 [M+Na]⁺.

[α]_D +11,6 (c 0.50, CHCl₃).

2-(tert-Butyl-diméthyl-silanyloxyméthyl)-3-(3,7-diméthyl-9-triéthylsilanyloxy-nona-3,7-diényl)-2-méthyl-oxirane

(Composé 59)



$$\text{MM} = 368,64 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

A une solution du composé **57** (1,34 mmol, 550 mg) dans 50 mL de CH_2Cl_2 distillé, sous argon à -10°C , est additionnée une solution 1 M dans l'heptane de DibalH (2,1 éq., 2,81 mmol, 2,8 mL). La solution est agitée 15 min à -10°C . De l'eau est additionnée et les sels d'aluminium sont filtrés sur célite et lavés au CH_2Cl_2 . La phase aqueuse est extraite au CH_2Cl_2 , les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution de NaCl saturée, séchées sur MgSO_4 et concentrées. Le composé **58** est obtenu sous la forme d'un liquide transparent (403 mg, 81%) et engagé brut dans l'étape suivante.

Le composé **59** est obtenu selon le même protocole que le composé **20** à partir du composé **58** (1,07 éq., 395 mg). Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 15/1) donne le composé **59** (158 mg, 30%) sous la forme d'un liquide transparent.

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 5.33 et 5.16 (2x1H,m, H_2 , H_6), 4.18 (2H, d, $J_{1,2} = 7.0$ Hz, H_1), 3.57 (2H, s, H_{12}), 2.87 (1H, t, $J_{9,10} = 7.0$ Hz, H_{10}), 2.15-2.04 (6H, m, H_4 , H_5 , H_8), 1.72-1.63 (5H, H_9 , H_{13}), 1.27, 1.26 (6H, m, H_{14} , H_{15}), 0.97 (12H, t, $J = 8.0$ Hz, CH_3CH_2), 0.90 (9H, s, tBu), 0.62 (8H, q, $J = 8.0$ Hz, CH_2Si), 0.06 et 0.05 (2x3H, 2s, 2x CH_3Si).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 137.6, 135.4 (C_3 , C_7), 126.5, 126.4 (C_2 , C_6), 69.5 (C_{12}), 67.8 (C_1), 64.7 (C_{11}), 60.6 (C_{10}), 40.1, 39.8, 26.8, 26.7 (C_4 , C_5 , C_8 , C_9), 25.8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 23.3, 16.5, 14.2 (C_{13} , C_{14} , C_{15}), 18.3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 6.77 (CH_3), 4.5 (CH_2Si).

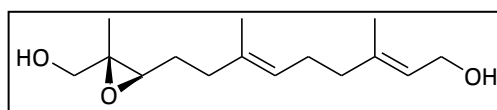
IR (Diamant ATR): 2945, 1258, 846, 775 (cm^{-1}).

m/z 370 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 392 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

$[\alpha]_D$ +4,9 (c 1.00, CHCl₃).

(2E,6E)-9-[(2S,3S)-3-(hydroxyméthyl)-3-méthyl-oxiran-2-yl]-3,7-diméthylnona-2,6-diène-1-ol

(Composé 61)



$C_{15}H_{36}O_3$

MM = 354,36 g.mol⁻¹

Le composé **61** est obtenu selon le même protocole que le composé **23** à partir du composé **59** (0,26 mmol, 96,4 mg). Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 1/15) donne le composé **61** (10 mg, 10%) sous la forme d'une huile transparente.

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃): δ 5.39 (1H, m, H₁₁), 5.16 (1H, m, H₇), 4.15 (2H, d, J_{11,12} = 7.0 Hz, H₁₂), 3.65 (2H, ABq, J_{1A,1B} = 12.0 Hz, H_{1A}, H_{1B}), 3.04 (1H, t, J_{3,4} = 7.0 Hz, H₃), 2.15-2.05 (6H, m, H₅, H₈, H₉), 1.71-1.64 (2H, m, H₄), 1.69, 1.63 (2x3H, 2s, H₁₄, H₁₅), 1.28 (3H, s, H₁₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 137.8 (C₁₀), 125.2 (C₆), 125.0 (C₁₁), 123.1 (C₇), 67.2 (C₂), 65.8 (C₁), 62.1 (C₃), 58.3 (C₁₂), 27.2, 25.6, 25.4, 22.5 (C₄, C₅, C₈, C₉), 17.3, 15.7, 15.1 (C₁₃, C₁₄, C₁₅).

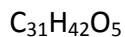
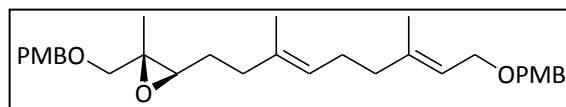
IR (Diamant ATR): 3070, 2921, 1707, 1376, 1053, 667 (cm⁻¹).

m/z 377 [M+Na]⁺.

[α]_D +19,6 (c 0.50, CHCl₃).

3-[9-(4-Méthoxy-benzyloxy)-3,7-diméthylnona-3,7-diényl]-2-(4-méthoxy-benzyloxyméthyl)-2-méthyl-oxirane

(Composé 63)



$$\text{MM} = 494,68 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

Le composé **63** est obtenu selon le même protocole que le composé **19** à partir du composé **61** (1,24 mmol, 315 mg). Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 1/15) donne le composé **63** (224 mg, 37%) sous la forme d'une huile transparente.

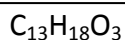
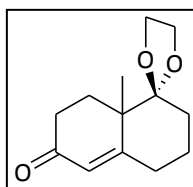
RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): δ 7.24 (4H, d, $J = 8.5$ Hz, 4Har), 7.86 (4H, d, $J = 8.5$ Hz, 4Har), 5.38 (1H, m, H_{11}), 5.14 (1H, t, $J_{7,8} = 6.5$ Hz, H_7), 4.45, 4.41 (2x2H, s, 2x CH_2Oar), 3.97 (2H, d, $J_{11,12} = 7.0$ Hz, H_{12}), 3.74 (6H, s, 2x OCH_3), 3.41 (2H, ABq, $J_{1A,1B} = 11.0$ Hz, H_{1A} , H_{1B}), 2.82 (1H, t, $J_{3,4} = 6.0$ Hz, H_3), 2.15-2.02 (6H, m, H_5 , H_8 , H_9), 1.73-1.63 (2H, m, H_4), 1.61, 1.60 (2x3H, 2s, H_{14} , H_{15}), 1.30 (3H, s, H_{13}).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 159.4, 131.2, 129.8, 113.8 (C aromatiques), 139.1 (C_{10}), 134.2 (C_6), 122.8 (C_{11}), 121.2 (C_7), 77.8 (C_1), 74.8 (OCH_2), 67.5 (C_{12}), 61.1 (C_3), 58.9 (C_2), 55.7 (OCH_3), 38.8, 36.2, 27.2, 26.5 (C_4 , C_5 , C_8 , C_9), 18.8, 16.7 (C_{13} , C_{14} , C_{15}).

IR (Diamant ATR): 2921, 1712, 1521, 1008 (cm^{-1}).

m/z 417 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

$[\alpha]_D$ +19,6 (c 1.20, CHCl_3).

5,5-(éthylènedioxy)-4a-méthyl-4,4a,5,6,7,8-héxahydro-2(3H)-naphthalène**(Composé 65)**

$$\text{MM} = 222,29 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

A une solution de cétone de Wieland-Miescher (2,8 mmol, 500 mg) dans 14 mL d'éthylène glycol sous argon est ajouté l'APTS (1 éq., 2,8 mmol, 533 mg). La solution est agitée 2 h à température ambiante. Une solution de NaHCO_3 saturée est additionnée et le mélange est dilué avec du CH_2Cl_2 . La phase aqueuse est extraite deux fois, les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution de NaCl saturée, séchées sur MgSO_4 et concentrées. Une purification par chromatographie sur colonne de silice (AcOEt/EP 1/2) donne **65** sous forme d'un solide jaune (577 mg, 88%).

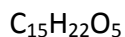
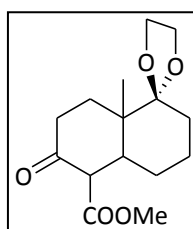
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.81 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H_4), 4.01-3.93 (4H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.42-1.65 (10H, m, $\text{H}_1, \text{H}_2, \text{H}_6, \text{H}_7, \text{H}_8$), 1.36 (3H, s, H_{11}).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 199.2 (C_3), 167.7 (C_5), 125.6 (C_4), 112.4 (C_9), 65.3, 65.0 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 45.0 (C_{10}), 33.9, 31.4, 30.0, 26.8, 21.7 ($\text{C}_1, \text{C}_2, \text{C}_6, \text{C}_7, \text{C}_8$), 23.3 (C_{11}).

IR (Diamant ATR): 2950, 2878, 1734, 1665, 1181, 1036, 823 (cm^{-1}).

m/z 445.5 [$2\text{M}+\text{H}$] $^+$.

HRMS calculée pour $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_3$: 223,1330. Trouvée : 223,1328.

4-carboxyméthyl-10-méthyl-9,9-(éthylènedioxy)-1,2,4,5,6,7,8-heptahydronaphthalène**(Composé 66)**

$$\text{MM} = 282,34 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

Le naphthalénure de lithium est préparé la veille à partir d'une solution de naphthalène (3 éq., 2 mmol, 268 mg) et de lithium (8 éq., 5,54 mmol, 128 mg) dans 2 mL de THF distillé à température ambiante, sous argon et sous forte agitation. La solution devient vert foncé. A la solution de naphthalénure de lithium fraîchement préparée, à -78°C sous argon, est additionnée une solution de composé **65** (0,78 mmol, 126 mg) et de tBuOH (1,5 éq., 1,18 mmol, 0,113 mL) dans 0,5 mL de THF. Le mélange est agité 7h à -60°C . Les radicaux sont neutralisés à -78°C sous argon par addition de diméthylbutadiène jusqu'à ce que le mélange réactionnel devienne incolore. Le méthylcyanoformate (2 éq., 1,57 mmol, 0,125 mL) est additionné est le mélange est agité la nuit en remontant à température ambiante. Une solution de NH_4Cl saturée est additionnée goutte à goutte et le mélange est dilué avec AcOEt. La phase aqueuse est extraite trois fois, les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution de NaCl saturée, séchées sur MgSO_4 et concentrées. Une purification par chromatographie sur colonne de silice (CH_2Cl_2 pur puis CH_2Cl_2 /acétone 98/2, puis CH_2Cl_2 /acétone 95/5) donne **66** sous forme d'un solide jaune (118 mg, 62%).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 3.97-3.81 (4H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.75 (3H, s, OCH_3), 3.22 (1H, d, $J_{4,5} = 13.0$ Hz, H_4), 2.48-2.41 (3H, m, H_2 , H_5), 1.86-1.31 (8H, m, H_1 , H_6 , H_7 , H_8), 1.21 (3H, s, CH_3).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 205.6 (C_3), 169.8 (CO), 112.0 (C_9), 64.9 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 59.8 (C_4), 51.9 (OCH_3), 43.1 (C_5), 41.8 (C_{10}), 37.3 (C_2), 39.5, 29.3, 26.7, 22.4 (C_1 , C_6 , C_7 , C_8), 13.3 (C_{11}).

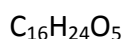
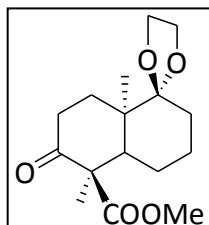
IR (Diamant ATR): 2943, 1746, 1700, 1124, 876 (cm⁻¹).

m/z 284 [M+H]⁺, 306 [M+Na]⁺, 588 [2M+Na]⁺, 604 [2M+K]⁺.

HRMS calculée pour C₁₅H₂₂O₅ : 283,1542. Trouvée : 283,1540.

4-carboxyméthyl-4-méthyl-9,9-(éthylènedioxy)-10-méthyl-1,2,5,6,7,8-héxahydro-naphthalène

(Composé 68) Racémique



MM= 296,37 g.mol⁻¹

Aune solution de composé **66** (1,57 mmol, 445 mg) dans 10 mL d'acétonitrile, sous argon à température ambiante, sont ajoutés le iodométhane (5 équ., 7,88 mmol, 490 µL) et le carbonate de césium (5 équ., 7,88 mmol, 2,57 g). La solution est agitée 48 h, puis l'acétonitrile est évaporé. Une purification par chromatographie sur colonne de silice (AcOEt/EP 1/4) donne **68** sous forme d'un solide jaune (302 mg, 64%).

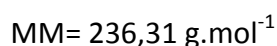
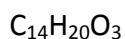
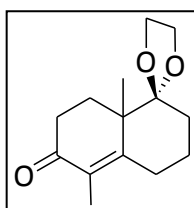
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 3.94-3.83 (4H, m, OCH₂CH₂O), 3.69 (3H, s, OCH₃), 2.73 (1H, dd, J_{5,6a} = 3.0 Hz, J_{5,6b} = 12.0 Hz, H₅), 2.57-2.36 (2H, m, H₂), 2.08-1.43 (8H, m, H₁, H₆, H₇, H₈), 1.32 (3H, s, CH₃), 1.21 (3H, s, CH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 210.5 (C₃), 173.7 (CO), 112.5 (C₉), 65.1 (OCH₂CH₂O), 61.3 (C₄), 52.5 (OCH₃), 44.9 (C₅), 41.9 (C₁₀), 34.7 (C₂), 30.3 (C₈), 28.9 (C₁), 23.1 (C₆), 22.5 (C₇), 17.0 (CH₃), 15.8 (CH₃).

IR (Diamant ATR): 2948, 1732, 1665, 1254, 1052, 1058, 679 (cm⁻¹).

m/z 297 [M+H]⁺, 319 [M+Na]⁺, 615 [2M+Na]⁺.

HRMS calculée pour C₁₆H₂₅O₅ : 297,3725. Trouvée : 297,3723.

9,9'-éthylènedioxy-(8aR)-5,8a-diméthyl-3,4,7,8-tetrahydro-2H-naphthalène-1,6-dione**(Composé 69)**

Le composé **69** est préparé selon le même protocole que le composé **65** à partir de l'analogue méthylé de la cétone de Wieland-Miescher (7,8 mmol, 1,5 g). Une purification par chromatographie sur colonne de silice (AcOEt/EP 1/2) donne **69** sous forme d'une huile jaune (1.45 g, 77%).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 3.98-3.88 (4H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.71 (1H, ddd, $^2J_{2A,2B} = 15.0$ Hz, $^3J_{1A,2A} = 4.5$ Hz, $^3J_{1B,2A} = 2.0$ Hz, H_{2A}), 2.38 (2H, dddd, $^2J_{6A,6B} = 16.0$ Hz, $^3J_{6A,7A} = 8.0$ Hz, $^3J_{6A,7B}$, $^3J_{6B,7A} = 5.0$ Hz, $^3J_{6B,7B} = 1.5$ Hz, H_{6A} , H_{6B}), 2.21 (1H, dddd, $^2J_{7A,7B} = 16.0$ Hz, $^3J_{6B,7A}$, $^3J_{7A,8B} = 5.0$ Hz, $^3J_{7A,8A} = 10.0$ Hz, H_{7A}), 2.12 (1H, ddd, $^2J_{2A,2B} = 15.0$ Hz, $^3J_{1A,2B} = 5.0$ Hz, $^3J_{1B,2B} = 1.0$ Hz, H_{2B}), 1.86 (1H, dd, $^2J_{8A,8B} = 14.0$ Hz, $^3J_{7A,8A} = 5.0$ Hz, H_{8A}), 1.79-1.54 (3H, m, H_{1A} , H_{1B} , H_{8B}), 1.76 (3H, s, H_{12}), 1.31 (3H, s, H_{11}).

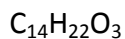
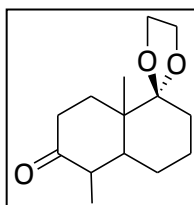
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 198.6 (C_3), 160.1 (C_5), 130.1 (C_4), 112.7 (C_9), 65.3, 65.1 ($\text{C}_{\text{H}_2\text{O}}$) 45.3 (C_{10}), 33.7 (C_6), 29.7 (C_8), 26.5 (C_2), 26.4, (C_7), 21.4 (C_1), 20.8 (C_{11}), 11.5 (C_{12}).

IR (Diamant ATR): 2963, 2887, 1725, 1651, 1097, 902 (cm^{-1}).

m/z 259 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$, 473 [$2\text{M}+\text{H}$] $^+$, 495 [$2\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

5,5-(éthylènedioxy)-4a-méthyl-1,2,4,5,6,7,8-héptahydronaphthalone

(Composé 70)



$$\text{MM} = 238,32 \text{ g.mol}^{-1}$$

A la solution de naphthalénure de lithium fraîchement préparée, à -55°C sous argon, est additionnée une solution de composé **69** (5,92 mmol, 1,4 mg) et de *t*BuOH (1,5 éq., 8,88 mmol, 0,614 mL) dans 1 mL de THF. Le mélange est agité 5 h de -78°C à température ambiante. Une solution de NH_4Cl saturée est additionnée goutte à goutte et le mélange est dilué avec AcOEt. La phase aqueuse est extraite trois fois, les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution de NaCl saturée, séchées sur MgSO_4 et concentrées. Une purification par chromatographie sur colonne de silice (AcOEt/EP 1/9) donne **70** sous forme d'une huile jaune (732 mg, 52%).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 3.96-3.86 (4H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.41 (2H, dddddd, $^2J_{2A,2B} = 14.5 \text{ Hz}$, $^3J_{1A,2A} = 6.5 \text{ Hz}$, $^3J_{1A,2B}$, $^3J_{1B,2A} = 4.5 \text{ Hz}$, $^3J_{1B,2B} = 2.5 \text{ Hz}$, H_{2A} , H_{2B}), 2.25 (1H, dq, $J_{4,5}$, $J_{4,12} = 6.5 \text{ Hz}$, H_4), 1.92 (1H, ddd, $^2J_{1A,1B} = 18.0 \text{ Hz}$, $^3J_{1A,2A} = 13.5 \text{ Hz}$, $^3J_{1A,2B} = 5.6 \text{ Hz}$, H_{1A}), 1.74-1.17 (8H, m, H_{1B} , H_5 , H_6 , H_7 , H_8), 1.24 (3H, s, H_{12}), 0.99 (3H, d, $J_{4,12} = 6.5 \text{ Hz}$, H_{11}).

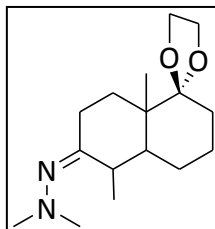
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 212.8 (C_3), 112.5 (C_9), 65.1, 64.9 (CH_2O), 48.1 (C_5), 44.9 (C_4), 42.4 (C_{10}), 37.6 (C_2), 30.7 (C_1), 29.9, 24.9, 22.7 (C_6 , C_7 , C_8), 14.2 (C_{12}), 11.6 (C_{11}).

IR (Diamant ATR): 2924, 1760, 1651, 1422, 1083, 934 (cm^{-1}).

m/z 261 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$, 499 [$2\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

N-[(1',4'a-diméthylspiro[1,3-dioxolane-2,5'-decalin]-2'-ylidène)amino]-N-méthylméthanamine

(Composé 71)



$C_{16}H_{28}N_2O_2$

MM= 280,40 g.mol⁻¹

A une solution de composé **70** (0,84 mmol, 200 mg) dans 5 mL de cyclohexane sous argon, sont additionnés une quantité catalytique d'APTS et la diméthylhydrazine 1 équ., 0,84 mmol, 64 μ L). La solution est agitée 4 jours à reflux. La solution est filtrée sur coton, lavée avec du CH_2Cl_2 et évaporée. Une purification par chromatographie sur colonne de silice (AcOEt/EP 1/9) donne **71** sous forme d'une huile jaune pâle (169 mg, 72%).

RMN ¹H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 3.87-3.76 (4H, m, OCH_2CH_2O), 3.08 (1H, ddd, $^2J_{2A,2B} = 14.0$ Hz, $^3J_{1A,2A} = 5.0$ Hz, $^3J_{1B,2A} = 3.0$ Hz, H_{2A}), 2.34 (3H, s, NCH_3), 2.05 (1H, dq, $J_{4,5}, J_{4,12} = 7.0$ Hz, H_4), 1.83 (1H, ddd, $^2J_{2A,2B} = 14.0$ Hz, $^3J_{1B,2B} = 8.0$ Hz, $^3J_{1A,2B} = 6.0$ Hz, H_{2B}), 1.63-1.41 (9H, m, H_1, H_5, H_6, H_7, H_8), 1.07 (3H, s, H_{12}), 0.97 (3H, d, $J_{4,12} = 8.0$ Hz, H_{11}).

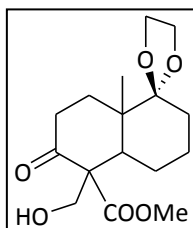
RMN ¹³C (100 MHz, $CDCl_3$): δ 171.5 (CN), 112.4 (C_9), 65.0, 64.9 (CH_2O), 47.9 (C_5), 47.6 (NCH_3), 42.3 (C_{10}), 38.7 (C_4), 23.6 (C_2), 30.1, 30.0, 24.6, 22.7 (C_1, C_6, C_7, C_8), 14.6 (C_{11}), 14.2 (C_{11}).

IR (Diamant ATR): 2942, 1663, 1090, 1023 (cm^{-1}).

m/z 281 [$M+Na$]⁺, 583 [$2M+Na$]⁺.

4-carboxyméthyl-4-hydroxyméthyl-9,9-(éthylènedioxy)-10-méthyl-1,2,5,6,7,8-héxahydro-naphthalène

(Composé 72)



$C_{16}H_{24}O_6$

MM = 312,16 g.mol⁻¹

A une solution de composé **66** (0,47 mmol, 132 mg) dans 5 mL de THF et 1 mL de HMPA, sous argon, à température ambiante, sont additionnés 1,4 mL d'une solution de LiHMDS 1 M dans le THF (3 éq., 1,4 mmol), puis, au bout de 5 min, le TMSCl (10 éq., 4,7 mmol, 0,59 mL). La solution est agitée 1 h 30 min, puis de l'eau est ajoutée et le mélange est dilué avec AcOEt. La phase aqueuse est extraite rapidement trois fois, les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄ et concentrées. Le résidu brut est mis en suspension dans 1,75 mL de THF et 0,75 mL d'une solution de formaldéhyde 37% aqueuse. Le Sc(OTf)₃ (0,1 éq., 0,023 mmol, 12 mg) est additionné et la solution est agitée 3 h à température ambiante. Les solvants sont évaporés et une purification par chromatographie sur colonne de silice (AcOEt/EP 1/4, puis 1/3) donne **72** sous forme d'une huile jaune (75 mg, 52%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 3.98-3.76 (6H, m, OCH₂CH₂O, CH₂OH), 3.72 (3H, s, OCH₃), 2.99 (1H, J_{1A,2A} = 6.5 Hz, J_{2A,2B} = 15.0 Hz, H_{2A}), 2,40 (1H, dd, J_{1A,2B} = 3.0 Hz, J_{1B,2B} = 5.0 Hz, J_{2A,2B} = 15.0 Hz, H_{2B}), 2.06 (1H, dd, J_{5,6A} = 12.5 Hz, J_{5,6B} = 3.0 Hz, H₅), 1.93 (1, ddd, J_{5,6A}, J_{6A,6B} = 12.5 Hz, J_{6A,7} = 5.5 Hz, H_{6A}), 1.81-1.22 (7H, m, H₁, H_{6B}, H₇, H₈), 1.15 (3H, s, CH₃).

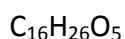
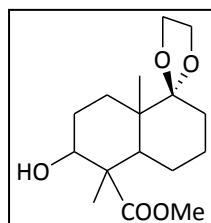
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 211.8 (C₃), 171.7 (CO), 112.3 (C₉), 65.7 (CH₂OH), 65.1, 64.9 (OCH₂CH₂O), 62.5 (C₄), 52.2 (OCH₃), 46.3 (C₅), 42.6 (C₁₀), 37.1 (C₂), 30.4 (C₆), 30.0, 22.8, 22.7 (C₁, C₇, C₈), 14.6 (CH₃).

IR (Diamant ATR): 3439, 2942, 1720, 1688, 1168, 1052, 1001, 681 (cm⁻¹).

m/z 313 [M+H]⁺, 335 [M+Na]⁺, 647 [2M+Na]⁺.

HRMS calculée pour C₁₆H₂₅O₆ : 313,1649. Trouvée : 313,1646.

4-carboxyméthyl-4-méthyl-9,9-(éthylènedioxy)-10-méthyl-1,2,5,6,7,8-héxahydro-naphthalèneol
(Composé 74)



$$\text{MM} = 298,18 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

A une solution de composé **68** (1,76 mmol, 523 mg) dans 4,4 mL de MeOH, sous argon à température ambiante, est additionné le $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1 éq., 1,76 mmol, 657 mg). La solution est agitée 5 min à température ambiante, puis 10 min à 0°C et le NaBH_4 (1 éq., 1,76 mmol, 67 mg) est additionné par portions sur 5 min. La solution est agitée 15 min puis la solution est filtrée sur célite et MgSO_4 , lavée au CH_2Cl_2 , et le filtrat est évaporé. Une purification par chromatographie sur colonne de silice (AcOEt/EP 1/4, puis 1/3, 1/2, 1/1) donne **74** sous forme d'une huile jaune (273 mg, 52%).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 4.03-3.87 (5H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$, H_3), 3.67 (3H, s, OCH_3), 2.0 (1H, dd, $J_{5,6A} = 12.5 \text{ Hz}$, $J_{5,6B} = 3.0 \text{ Hz}$, H_5), 1.77-1.24 (10H, m, H_1 , H_2 , H_6 , H_7 , H_8), 1.35 (3H, s, CH_3), 1.18 (3H, s, CH_3).

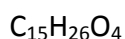
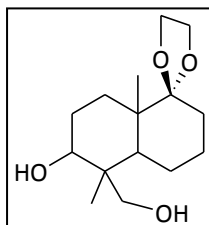
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 177.7 (CO), 113.3 (C_9), 75.9 (C_3), 64.9, 64.7 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 58.2 (C_4), 52.4 (OCH_3), 37.7 (C_5), 36.8 (C_{10}), 30.4, 29.8, 28.3, 24.3, 22.6 (C_1 , C_2 , C_6 , C_7 , C_8), 17.2 (CH_3), 10.0 (CH_3).

IR (Diamant ATR): 3398, 2958, 1723, 1678, 1234, 1116, 823 (cm^{-1}).

m/z 299 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 321 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS calculée pour $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{O}_5$: 299,1851. Trouvée : 299,1853.

**4-méthyl-4-hydroxyméthyl-9,9-(éthylènedioxy)-10-méthyl-1,2,5,6,7,8-héxahydro-naphthalèneol
(Composé 75)**



$$\text{MM} = 270,18 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

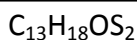
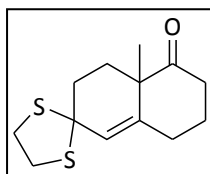
A une solution de composé **74** (0,5 mmol, 150 mg) dans 4 mL de CH_2Cl_2 , sous argon, à température ambiante, est additionné 1,05 mL d'une solution de DiBALH 1 M dans le toluène (2,1 éq., 1,05 mmol). La solution est agitée 30 min, puis de l'eau est ajoutée. Les sels sont filtrés sur célite, lavés au CH_2Cl_2 et le filtrat est évaporé. Une purification par chromatographie sur gel de silice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 1/4) donne **75** sous la forme d'une pâte blanche (57 mg, 67%).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 3.93-3.78 (4H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.71-3.62 (2H, m, H_3 , $\text{H}_{11\text{A}}$), 3.44 (1H, d, $J_{11\text{A},11\text{B}} = 10.5$ Hz, $\text{H}_{11\text{B}}$), 1.71-1.13 (11H, m, H_1 , H_2 , H_5 , H_6 , H_7 , H_8), 1.08 (3H, s, CH_3), 0.91 (3H, s, CH_3).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 113.0 (C_9), 77.0 (C_3), 72.2 (C_{11}), 65.2, 64.8 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 43.0 (C_5), 42.8 (C_{10}), 41.9 (C_4), 30.2, 28.3, 26.6, 22.9, 20.5 (C_1 , C_2 , C_6 , C_7 , C_8), 16.8 (CH_3), 11.0 (CH_3).

IR (Diamant ATR): 3448, 2979, 288, 1432, 1104, 973 (cm^{-1}).

m/z 299 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 321 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

8'a-méthylspiro[1,3-dithiolane-2,6'-3,4,7,8-tétrahydro-2H-naphthalène]-1'-one**(Composé 76)**MM= 254.41 g.mol⁻¹

A une solution de cétone de Wieland-Miescher (2,8 mmol, 500 mg) dans 5 mL de AcOH, sous argon à température ambiante, sont additionnés l'APTS (0,5 éq., 1,4 mmol, 267 mg) et l'éthanedithiol (0,9 éq., 2,52 mmol, 212 µL). La solution est agitée 5 h. Elle est ensuite diluée dans un mélange H₂O/CH₂Cl₂ 1/1, la phase aqueuse est extraite trois fois, les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution de NaHCO₃ saturée et de NaCl saturée, séchées sur MgSO₄ et concentrées. Le résidu est recristallisé dans AcOEt pour donner **76** (633 mg, 88%) sous la forme d'un solide blanc cassé.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5.64 (1H, s, H₄), 3.36-3.19 (4H, SCH₂CH₂S), 2.59 (1H, ddd, ²J_{8A,8B} = 15.0 Hz, ³J_{7A,8A} = 1.0 Hz, ³J_{7B,8A} = 6.5 Hz, H_{8A}), 2.49 (1H, ddd, ²J_{2A,2B} = 14.0 Hz, ³J_{1A,2A} = 1.5 Hz, ³J_{1B,2A} = 5.0 Hz, H_{2A}), 2.34 (1H, ddd, ²J_{8A,8B} = 15.0 Hz, ³J_{7A,8B} = 4.5 Hz, ³J_{7B,8B} = 7.5 Hz, H_{8B}), 2.22-2.11 (4H, m, H_{1A}, H_{2B}, H₆), 1.99 (1H, m, H_{7A}), 1.73 (1H, m, H_{1B}), 1.58 (1H, dddd, ²J_{7A,7B} = 13.5 Hz, ³J_{6A,7B}, ³J_{7B,8A} = 4.5 Hz, ³J_{6B,7B}, ³J_{7B,8B} = 7.5 Hz, H_{7B}), 1.27 (3H, s, H₁₁).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 212.9 (C₉), 141.3 (C₅), 128.1 (C₄), 64.8 (C₃), 49.5 (C₁₀), 40.2, 39.7 (SCH₂CH₂S), 37.9 (C₈), 37.6 (C₁), 3.8 (C₂), 30.7 (C₆), 24.8 (C₇), 24.6 (C₁₁).

IR (diamand ATR): 2958, 1768, 1698, 1243 (cm⁻¹).

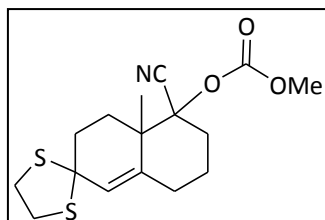
m/z 255 [M+H]⁺, 272 [M+NH₃]⁺, 277 [M+Na]⁺.

HRMS calculée pour C₁₃H₁₉S₂O : 255.0870. Trouvée : 255.0872.

(1'-cyano-8'a-méthyl-spiro[1,3-dithiolane-2,6'-3,4,7,8-tétrahydro-2H-naphthalène]-1'-yl)

méthyl carbonate

(Composé 77)



$C_{16}H_{21}NO_3S_2$

MM= 339.47 g.mol⁻¹

A une solution de LDA fraîchement préparée dans 3 mL de THF distillé, sous argon à -78 °C, est additionné le composé **76** (1 mmol, 254 mg). La solution est agitée 30 min à -78 °C, puis le méthylcyanoformate (1,1 éq., 1,1 mmol, 0,8 mL) est additionnée à -78 °C. Le mélange est agité 1 h en laissant remonter la température lentement. Une solution de NH₄Cl saturée est ajoutée, et la phase aqueuse est extraite trois fois avec AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution de NaCl saturée, séchées sur MgSO₄ et concentrées. Le résidu est recristallisé dans AcOEt pour donner **77** (288 mg, 85%) sous la forme d'un solide orange.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5.82 (1H, s, H₄), 3.82 (3H, s, OCH₃), 3.39-3.21 (4H, SCH₂CH₂S), 2.79 (1H, d, ²J_{8A,8B} = 13.0 Hz, H_{8A}), 2.32-1.76 (7H, m, H₁, H₂, H₆, H₇, H_{8B}), 1.24 (3H, s, H₁₁).

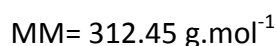
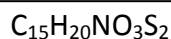
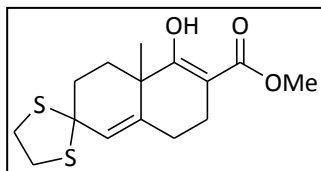
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 153.0 (CO), 137.0 (C₅), 131.0 (C₄), 116.6 (CN), 83.6 (C₉), 64.1 (C₃), 55.2 (OCH₃), 42.8 (C₁₀), 40.2, 39.8 (SCH₂CH₂S), 37.3, 33.1, 29.6, 29.1 (C₁, C₂, C₆, C₇), 22.3 (C₈), 18.6 (C₁₁).

IR (diamant ATR): 2961, 1755, 1435, 1267, 101, 779 (cm⁻¹).

m/z 340 [M+H]⁺, 362 [M+Na]⁺.

Méthyl 8'a-méthyl-1'-oxo-spiro[1,3-dithiolane-2,6'-3,4,7,8-tétrahydro-2H-naphthalène]-2'-carboxylate

(Composé 78)



Le KH 30% dans l'huile (6 éq., 17,7 mmol, 1,184 mg) est préalablement lavé trois fois au pentane. Il est ensuite mis en solution dans 30 mL de THF distillé, sous argon à température ambiante, et on ajoute une solution de composé **76** (2,95 mmol, 750 mg) dans 2,5 mL de diméthylcarbonate (10 éq., 29,5 mmol) et 3 mL de THF distillé. La solution est agitée 2 h 30 min à reflux. Elle est ensuite ramenée à température ambiante, une solution de NH_4Cl saturée est ajoutée et la phase aqueuse est extraite trois fois au CH_2Cl_2 . Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution de NaCl saturée, séchées sur MgSO_4 et concentrées. On obtient le composé **78** (833 mg, 90%) sous la forme d'une pâte orange utilisée sans aucune autre purification.

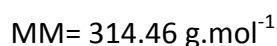
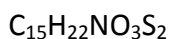
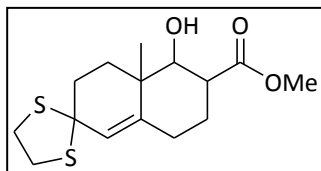
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 12.37 (1H, s, OH), 5.56 (1H, s, H_4), 3.73 (3H, s, OCH_3), 3.38-3.14 (4H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.28-1.67 (8H, m, $\text{H}_1, \text{H}_2, \text{H}_6, \text{H}_7$), 1.32 (3H, s, H_{11}).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 175.9 (C=O), 173.2 (C_9), 140.8 (C_5), 125.8 (C_4), 95.8 (C_8), 64.8 (C_3), 51.5 (OCH_3), 40.4, 39.6 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 38.9 (C_{10}), 37.8, 33.6, 28.6, 23.9 ($\text{C}_1, \text{C}_2, \text{C}_6, \text{C}_7$), 24.2 (C_{11}).

IR (diamant ATR): 2911, 1722, 1639, 1430, 1243 (cm^{-1}).

m/z 313 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 335 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$, 647 [$2\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

**Méthyl 1-hydroxy-8a-méthyl-spiro[1,2,3,4,7,8-hexahydronaphthalène-6,2'-1,3-dithiolane]-
2-carboxylate
(Composé 80)**



A une solution de composé **78** (2,56 mmol, 800 mg) dans 35 mL d'un mélange MeOH/CH₂Cl₂ 6/1, à 0 °C sous argon, est additionné du NaBH₄ (1 éq., 2,56 mmol, 97 mg). La solution est agitée 1 h en remontant à température ambiante. Le solvant est évaporé. Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 1/4) donne le composé **80** (620 mg, 77%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

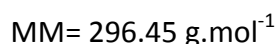
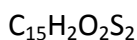
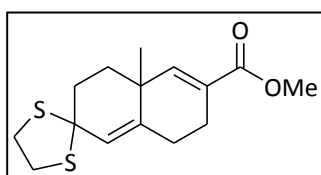
Composé **80** sous la forme de deux diastéréo-isomères :

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5.72 et 5.60 (1H, s, H₄), 3.80 et 3.75 (3H, s, OCH₃), 4.17 et 3.48 (1H, d, J_{8,9} = 9.5 Hz, H₉), 3.35-3.18 (4H, SCH₂CH₂S), 2.85 et 2.2.62 (1H, ddd, J_{8,9} = 10.0 Hz, J_{7A,8} = 8.5 Hz, J_{7B,9} = 5.0 Hz, H₈), 2.42-1.23 (8H, m, H₁, H₂, H₆, H₇), 1.01 et 0.86 (3H, s, H₁₁).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 175.5 et 175.4 (CO), 142.2 et 141.6 (C₅), 129.8 et 127.5 (C₄), 78.7 et 78.2 (C₉), 65.3 et 65.2 (C₃), 52.1 et 51.9 (OCH₃), 46.3 et 42.3 (C₈), 40.1, 39.6 (SCH₂CH₂S), 40.9 et 39.7 (C₁₀), 37.3, 37.2, 35.5, 35.33, 30.3, 28.0, 27.8, 25.7 (C₁, C₂, C₆, C₇), 22.7 et 17.0 (C₁₁).

IR (diamand ATR): 3436, 2929, 1719, 1429, 1139, 1023 (cm⁻¹).

m/z 297 [M-OH]⁺, 315 [M+H]⁺, 337 [M+Na]⁺, 651 [2M+Na]⁺.

Méthyl 8'a-méthylspiro[1,3-dithiolane-2,6'-3,4,7,8-tétrahydronaphthalène]-2'-carboxylate**(Composé 81)**

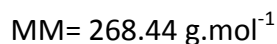
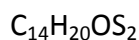
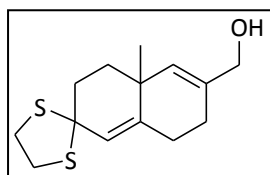
A une solution de composé **80** (1,78 mmol, 560 mg) dans 18 mL de pyridine, à 0 °C sous argon, est additionné du MsCl (10 éq., 17,8 mmol, 1.95 mL). La solution est agitée 15 h en remontant à température ambiante. De l'eau est additionnée lentement et la solution est diluée dans le CH₂Cl₂. La phase aqueuse est extraite trois fois, les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution saturée de NaCl, séchées sur MgSO₄ et concentrées. Le résidu est repris dans 25 mL de DMF à température ambiante sous argon, et de la DBU (9 éq., 16 mmol, 2,4 mL) est ajoutée. Le mélange est agité 4 h à 80 °C. Après retour à température ambiante, une solution de HCl 1 M est ajoutée lentement et le mélange est dilué dans le CH₂Cl₂. La phase aqueuse est extraite trois fois, les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution saturée de NaCl, séchées sur MgSO₄ et concentrées. Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 1/9) donne le composé **81** (432 mg, 82%) sous la forme d'un solide jaune.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 6.56 (1H, s, H₉), 5.53 (1H, s, H₄), 3.67 (3H, s, OCH₃), 3.35-3.12 (4H, SCH₂CH₂S), 2.54-1.58 (8H, m, H₁, H₂, H₆, H₇), 1.13 (3H, s, H₁₁).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 167.6 (C=O), 146.7 (C₉), 141.2 (C₈), 127.3 (C₅), 125.5 (C₄), 65.12 (C₃), 51.5 (OCH₃), 40.3, 39.4 (SCH₂CH₂S), 35.4 (C₁₀), 37.8, 35.2, 28.4, 26.7 (C₁, C₂, C₆, C₇), 25.2 (C₁₁).

IR (diamant ATR): 2925, 1699, 1429, 1269, 1237 (cm⁻¹).

m/z 237 [M-COOMe]⁺, 297 [M+H]⁺, 319 [M+Na]⁺, 615 [2M+Na]⁺.

8'a-méthylspiro[1,3-dithiolane-2,6'-3,4,7,8-tétrahydronaphthalène]-2'-yl)méthanol**(Composé 82)**

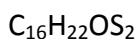
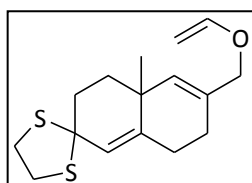
Le composé **82** est obtenu selon le même protocole que le composé **75**, à partir du composé **91** (1,68 mmol, 500 mg). Le composé **82** (369 mg, 82%) est obtenu sans autre purification sous la forme d'une pâte jaune.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 6.52 (1H, s, H_4), 5.34 (1H, s, H_9), 3.96 (2H, d, $J_{11,\text{OH}} = 5.5 \text{ Hz}$, H_{11}), 3.38-3.14 (4H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.37-1.54 (8H, m, H_1 , H_2 , H_6 , H_7), 1.33 (1H, t, $J_{11,\text{OH}} = 6.0 \text{ Hz}$, OH), 1.11 (3H, s, H_{12}).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 143.2 (C_8), 134.7 (C_5), 131.8 (C_9), 124.6 (C_4), 66.7 (C_{11}), 40.3, 39.5 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 34.7 (C_{10}), 38.3, 36.3, 28.8, 28.0 (C_1 , C_2 , C_6 , C_7), 26.0 (C_{12}).

IR (diamand ATR): 3336, 2921, 1648, 1432, 994, 848 (cm^{-1}).

m/z 268 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 291 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

8a-méthyl-7-(vinyloxyméthyl)spiro[1,2,5,6-tétrahydronaphthalène-3,2'-1,3-dithiolane]**(Composé 83)**

$$\text{MM} = 294.48 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

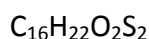
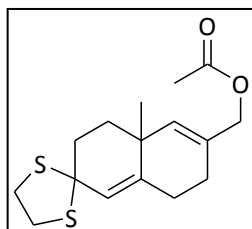
A une solution de composé **82** (0,16 mmol, 43 mg), dans 2 mL de ⁿButylvinyléther à température ambiante sous argon, sont additionnés le mercure trifluoroacétate (0,35 éq., 0,056 mmol, 24 mg) et 0,02 mL de Et₃N. Le mélange est agité 6 h à 85 °C. Après un retour à température ambiante, une solution de NaOH 40% est ajoutée lentement et le mélange est dilué dans AcOEt. La phase aqueuse est extraite trois fois, les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution saturée de NaHCO₃ puis de NaCl, séchées sur MgSO₄ et concentrées. Une purification sur colonne de silice (AcOEt/EP 1/15) donne le composé **83** (23 mg, 49%) sous la forme d'une huile transparente.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 6.43 (1H, dd, J_{12,13A} = 14.5 Hz, J_{12,13B} = 7.0 Hz, H₁₂), 5.52 (1H, s, H₄), 5.38 (1H, s, H₉), 4.19 (1H, dd, J_{12,13A} = 14.5 Hz, J_{13A,13B} = 2.0 Hz, H_{13A}), 4.04 (2H, s, H₁₁), 3.98 (1H, dd, J_{12,13B} = 7.0 Hz, J_{13A,13B} = 2.0 Hz, H_{13B}), 3.38-3.16 (4H, SCH₂CH₂S), 2.33-1.57 (8H, m, H₁, H₂, H₆, H₇), 1.12 (3H, s, H₁₄).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 151.5 (C₁₂), 142.9 (C₅), 134.3 (C₉), 131.0 (C₈), 124.7 (C₄), 87.0 (C₁₃), 72.1 (C₁₁), 65.6 (C₃), 40.3, 39.5 (SCH₂CH₂S), 34.8 (C₁₀), 38.3, 36.2, 28.8, 28.2 (C₁, C₂, C₆, C₇), 22.7 (C₁₄).

Le composé n'est pas assez stable pour obtenir un spectre IR ou un spectre de masse.

**(8'a-méthylspiro[1,3-dithiolane-2,6'-3,4,7,8-tétrahydronaphthalène]-2'-yl)méthanol
acétate
(Composé 86)**



$$\text{MM} = 310,11 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

Le composé **86** est obtenu selon le même protocole que le composé **11**, à partir du composé **82** (1,68 mmol, 500 mg). Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 1/9) donne **86** sous la forme d'une huile jaune (491 mg, 85%).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.52 (1H, s, H_4), 5.47 (1H, s, H_9), 4.73 (2H, s, H_{11}), 3.38-3.14 (4H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.04 (3H, s, CH_3), 2.36-1.47 (8H, m, $\text{H}_1, \text{H}_2, \text{H}_6, \text{H}_7$), 1.11 (3H, s, H_{12}).

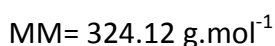
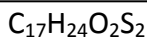
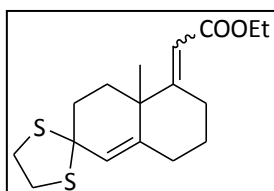
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 173.3 (CO), 135.5 (C_8), 134.2 (C_5), 130.9 (C_9), 124.8 (C_4), 68.9 (C_{11}), 40.2, 39.8 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 34.7 (C_{10}), 39.3, 37.6, 29.4, 28.2 ($\text{C}_1, \text{C}_2, \text{C}_6, \text{C}_7$), 27.9 (CH_3), 26.0 (C_{12}).

IR (diamand ATR): 2981, 1738, 1462, 1006, 792 (cm^{-1}).

m/z 311 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 333 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

Ethyl (2E)-2-(8'a-méthylspiro[1,3-dithiolane-2,6'-3,4,7,8-tétrahydro-2H-naphthalène]-1'-ylidène)acétate

(Composé 89)



A une solution de NaH 60% dans l'huile (2 éq., 3,2 mmol, 128 mg), dans 10 mL de THF à 0°C sous argon, est additionné le triéthylphosphonoacétate (2 éq., 3,2 mmol, 0,624 mL). La solution est agitée 10 min puis le composé **76** (1,6 mmol, 400 mg) est additionné. La solution est agitée 60 h à 50°C. Après un retour à température ambiante, de l'eau est ajoutée lentement et le mélange est dilué dans CH₂Cl₂. La phase aqueuse est extraite trois fois, les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution saturée de NaCl, séchées sur MgSO₄ et concentrées. Une purification sur colonne de silice (AcOEt/EP 2/98) donne le composé **89** (409 mg, 78%) sous la forme d'huile jaune.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5.68 (1H, s, H₁₁), 5.52 (1H, s, H₄), 4.11 (2H, q, J_{CH₂,CH₃} = 7.0 Hz, OCH₂), 3.70 (1H, ddd, J_{8A,8B} = 15.0 Hz, J_{8A,7B} = 4.0 Hz, J_{8A,7A} = 2.5 Hz, H_{8A}), 3.33-3.17 (4H, m, SCH₂CH₂S), 2.34-2.21 (4H, m, H_{8B}, H_{6A}, H₂), 2.12-2.00 (2H, m, H_{6B}, H_{1A}), 1.84-1.70 (2H, H_{7A}, H_{1B}), 1.41-1.33 (1H, H_{7B}), 1.25 (3H, t, J_{CH₂,CH₃} = 7.0 Hz, CH₃), 1.24 (3H, s, H₁₃).

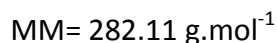
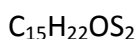
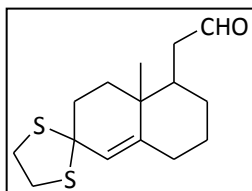
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 167.9 (C₁₂), 167.2 (C₉), 143.3 (C₅), 126.3 (C₄), 112.4 (C₁₁), 65.2 (C₃), 59.7 (OCH₂), 41.7 (C₁₀), 40.0, 39.6 (SCH₂CH₂S), 38.0 (C₂), 34.8 (C₁), 31.8 (C₆), 26.6 (C₇), 26.4 (C₁₃), 25.8 (C₈), 22.7 (C₁₃).

IR (diamand ATR): 2932, 1704, 1619, 1175, 1128, 817 (cm⁻¹).

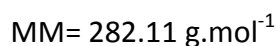
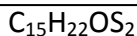
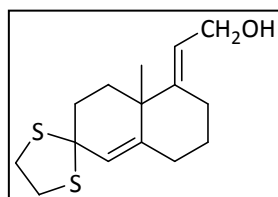
m/z 325 [M+H]⁺, 347 [M+Na]⁺.

HRMS calculée pour $C_{17}H_{25}S_2O_2$: 325.1289. Trouvée : 325.1290.

**2-(8a-méthylspiro[1,2,3,4,7,8-hexahydronaphthalène-6,2'-1,3-dithiolane]-1-yl)acétaldéhyde
(Composé 90b)**



**(2E)-2-(8'a-méthylspiro[1,3-dithiolane-2,6'-3,4,7,8-tétrahydro-2H-naphthalène]-1'-ylidène)éthanol
(Composé 91)**



A une solution de $LiAlH_4$ (1,5 éq., 0,46 mmol, 18 mg), dans 2 mL de THF à 0°C sous argon, est additionné le composé **89** (0,31 mmol, 100 mg). La solution est agitée à 55°C pendant 5 h. Après un retour à température ambiante, AcOEt est ajouté lentement, suivi de 20 μ L d'eau, 20 μ L de NaOH 10% et 60 μ L d'eau. Les sels d'aluminium sont filtrés, lavés avec AcOEt, la phase organique est lavée avec une solution saturée de NaCl, séchées sur $MgSO_4$ et concentrées. Une purification sur colonne de silice (AcOEt/EP 4/96, puis 1/9) donne les composés **90b** (15 mg, 17%) et **91** (45 mg, 52%) sous la forme d'huiles transparentes.

Composé 90b

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 9.71 (1H, s, H_{12}), 5.68 (1H, s, H_{11}), 5.52 (1H, s, H_4), 3.38-3.17 (4H, m, SCH_2CH_2S), 2.49 (1H, $J_{11A,11B} = 16.0$ Hz, $J_{11A,12} = 2.5$ Hz, H_{11A}), 2.16-2.00 (5H, m, H_2 , H_{11B} , H_6),

1.82-1.70 (4H, m, H₉, H_{1A}, H_{7A}), 1.63-1.52 (2H, m, H_{7B}, H_{8A}), 1.37-1.32 (2H, m, H_{1B}, H_{8B}), 0.95 (3H, s, H₁₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 202.6 (C₁₂), 144.8 (C₅), 125.4 (C₄), 65.5 (C₃), 44.9 (C₁₁), 43.0 (C₉), 40.1, 39.6 (SCH₂CH₂S), 37.7 (C₂), 36.9 (C₇), 36.6 (C₁₀), 32.2 (C₆), 28.6 (C₈), 26.8 (C₁), 18.2 (C₁₃).

IR (diamand ATR): 2920, 2727, 2686, 1435, 1178, 830 (cm⁻¹).

m/z 283 [M+H]⁺, 305 [M+Na]⁺.

HRMS calculée pour C₁₅H₂₃S₂O : 283.1187. Trouvée : 283.1185.

Composé 91

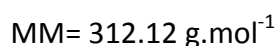
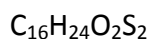
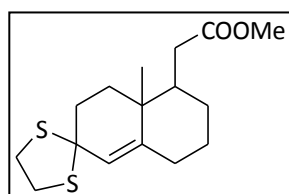
RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃): δ 5.47 (1H, s, H₄), 5.43 (1H, s, H₁₁), 4.17 (2H, dd, J_{11,12A}, J_{11,12B} = 5.5 Hz, H₁₂), 3.38-3.17 (4H, m, SCH₂CH₂S), 2.49 (1H, br d, J_{8A,8B} = 14.0 Hz, H_{8A}), 2.37-1.23 (9H, m, H₁, H₂, H₆, H₇, H₈), 1.17 (3H, s, H₁₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 137.8 (C₉), 136.2 (C₅), 124.7 (C₄), 122.0 (C₁₁), 65.8 (C₃), 60.3 (C₁₂), 53.2 (C₁₀), 39.8, 39.4 (SCH₂CH₂S), 37.3, 34.6, 30.4, 28.5, 27.6 (C₁, C₂, C₆, C₇, C₈), 22.9 (C₁₃).

IR (diamand ATR): 3385, 2926, 1438, 726 (cm⁻¹).

m/z 283 [M+H]⁺.

**8'a-méthylspiro[1,3-dithiolane-2,6'-3,4,7,8-hexahydro-2H-naphthalène]-1'-yl) méthyl ester
(Composé 90a)**



A une solution de composé **89** (0,33 mmol, 106 mg) dans 3,3 mL de MeOH anhydre, sous argon à 0°C, est additionné du magnésium en tournure (40 éq., 13 mmol, 318 mg). La solution est agitée 4 h à température ambiante et 10 mL d'une solution aqueuse de HCl 6 M sont ajoutés à 0°C. Le mélange est agité 10 min, la phase aqueuse est extraite quatre fois au CH_2Cl_2 , les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO_4 et concentrées. Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 5/95) donne **90a** (95 mg, 94%) sous la forme d'une pâte jaune pâle.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.51 (1H, s, H_4), 3.66 (3H, s, OCH_3), 3.67-3.17 (4H, m, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.43 (1H, $J_{11\text{A},11\text{B}} = 15.0 \text{ Hz}$, $J_{11\text{A},12} = 3.0 \text{ Hz}$, $\text{H}_{11\text{A}}$), 2.16 (2H, m, H_2), 2.09 (1H, m, $\text{H}_{1\text{A}}$), 2.02-1.96 (2H, m, $\text{H}_{1\text{B}}$, $\text{H}_{11\text{B}}$), 1.75-1.57 (5H, m, H_6 , $\text{H}_{7\text{A}}$, $\text{H}_{8\text{A}}$, H_9), 1.38-1.19 (2H, m, $\text{H}_{7\text{B}}$, $\text{H}_{8\text{B}}$), 0.94 (3H, s, H_{13}).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 173.9 (C_{12}), 144.9 (C_5), 125.1 (C_4), 65.5 (C_3), 51.5 (OCH_3), 45.3 (C_9), 40.0, 39.5 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 39.5 (C_{10}), 37.3 (C_2), 36.7 (C_6), 35.3 (C_{11}), 32.2 (C_1), 28.1 (C_7), 26.7 (C_8), 17.9 (C_{13}).

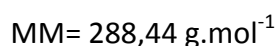
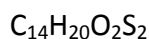
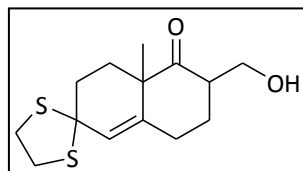
IR (diamant ATR): 2923, 1713, 1438, 1267, 1131, 1014, 855 (cm^{-1}).

m/z 313 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 335 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

HRMS calculée pour $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{S}_2\text{O}_2$: 313.1294. Trouvée : 313.1291.

2'-(hydroxyméthyl)-8'a-méthyl-spiro[1,3-dithiolane-2,6'-3,4,7,8-tétrahydro-2H-naphthalène]-1'-one

(Composé 94)



A une solution de composé **78** (0,32 mmol, 100 mg) dans 4 mL de THF anhydre et 1 mL de HMPA, sous argon à température ambiante, sont additionnés 0,96 mL d'une solution de LiHMDS 1M dans le THF (3 éq., 0,96 mmol), puis le TMSCl (10 éq., 3,2 mmol, 0,4 mL). La solution est agitée 2h puis refroidie à 0°C. 2 éq. (0,64 mmol, 24 mg) de LiAlH₄ sont additionnés à 0°C et la solution est remontée à température ambiante. Au bout d'1h, 2 éq. sont additionnés, puis au bout d'1h, 1 éq. est additionné. La solution est agitée 1h, puis 75 µL d'eau sont ajoutés à 0°C, 75 µL de NaOH 15%, et 200 µL d'eau. Les sels sont filtrés sur célite. Le filtrat est lavé avec AcOEt, la phase organique est lavée avec une solution de NaCl saturé, séchée sur MgSO₄ et concentrée. Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 3/7) donne **94** (45 mg, 49%) sous la forme d'une huile transparente.

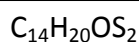
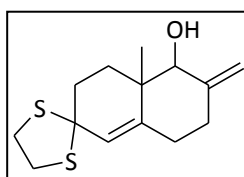
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5.67 (1H, s, H₄), 3.68 (2H, ABq, J_{AB} = 13 Hz, H₁₁), 3.41-3.20 (4H, SCH₂CH₂S), 2.86 (1H, m, H₈), 2.28-1.67 (8H, m, H₁, H₂, H₆, H₇), 1.32 (3H, s, H₁₁).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 215.4 (C₉), 140.9 (C₅), 128.4 (C₄), 64.7 (C₃), 62.8 (C₁₁), 49.6 (C₈), 48.1 (C₁₀), 40.2, 39.7 (SCH₂CH₂S), 37.5, (C₂), 30.6 (C₆), 30.4 (C₁), 26.9 (C₇), 24.8 (C₁₂).

IR (diamant ATR): 3512, 2926, 1701, 1435, 1261, 738 (cm⁻¹).

m/z 311 [M+Na]⁺.

HRMS calculée pour C₁₄H₂₁O₂S₂ : 285,0979. Trouvée : 285,0977.

8'a-méthyl-2'-méthylènespiro[1,3-dithiolane-2,6'-3,4,7,8-tétrahydro-1H-naphthalène]-1'-ol**(Composé 95)**

$$\text{MM} = 268,10 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

A une solution de composé **78** (0,35 mmol, 100 mg,) dans 3,5 mL de THF anhydre, sous argon à 0°C, est additionné du LiAlH₄ (5 éq., 1,75 mmol, 66 mg). La solution est agitée 12 h à température ambiante, puis 66 µL d'eau sont ajoutés, 66 µL de NaOH 15 %, et enfin 200 µL d'eau. Les sels sont filtrés sur célite et lavés avec AcOEt. La phase organique est lavée avec une solution de NaCl saturé, séchée sur MgSO₄ et concentrée. Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 1/9) donne **95** (43 mg, 48%) sous la forme d'une huile blanche.

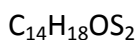
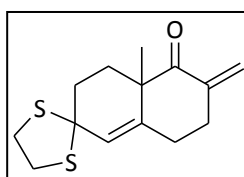
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5.65 (1H, s, H₄), 4.98 (1H, brs, H_{11A}), 4.91 (1H brs, H_{11B}), 3.82 (1H, brs, H₉), 3.38-3.18 (4H, SCH₂CH₂S), 2.41 (1H, m, H_{7A}), 2.42-1.99 (5H, m, H₁, H₂, H_{7B}), 1.89 (2H, m, H₆), 1.62 (1H, m, OH), 0.90 (3H, s, H₁₂).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 147.8 (C₈), 142.6 (C₅), 127.1 (C₄), 106.2 (C₁₁), 79.5 (C₉), 65.4 (C₃), 41.8 (C₁₀), 40.1, 39.7 (SCH₂CH₂S), 37.9 (C₂), 35.2 (C₆), 33.7 (C₇), 32.5 (C₁), 17.0 (C₁₂).

IR (diamant ATR): 3452, 2929, 1650, 1432, 1277, 1071, 726 (cm⁻¹).

m/z 269 [M+H]⁺, 291 [M+Na]⁺.

HRMS calculée pour C₁₄H₂₁OS₂: 269,1031. Trouvée : 269,1028.

8'a-méthyl-2'-méthylène-spiro[1,3-dithiolane-2,6'-3,4,7,8-tétrahydronaphthalène]-1'-one**(Composé 96a)**

$$\text{MM} = 266,08 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

A une solution de composé **95** (0,3 mmol, 80 mg) dans 3 mL de CH_2Cl_2 et 0,25 mL de pyridine (10 éq.), sous argon à 0°C , est additionné du periodinane de Dess-Martin (1,5 éq., 0,45 mmol, 190 mg). La solution est agitée 15 min, puis 10 mL d'une solution saturée de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3/\text{NaHCO}_3$ 1/1 sont additionnés. La phase aqueuse est extraite trois fois au CH_2Cl_2 , les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO_4 et concentrée. Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 5/95 + 0,1% Et_3N) donne **96a** (55 mg, 70%) sous la forme d'une huile orange.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.86 (1H, d, $J_{11A,11B} = 1.0$ Hz, H_{11A}), 5.73 (1H, s, H_4), 5.22 (1H, d, $J_{11A,11B} = 1.0$ Hz, H_{11B}), 3.40-3.23 (4H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.73 (1H, dd, $J_{6A,7A} = 5.0$ Hz, $J_{6A,6B} = 16.0$ Hz, H_{6A}), 2.55 (1H, ddd, $J_{6A,7A} = 5.0$ Hz, $J_{6B,7A} = 6.5$ Hz, $J_{7A,7B} = 13.0$ Hz, H_{7A}), 2.45 (1H, ddd, $J_{6B,7B} = 2.0$ Hz, $J_{6B,7A} = 6.5$ Hz, $J_{6A,6B} = 16.0$ Hz, H_{6B}), 2.26 (1H, dd, $J_{6A,7B} = 6.5$ Hz, $J_{7A,7B} = 13.0$ Hz, H_{7B}), 2.17 (3H, m, H_{1A} , H_2), 1.88 (1H, m, H_{1B}), 1.24 (3H, s, H_{12}).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 204.0 (C_9), 143.5 (C_8), 140.0 (C_5), 128.3 (C_4), 121.8 (C_{11}), 64.8 (C_3), 48.4 (C_{10}), 40.1, 39.7 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 40.1 (C_2), 32.2 (C_6), 31.3 (C_1), 30.1 (C_7), 25.1 (C_{12}).

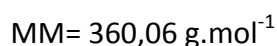
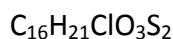
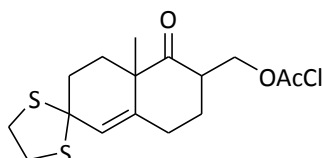
IR (diamand ATR): 2926, 2847, 1717, 1267, 985 (cm^{-1}).

m/z 267 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 289 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

HRMS calculée pour $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{OS}_2$: 267,0878. Trouvée : 267,0872.

2'-(hydroxyméthyl)-8'a-méthyl-spiro[1,3-dithiolane-2,6'-3,4,7,8-tétrahydro-2H-naphthalène]-1'-one chloroacétate

(Composé 98)



A une solution de composé **94** (0,88 mmol, 250 mg) dans 9 mL de CH_2Cl_2 et 3 mL de pyridine, sous argon à température ambiante, est additionné du $(\text{ClAc})_2\text{O}$ (2 éq., 1,75 mmol, 300 mg). La solution est agitée 1 h, puis de l'eau est ajoutée. La phase aqueuse est extraite trois fois au CH_2Cl_2 , les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO_4 et concentrées. Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 3/7) donne **98** (212 mg, 67%) sous la forme d'une huile jaune.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.68 (1H, s, H_4), 4.53 (1H, dd, $J_{8,11A} = 5.5 \text{ Hz}$, $J_{11A,11B} = 11.5 \text{ Hz}$, H_{11A}), 4.17 (1H, dd, $J_{8,11B} = 6.0 \text{ Hz}$, $J_{11A,11B} = 11.5 \text{ Hz}$, H_{11B}), 4.05 (2, s, CH_2Cl), 3.37-3.20 (4H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 3.05 (1H, dq, $J_{8,11A} J_{8,11B} J_{8,7A} = 6.0 \text{ Hz}$, $J_{8,7B} = 12.5 \text{ Hz}$, H_8), 2.61 (1H, ddd, $J_{6A,7A} = 1.5 \text{ Hz}$, $J_{6A,7B} = 4.5 \text{ Hz}$, $J_{6A,6B} = 14.0 \text{ Hz}$, H_{6A}), 2.31 (1H, ddd, $J_{6B,7A} = 4.5 \text{ Hz}$, $J_{6B,7B} = 5.0 \text{ Hz}$, $J_{6A,6B} = 14.0 \text{ Hz}$, H_{6B}), 2.21-2.10 (4H, m, H_{1A} , H_2 , H_{7A}), 1.75 (1H, m, H_{1B}), 1.40 (1H, ddd, $J_{6A,7B} J_{6B,7B} = 4.5 \text{ Hz}$, $J_{7A,7B} J_{8,7B} = 13.0 \text{ Hz}$, H_{7B}), 1.32 (3H, s, H_{12}).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 210.5 (C_9), 167.2 (CO), 140.6 (C_5), 128.6 (C_4), 65.1 (C_{11}), 49.5 (C_3), 48.1 (C_{10}), 44.5 (C_8), 40.8 (CH_2Cl), 40.2, 39.7 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 37.5 (C_2), 30.5 (C_1 , C_6), 29.0 (C_7), 24.6 (C_{12}).

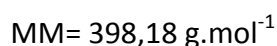
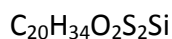
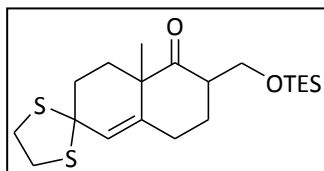
IR (diamand ATR): 2929, 1704, 1441, 1169, 966 (cm^{-1}).

m/z 383 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

HRMS calculée pour $C_{16}H_{22}ClO_3S_2$: 261,0695. Trouvée : 261,0693.

2'-(hydroxyméthyl)-8'a-méthyl-spiro[1,3-dithiolane-2,6'-3,4,7,8-tétrahydro-2H-naphthalène]-1'-one triéthylsilyléther

(Composé 100)



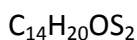
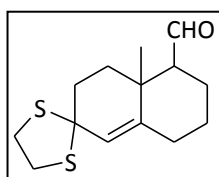
Le composé **100** est obtenu selon le même protocole que le composé **20**, à partir du composé **94** (0,35 mmol, 100 mg). Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 5/95) donne **100** (90 mg, 63%) sous la forme d'une huile jaune pâle.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.66 (1H, s, H_4), 4.02 (1H, dd, $J_{8,11\text{A}} = 4.0 \text{ Hz}$, $J_{11\text{A},11\text{B}} = 10.5 \text{ Hz}$, $\text{H}_{11\text{A}}$), 3.51 (1H, dd, $J_{8,11\text{B}} = 8.0 \text{ Hz}$, $J_{11\text{A},11\text{B}} = 10.5 \text{ Hz}$, $\text{H}_{11\text{B}}$), 3.38-3.21 (4H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.83 (1H, m, H_8), 2.53 (1H, dd, $J_{6\text{A},7\text{A}} = 4.5 \text{ Hz}$, $J_{6\text{A},6\text{B}} = 14.5 \text{ Hz}$, $\text{H}_{6\text{A}}$), 2.38-2.13 (5H, m, $\text{H}_{1\text{A}}$, H_2 , $\text{H}_{6\text{B}}$, $\text{H}_{7\text{A}}$), 1.69 (1H, m, $\text{H}_{1\text{B}}$), 1.30 (3H, s, H_{12}), 1.26 (1H, m, $\text{H}_{7\text{B}}$), 0.94 (9H, t, $J = 8.0 \text{ Hz}$, CH_3), 0.59 (12H, q, $J = 8.0 \text{ Hz}$, CH_2Si).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 212.6 (C_9), 141.8 (C_5), 127.8 (C_4), 64.9 (C_3), 62.2 (C_{11}), 49.5 (C_{10}), 48.5 (C_8), 40.8 (CH_2Cl), 40.2, 39.7 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 37.6 (C_2), 30.8 (C_1), 30.6 (C_6), 29.4 (C_7), 24.8 (C_{12}), 6.8 (CH_3), 4.3 (CH_2Si).

IR (diamant ATR): 2929, 1663, 1448, 1045, 995 (cm^{-1}).

m/z 399 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 421 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

8a-méthylspiro[1,2,3,4,7,8-hexahydronaphthalène-6,2'-1,3-dithiolane]-1-carbaldéhyde**(Composé 102)**

$$MM = 268,10 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

A une solution de LDA fraîchement préparée (2 éq., 1,2 mmol) dans 2 mL de THF, sous argon à -78°C , est additionné 0,23 mL d'une solution de TMSCH_2N_2 2 M dans Et_2O (1,2 éq., 0,47 mmol). La solution jaune est agitée 30 min à -78°C , puis une solution de composé **76** (0,39 mmol, 100 mg) dans 1 mL de THF est additionnée. La solution est agitée 1 h à -78°C , puis 3 h à reflux. Après retour à température ambiante, de l'eau est ajoutée, la phase aqueuse est extraite trois fois avec AcOEt, les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO_4 et concentrées. Une purification sur colonne de silice (AcOEt/EP 5/95) donne le composé **102** (27 mg, 29%) sous forme d'huile incolore.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 9.78 (1H, d, $J_{9,11} = 2.0$ Hz, H_{11}), 5.54 (1H, s, H_4), 3.35-3.17 (4H, m, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.20-2.09 (4H, m, H_{1A} , H_2 , H_9), 2.02 (1H, m, H_{1B}), 1.98 (2H, m, H_6), 1.82 (1H, m, H_{7A}), 1.73 (2H, m, H_8), 1.30 (1H, m, H_{7B}), 1.11 (3H, s, H_{12}).

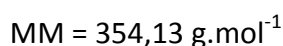
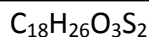
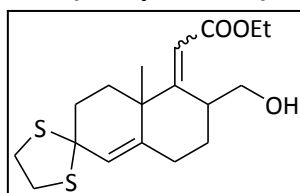
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 204.5 (C_{11}), 143.3 (C_5), 125.9 (C_4), 65.0 (C_3), 60.6 (C_9), 40.1, 39.6 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 37.3 (C_2), 37.2 (C_1), 36.8 (C_{10}), 31.7 (C_6), 25.6 (C_7), 22.1 (C_8), 19.6 (C_{13}).

IR (diamant ATR): 2932, 2850, 2786, 1441, 1032, 849 (cm^{-1}).

m/z 269 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 291 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

Ethyl (2E)-2-[2'-(hydroxyméthyl)-8'a-méthyl-spiro[1,3-dithiolane-2,6'-3,4,7,8-tétrahydro-2H-naphthalène]-1'-ylidène]ester

(Composé 103)



A 213 μL d'éthyle vinyle éther en solution 50% en masse dans l'hexane (4 éq., 1 mmol) dans 3 mL de THF anhydre, sous argon à -78°C , sont additionnés 171 μL d'une solution de *n*-BuLi 2,2 M dans l'hexane (1,5 éq., 0,37 mmol). La solution est agitée 30 min à 0°C , puis une solution de composé **100** (0,25 mmol, 100 mg) dans 0,5 mL de THF anhydre est additionnée à -78°C . La solution est agitée 30 min à -78°C puis 2 h à température ambiante. Le mélange est dilué dans AcOEt, de l'eau est ajoutée et la phase aqueuse est extraite trois fois. Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution de NaCl saturée, séchées sur MgSO_4 et concentrées. Le résidu est repris dans 2 mL de CH_2Cl_2 et 72 μL de EtOH (5 éq., 1,25 mmol). 7 mg d'une poudre contenant 64,4% de AuCl_3 (0,1 éq., 0,025 mmol) sont additionnés et la solution est agitée 5 min à température ambiante. Les solvants sont évaporés et une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 2/98) donne **103** (24 mg, 21%) sous la forme d'une huile transparente.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.89 (1H, s, H_{11}), 5.70 (1H, s, H_4), 4.38-3.87 (2H, m, H_{13}), 3.70 (2H, q, $J = 7.0$ Hz, OCH_2), 3.37-3.18 (4H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 2.87 (1H, m, H_8), 2.60-1.51 (8H, m, H_1 , H_2 , H_6 , H_7), 1.28 (3H, s, H_{12}), 1.19 (3H, q, $J = 7.0$ Hz, CH_3).

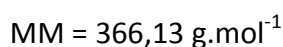
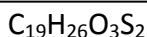
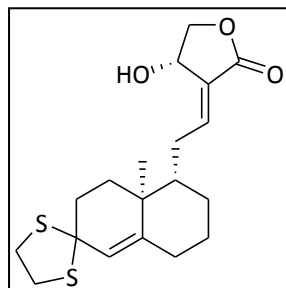
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 169.9 (CO), 165.5 (C_9), 140.3 (C_5), 129.1 (C_4), 112.8 (C_{11}), 70.2 (C_{13}), 64.5 (C_3), 58.4 (OCH_2), 42.2 (C_{10}), 40.2, 40.1 ($\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 32.9 (C_8), 39.7, 36.2, 30.0, 25.8 (C_1 , C_2 , C_6 , C_7), 27.8 (C_{12}), 18.4 (CH_3).

IR (diamant ATR): 3425, 2965, 1707, 1433, 1237, 823 (cm^{-1}).

m/z 377 [M+H]⁺.

(3E,4S)-3-[2-[(1S,8aS)-8a-methylspiro[1,2,3,4,7,8-hexahydronaphthalene-6,2'-1,3-dithiolane]-1-yl]ethylidene]-4-hydroxy-tetrahydrofuran-2-one

(Composé 104)



A une solution de LDA fraîchement préparée (3,8 éq., 0,889 mmol) dans 7mL de THF, sous argon à -78°C, est additionnée la β-hydroxy-γ-butyrolactone (1,65 éq., 0,234 mmol, 20 μL). La solution est agitée 1 h à -78°C, puis une solution d'aldéhyde **90b** (0,14 mmol, 40 mg) dans 200 μL de THF et 200 μL de HMPA est additionnée. La solution est remontée à -30°C pendant 3 h, puis agitée à -30°C pendant 1 h. Une solution de NH₄Cl saturée est ajoutée et la phase aqueuse est extraite trois fois avec AcOEt. Les phases organiques sont lavées avec une solution de NaCl saturée, séchées sur MgSO₄ et concentrées. Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 1/1) donne **104** (12 mg, 23%) sous la forme d'une huile transparente.

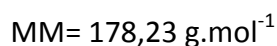
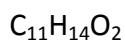
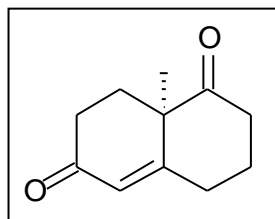
RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃): δ 6.21 (1H, t, J_{11,12} = 6.0 Hz, H₁₂), 5.53 (1H, s, H₄), 4.90 (1H, m, H₁₄), 4.51 (1H, m, H_{15A}), 3.82 (1H, m, H_{15B}), 3.38-3.17 (4H, m, SCH₂CH₂S), 2.19-1.19 (13H, m, H₁, H₂, H₆, H₇, H₈, H₉, H₁₁), 0.96 (3H, s, H₁₇).

RMN ¹³C (62.5 MHz, DMSO): δ 168.2 (C₁₆), 146.7 (C₁₂), 142.5 (C₅), 132.2 (C₁₃), 123.9 (C₄), 74.3 (C₁₅), 64.8 (C₃), 58.1 (C₁₄), 44.2 (C₉), 39.9 (SCH₂CH₂S, C₁₀), 38.4, 37.5, 34.1, 26.7 (C₁, C₂, C₆, C₇, C₈, C₁₁), 22.4 (C₁₃).

IR (diamant ATR): 3426, 2928, 1783, 1488, 1128, 919 (cm⁻¹).

m/z 267 [M+H]⁺, 389 [M+Na]⁺, 755 [2M+H]⁺.

HRMS calculée pour C₁₉H₂₇O₃S₂ : 367,1394. Trouvée : 367,1396.

8a-Méthyl-3,4,8,8a-tétrahydro-2H,7H-naphthalène-1,6-dione (Composé 106)

A une solution de 2-méthyl-1,3-cyclohexanedione (5 mmol, 630 mg) dans 15 mL d'eau distillée, sont ajoutés l'hydroquinone (5 éq., 25 mmol, 2,75 g) puis la méthylvinylcétone (2 éq., 10 mmol, 0,8 mL). La solution est agitée 5 h à 75 °C puis elle est refroidie à température ambiante et l'eau est évaporée. Le résidu est repris dans le CH_2Cl_2 et l'hydroquinone est filtrée et lavée au CH_2Cl_2 . Le filtrat est concentré sous pression réduite.

Le résidu est dissous dans 3 mL de DMF sous argon et le (*R*)-TRIP (0,3 éq., 0,08 mmol, 57 mg) est ajouté. La solution est agitée 64 h à température ambiante puis le DMF est évaporé. Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 1/2, 1/1) donne **106** (34 mg, 75%, 88% ee) sous forme d'une huile jaune.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.86 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H_4), 2.73-1.69 (10H, m, $\text{H}_1, \text{H}_2, \text{H}_6, \text{H}_7, \text{H}_8$), 1.46 (3H, s, H_{11}).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 211.0, 198.3 (C=O), 165.7 (C_5), 125.8 (C_4), 50.6 (C_{10}), 37.6, 33.6, 31.5, 29.7 ($\text{C}_1, \text{C}_2, \text{C}_6, \text{C}_8$), 23.3 (C_{11}), 22.9 (C_7).

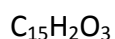
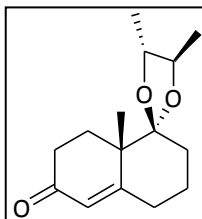
IR (diamand ATR): 2938, 1735, 1687, 1221, 987 (cm^{-1}).

m/z 179 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 201 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

$[\alpha]_D$ -110.7 (c 1.30, EtOH)

(4R,4'aS,5R)-4,4'a,5-trimethylspiro[1,3-dioxolane-2,5'-4,6,7,8-tetrahydro-3H-naphthalene]-2'-one

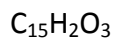
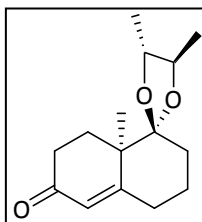
(Composé (+)-107)



$$\text{MM} = 250.33 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

(4R,4'aR,5R)-4,4'a,5-trimethylspiro[1,3-dioxolane-2,5'-4,6,7,8-tetrahydro-3H-naphthalene]-2'-one

(Composé (-)-107)



$$\text{MM} = 250.33 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

A une solution de composé **106** (1 mmol, 178 mg) dans 1 mL de DME sous argon est ajouté le (2R,3R)-butanediol (1,5 éq., 0,137 mL) et le $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ (1,1 éq., 1,138 mL). La solution est agitée 2 h à température ambiante puis une solution de NaHCO_3 saturée est additionnée et le mélange est dilué avec de l'AcOEt. La phase aqueuse est extraite trois fois, les phases organiques sont rassemblées, lavées avec une solution de NaCl saturée, séchée sur MgSO_4 et concentrées. Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/EP 1/8) donne les composés **(+)-107** (58 mg, 23%) et **(-)-107** (73 mg, 29%) sous la forme de solides blancs.

Composé (+)-107

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ5.76 (1H, s, H₄), 3.68 (1H, dq, J = 6.0 Hz, J = 8.5 Hz, OCH), 3.50 (1H, dq, J = 6.0 Hz, J = 8.5 Hz, OCH), 2.40-1.67 (10H, m, H₁, H₂, H₆, H₇, H₈), 1.27 (3H, s, H₁₁), 1.21 (3H, d, J = 6.0 Hz, CH₃), 1.18 (3H, d, J = 6.0 Hz, CH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ199.4 (CO), 168.1 (C₅), 125.8 (C₄), 111.4 (C₉), 80.2 (CH), 77.7 (CH), 44.8 (C₁₀), 32.1, 31.6, 31.1, 26.8, 21.3 (C₁, C₂, C₆, C₇, C₈), 20.0 (C₁₁), 17.9 (CH₃), 16.1 (CH₃).

IR (diamand ATR): 2967, 1726, 1238, 1013, 883 (cm⁻¹).

m/z 251 [M+H]⁺, 501 [2M+H]⁺, 523 [2M+Na]⁺.

[α]_D +76,2 (c 0,9, EtOH)

Composé (-)-107

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ5.77 (1H, s, H₄), 3.67 (1H, dq, J = 6.0 Hz, J = 8.5 Hz, OCH), 3.51 (1H, dq, J = 6.0 Hz, J = 8.5 Hz, OCH), 2.41-1.57 (10H, m, H₁, H₂, H₆, H₇, H₈), 1.31 (3H, s, H₁₁), 1.22 (3H, d, J = 6.0 Hz, CH₃), 1.20 (3H, d, J = 6.0 Hz, CH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ199.5 (CO), 167.8 (C₅), 125.6 (C₄), 111.5 (C₉), 79.8 (CH), 78.3 (CH), 45.0 (C₁₀), 33.8, 31.6, 31.1, 26.8, 21.8 (C₁, C₂, C₆, C₇, C₈), 20.7 (C₁₁), 17.7(CH₃), 15.8 (CH₃).

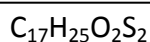
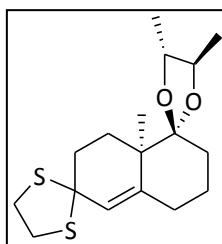
IR (diamand ATR): 2967, 1726, 1238, 1013, 883 (cm⁻¹).

m/z 251 [M+H]⁺, 501 [2M+H]⁺, 523 [2M+Na]⁺.

[α]_D -79,1 (c 1.0, EtOH)

HRMS calculée pour C₁₅H₂₃O₃ : 251.1640. Trouvée : 251.1641.

Composé (-)-110



$$\text{MM} = 326,14 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

Le composé (-)-110 est obtenu selon le même protocole que le composé (-)-107 à partir du composé **76** (3,93 mmol, 1 g, 88% ee). Une purification par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/cyclohexane 2/98) donne (-)-110 (892 mg, 70%) sous la forme d'une solide blanc.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5.62 (1H, s, H₄), 3.65 (1H, dq, J = 6.0 Hz, J = 8.5 Hz, OCH), 3.55 (1H, dq, J = 6.0 Hz, J = 8.5 Hz, OCH), 3.35-3.19 (4H, m, SCH₂CH₂S), 2.21-1.52 (10H, m, H₁, H₂, H₆, H₇, H₈), 1.28 (3H, d, J = 6.0 Hz, CH₃), 1.21 (3H, d, J = 6.0 Hz, CH₃), 1.18 (3H, s, H₁₁).

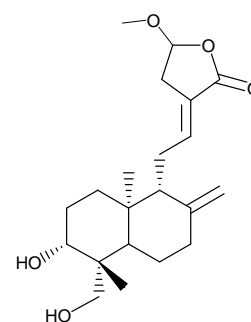
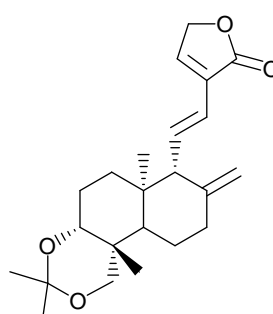
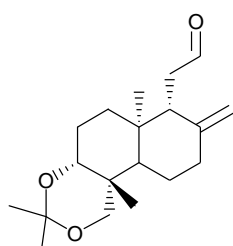
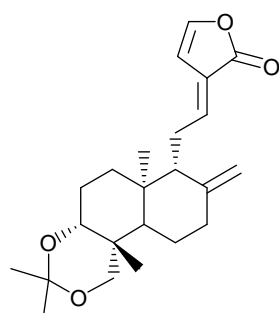
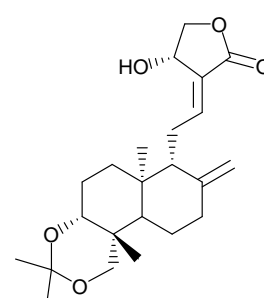
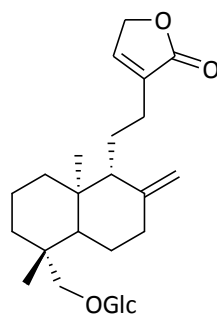
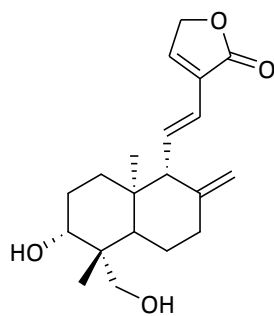
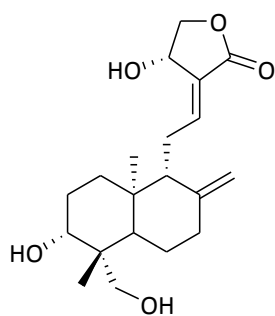
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 142.4 (C₅), 127.0 (C₄), 112.3 (C₉), 79.6 (CH), 78.1 (CH), 65.6 (C₃), 43.4 (C₁₀), 39;8, 39.6 (SCH₂CH₂S), 37.9, 31.9, 30.2, 29.5, 22.8 (C₁, C₂, C₆, C₇, C₈), 22.0 (C₁₁), 17.9 (CH₃), 15.9 (CH₃).

IR (diamand ATR): 2929, 2860, 1653, 1438, 1080, 982, 836 (cm⁻¹).

m/z 327 [M+H]⁺, 349 [2M+H]⁺.

[α]_D -62,3 (c 1.0, EtOH)

HRMS calculée pour C₁₇H₂₇S₂O₂ : 327.1448. Trouvée : 327.1447.

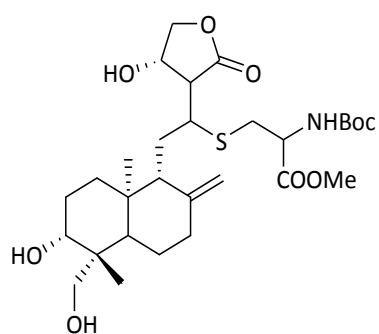
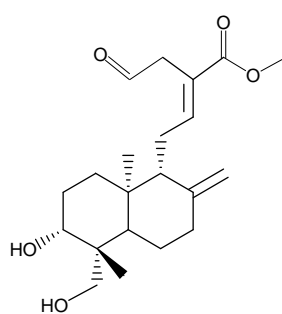
Chimiothèque

5

6

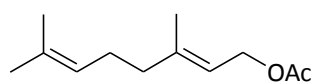
7

8

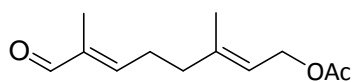


9

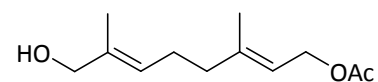
10



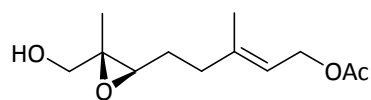
11



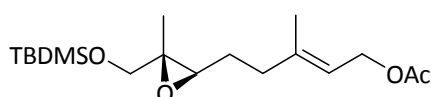
12



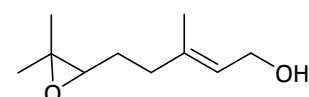
13



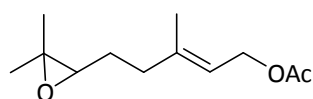
14



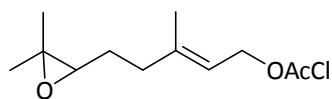
15



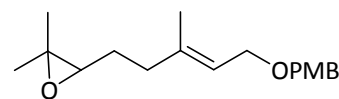
16



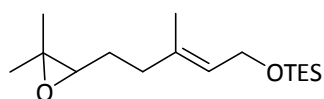
17



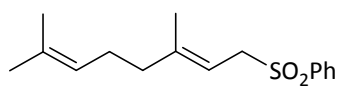
18



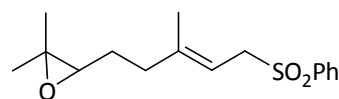
19



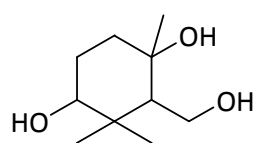
20



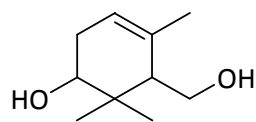
21



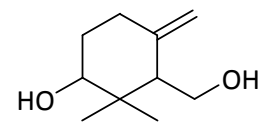
22



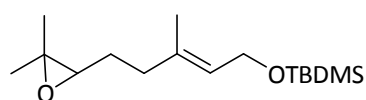
23



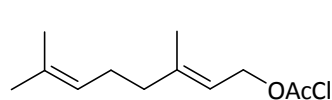
24



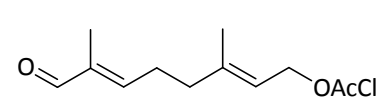
25



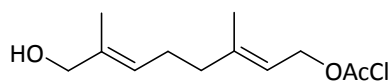
26



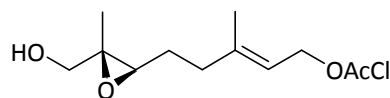
27



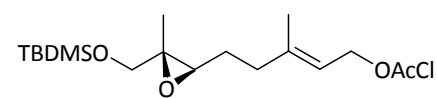
28



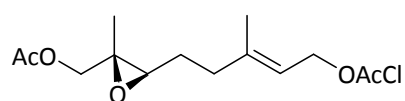
29



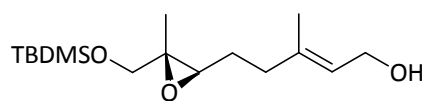
30



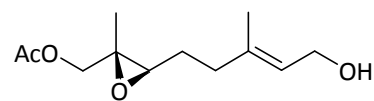
31



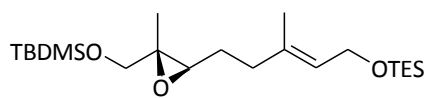
32



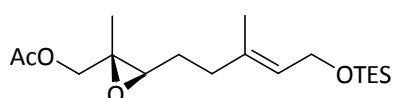
33



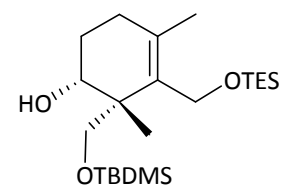
34



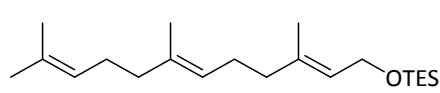
35



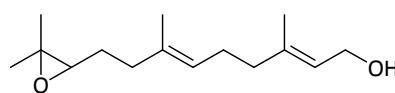
36



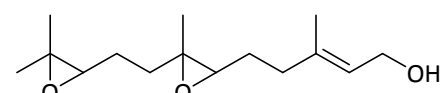
37



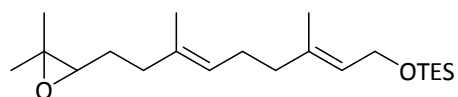
38



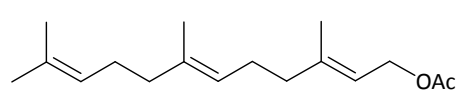
39



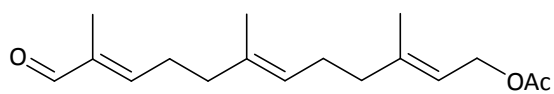
40



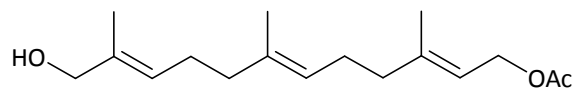
41



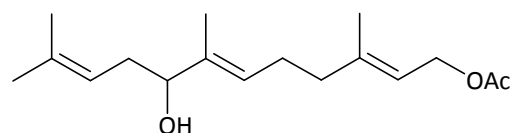
42



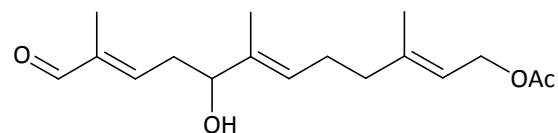
43



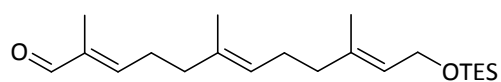
44



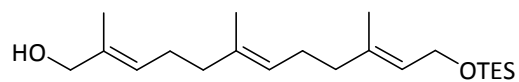
45



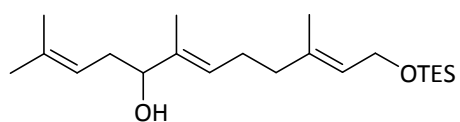
46



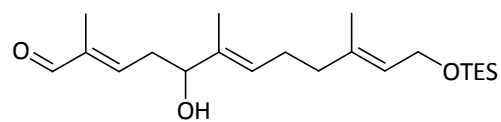
47



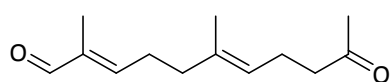
48



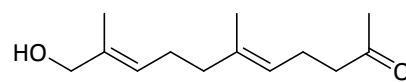
49



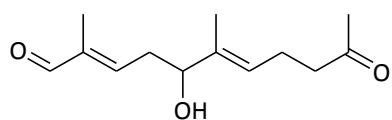
50



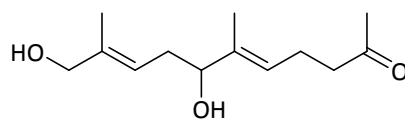
51



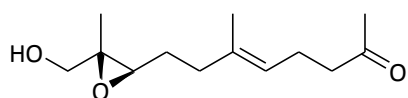
52



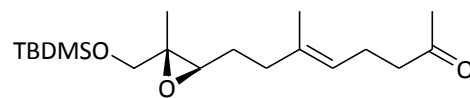
53



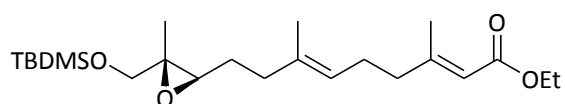
54



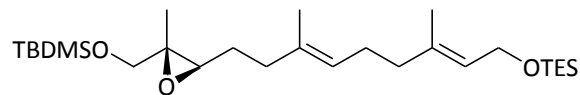
55



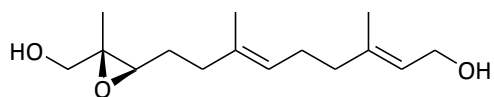
56



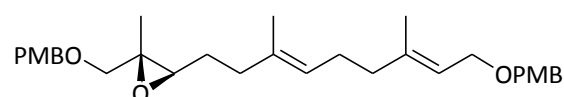
57



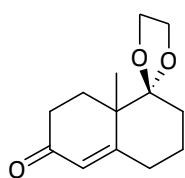
59



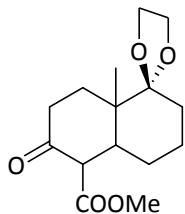
61



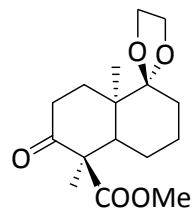
63



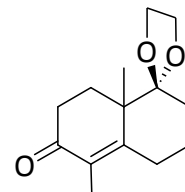
65



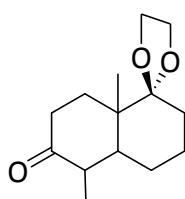
66



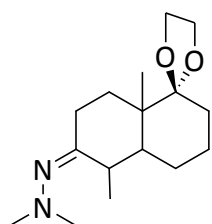
68



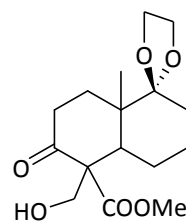
69



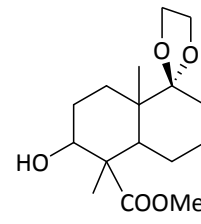
70



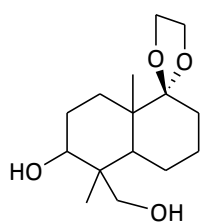
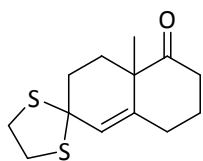
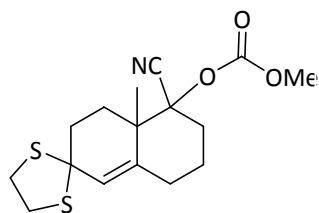
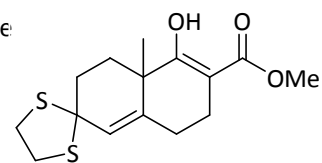
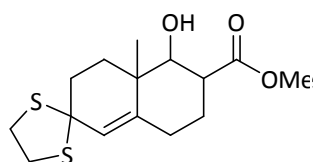
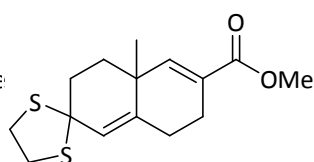
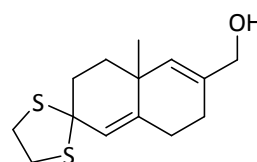
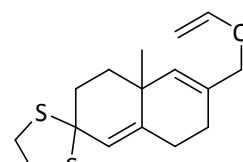
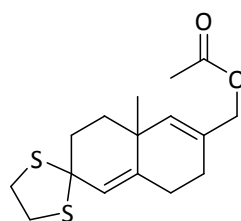
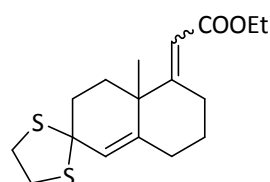
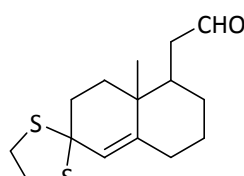
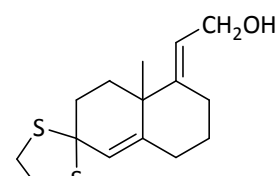
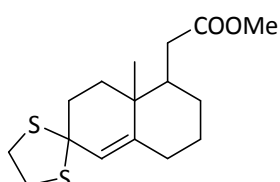
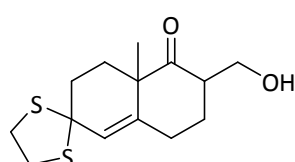
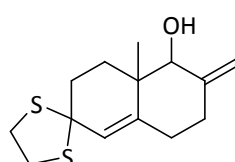
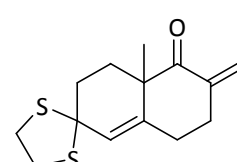
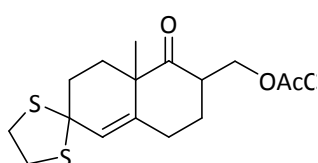
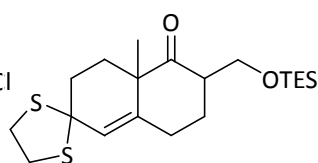
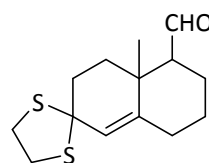
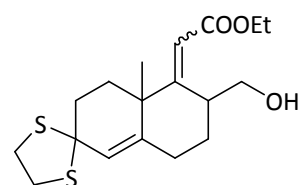
71

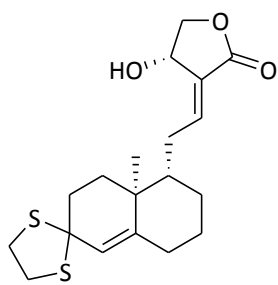


72

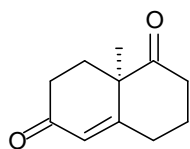


74

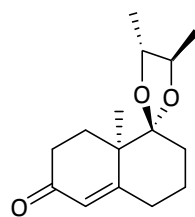
**75****76****77****78****80****81****82****83****86****89****90b****91****90a****94****95****96a****98****100****102****103**



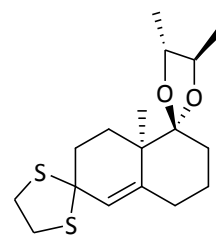
104



106



(-)107



(-)110

Références Bibliographiques

1. Gortler, M.K. *Rec.Trav.Chim.* **1911**, *30*, 151-160
2. Gortler, M.K. *Rec.Trav.Chim.* **1914**, *33*, 239-243
3. Moktader, .A.; Guha-Sirca, S.S. *J.Indian Chem.Soc.* **1939**, *16*, 333-338
4. Chakravarti, D.; Chakravarti, R.N. *J.Chem.Soc.* **1952**, 1697-1700
5. Cava, M.P.; Chan, W.R.; Haynes, L.J.; Johnson, L.F.; Weinstein, B. *Tetrahedron* **1962**, *18*, 397-403
6. Djerassi, C.; Burstein, S. *Tetrahedron* **1959**, *7*, 37-46
7. Cava, M.P.; Chan, W.R.; Stein, R.P.; Willis, C.R. *Tetrahedron* **1965**, *21*, 2617-2632
8. Fujita, T.; Fujitani, R.; Takeda, Y.; Takaishi, Y.; Yamada, T.; Kido, M.; Miura, I. *Chem.Pharm.Bull.* **1984**, *32*, 2117-2125
9. Medforth, C.J.; Chang, R.S.; Chen, G-Q.; Olmstead, M.M.; Smith, K.M. *J.Chem.Soc. Perkin Trans. 2* **1990**, 1011-1016
10. Jalal, M.A.F.; Overton, K.H.; Rycroft, D.S. *Phytochem.* **1979**, *18*, 149-151
11. Kuroyanagi, M.; Sato, M.; Ueno, A., Nishi, K. *Chem.Pharm.Bull.* **1987**, *35*, 4429-4435
12. Gupta, K.K.; Taneja, S.C.; Dhar, K.L.; Atal, C.K. *Phytochemistry* **1983**, *22*, 314-315
13. Chan, W.R.; Taylor, D.R.; Willis, C.R. *Tetrahedron Lett.* **1968**, *9*, 4803-4806
14. Chan, W.R.; Taylor, T.R.; Willis, C.R.; Bodden, R.L.; Fehlhaber, H.-W. *Tetrahedron* **1971**, *27*, 5081-5091
15. Balmain, A.; Connolly, J.D. *J.Chem.Soc. Perkin Trans. 1* **1973**, 1247-1251
16. Rao, Y.K.; Vimalamma, G.; Rao, C.V.; Tzeng, Y.-M. *Phytochem.* **2004**, *65*, 2317-2321
17. Pramanick, S.; Banerjee, S.; Achari, B.; Das, B.; Sen, A.K.; Mukhopadhyay, S.; Neuman, A.; Prangé, T. *J.Nat.Prod.* **2006**, *69*, 403-405
18. Chen, L.; Zhu, H.; Wang, R.; Zhou, K.; Jing, Y.; Qiu, F. *J.Nat.Prod.* **2008**, *71*, 852-855
19. Chao, W.-W.; Lin, B.-F. *Chinese Medicine* **2010**, *5*, 17-31
20. He, X.; Li, J.; Gao, H.; Qiu, F.; Cui, X.; Yao, X. *Chem.Pharm.Bull.* **2003**, *51*, 586-589
21. Otake, T.; Mori, H.; Morimoto, M. *Phytother.Res.* **1995**, *9*, 6-10
22. Calabrese, C.; Berman, S.H.; Babish, J.G.; Ma, X.; Shinto, L.; Dorr, M.; Wells, K.; Wenner, C.A.; Standish, L.J. *Phytother.Res.* **2000**, *14*, 333-338
23. Wiart, C.; Kumar, K.; Yusof, M.Y.; Hamimah, H.; Fauzi, Z.M.; Sulaiman, M. *Phytother.Res.* **2005**, *19*, 1069-1070
24. Lin, T.-P.; Chen, S.-Y.; Duh, P.-D.; Chang, L.-K.; Liu, Y.-N. *Biol.Pharm.Bull.* **2008**, *31*, 2018-2023
25. Chen, J.-X.; Xue, H.-J.; Ye, W.-C.; Fang, B.-H.; Liu, Y.-H.; Yuan, S.-H.; Yu, P.; Wang, Y.-Q. *Biol.Pharm.Bull.* **2009**, *32*, 1385-1391
26. Jiang, X., Yu, P.; Jiang, J.; Zhang, Z.; Wang, Z.; Yang, Z.; Tian, Z.; Wright, S.C.; Larrick, J.W.; Wang, Y. *Eur.J.Med.Chem.* **2009**, *44*, 2936-2943
27. Wang, Z.; Yu, P.; Zhang, G.; Xu, L.; Wang, D.; Wang, L.; Zeng, X.; Wang, Y. *Bioorg.Med.Chem.* **2010**, *18*, 4269-4274
28. Dai, G.-F.; Xu, H.-W.; Wang, J.-F.; Liu, F.-W.; Liu, H.-M. *Bioorg.Med.Chem.Lett.* **2006**, *16*, 2710-2713
29. Xu, H.-W.; Dai, G.-F.; Liu, G.-Z.; Wang, J.-F.; Liu, H.-M. *Bioorg.Med.Chem.* **2007**, *15*, 4247-4255

30. Manikam, S.T.; Stanslas, J. *J.Pharm.Pharmacol.* **2009**, *61*, 69-78
31. Yang, L.; Wu, D.; Luo, K.; Wu, S.; Wu, P. *Cancer Lett.* **2009**, *276*, 180-188
32. Jada, S.R.; Matthews, C.; Saad, M.S.; Hamzah, A.S.; Lajis, N.H.; Stevens, M.F.G.; Stanslas, J. *Br.J.Pharmacol.* **2008**, *155*, 641-654
33. Wong, H.C.; Sagineedu, S.R.; Lajis, N.H.; Loke, S.C.; Stanslas, J. *Afr.J.Pharm.Pharmacol.* **2011**, *5*, 225-233
34. Delhalle, S.; Blasius, R.; Dicato, M.; Diederich, M. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* **2004**, *1030*, 1-13
35. Li, Q.; Verma, I.M. *Nat.Rev.Immunol.* **2002**, *10*, 725-734
36. Puri, A.; Saxena, R.; Saxena, R.P.; Saxena, K.C.; Srivastava, V.; Tandon, J.S. *J.Nat.Prod.* **1993**, *56*, 995-999
37. Habtemariam, S. *Phytoter.Res.* **1998**, *12*, 37-40
38. Qin, L.-H.; Kong, L.; Shi, G.-J.; Wang, Z.-T.; Ge, B.-X. *Biol. Pharm.Bull.* **2006**, *29*, 220-224
39. Chiou, W.-F.; Lin, J.-J.; Chen, C.-F. *Br.J.Pharm.* **1998**, *125*, 327-334
40. Shen, Y.-C.; Chen, C.-F.; Chiou, W.-F. *Br.J.Pharm.* **2002**, *135*, 399-406
41. Xia, Y.-F.; Ye, B.-Q.; Li, J.-G.; He, X.-J.; Lin, X.; Yao, X.; Ma, D.; Slungaard, A.; Hebbel, R.P.; Key, N.S.; Geng, J.-G. *J.Immunol.* **2004**, *173*, 4207-4217
42. Hidalgo, M.A.; Romero, A.; Figueroa, J.; Cortés, P.; Concha, I.I. ; Hancke, J.L. ; Burgos, R.A. *Br.J.Pharmacol.* **2005**, *144*, 680-686
43. Bao, Z.; Guan, S.; Cheng, C.; Wu, S.; Wong, S.H.; Kemeny, D.M.; Leung, B.P.; Wong, W.S.F. *Am.J.Resp.Crit.Care Med.* **2009**, *179*, 657-665
44. Levita, J.; Nawawi, A.; Mutalib, A.; Ibrahim, S. *Int.J.Pharmacol.* **2010**, *6*, 569-576
45. Chao, W.-W.; Kuo, Y.-H.; Lin, B.-F. *J.Agric.Food Chem.* **2010**, *58*, 2505-2512
46. Chao, C.-Y.; Lii, C.-K.; Tsai, I.-T.; Li, C.-C. ; Liu, K.-L. ; Tsai, C.-W. ; Chen, H.-W. *J.Agric.Food Chem.* **2011**, *59*, 5263-5271
47. Breitmaier, E. dans *Terpenes, Flavors, Fragences, Pharmaca, Pheromones*, Ed. Wiley-VCH, ISBN-13 978-3-527-31786-8
48. Cocker, J.D.; Halsall, T.G.; Bowers, A. *J.Chem.Soc.* **1956**, 4259-4262
49. Peters, R.J. *Nat.Prod.Rep.* **2010**, *27*, 1521-1530
50. Boukouvalas, J.; Wang, J.-X.; Marion, O.; Ndzi, B. *J.Org.Chem.* **2006**, *71*, 6670-6673
51. Karioti, A.; Heilmann, J.; Skaltsa, H. *Phytochem.* **2005**, *66*, 1060-1066
52. Gaspar-Marques, C. ; Simoes, M.F. ; Duarte, A. ; Rodrigues, B. *J.Nat.Prod.* **2003**, *66*, 491-496
53. Awen, B.Z.S.; Nozawa, M.; Hagiwara, H. *Org.Prep.Proced.Int.* **2008**, *40*, 317-363
54. Frija, L.M.T.; Frade, R.F.M.; Afonso, C.A.M. *Chem.Rev.* **2011**, DOI:10.1021/cr100258k
55. Nogueira, R.T.; Giacomini, R.A.; Sheperd, G.; Imamura, P.M. *J.Braz.Chem.Soc.* **2002**, *13*, 389-391
56. Giacomini, R.A.; Miranda, P.C..L ; Baptistella, L.H.B.; Imamura, P.M. *Arkivoc* **2003**, *10*, 314-322
57. Lombardo, L. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 4293-4296
58. Nunes, F.M.N.; Imamura, P.M. *J.Braz.Chem.Soc.* **1996**, *7*, 181-187
59. Hajos, Z.G.; Parrish, D.R. *J.Org.Chem.* **1974**, *39*, 1615-1621
60. Eder, U.; Sauer, G.; Wiechert, R. *Angew.Chem.Int.Ed.Engl.* **1971**, *10*, 496-497
61. Hoang, L.; Bahmanyar, S.; Houk, K.; List, B. *J.Am.Chem.Soc.* **2003**, *125*, 16-17
62. List, B. *Synlett* **2001**, 1675-1686
63. Harada, N.; Sugioka, T.; Uda, H.; Kuriki, T. *Synthesi*, **1990**, 53-56
64. Bui, T.; Barbas III, C.F. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6951-6954

65. Davies, S.G.; Sheppard, R.L.; Smith, A.D.; Thomson, J.E. *Chem.Comm*, **2005**, 3802-3804
66. Kanger, T.; Kriis, K.; Laars, M.; Kailas, T.; Mrisepp, A.-M.; Pehk, T.; Lopp, M. *J.Org.Chem.* **2007**, *72*, 5168-5173
67. Mori, K.; Katoh, T.; Suzuki, T.; Noji, T.; Yamanaka, M.; Akiyama, T. *Angew.Chem.Int.Ed.* **2009**, *48*, 1-4
68. Ling, T.; Chowdhury, C.; Kramer, B.A.; Vong, B.G.; Palladino, M.A.; Theodorakis, E.A. *J.Org.Chem.* **2001**, *66*, 8843-8853
69. Xu, M.; Hillwig, M.L.; Prisic, S.; Coates, R.M.; Peters, R.J. *Plant J.* **2004**, *39*, 309-318
70. Otama, K.; Kenmoku, H.; Oikawa, H.; Konig, W.A.; Toshima, H.; Mitsuhoski, W.; Yamane, H.; Sassa, T.; Toyomasu, T. *Plant J.* **2004**, *39*, 886-893
71. Sakamoto, T.; Miura, K.; Itoh, H.; Tatsumi, T.; Ueguchi-Tanaka, M.; Ishiyama, K.; Kobayashi, M.; Agrawal, G.K.; Takeda, S.; Abe, K.; Miyao, A.; Hirochika, H.; Kitano, H.; Ashikari, M.; Matsuoka, M. *Plant Physiol.* **2004**, *134*, 1642-1653
72. Prisic, S.; Xu, M.; Wilderman, P.R.; Peters, R.J. *Plant Physiol.* **2004**, *136*, 4228-4236
73. Nakano, S.-I.; Ohashi, S.; Hoshino, T.; *Org.Biomol.Chem.* **2004**, *2*, 2012-2022
74. Dennison, S.T.; Harrowven, D.C. *J.Chem.Ed.* **1996**, *73*, 697-701
75. Grinco, M.; Kulcitki, V.; Ungur, N.; Vlad, P.F.; Gavarin, M.; Castelluccio, F.; Cimino, G. *Helv.Chim.Acta* **2008**, *91*, 249-258
76. Tanis, S.P. *J.Org.Chem.* **1988**, *53*, 4929-4938
77. Huang, A.X.; Xiong, Z.; Corey, E.J. *J.Am.Chem.Soc.* **1999**, *121*, 9999-10003
78. Mi, Y.; Schreiber, J.V.; Corey, E.J. *J.Am.Chem.Soc.* **2002**, *124*, 11290-11291
79. Franck-Neumann, M.; Geoffroy, P.; Hanss, D. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 8487-8490
80. Franck-Neumann, M.; Geoffroy, P.; Hanss, D. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 2277-2280
81. Justicia, J.; Oltra, J.E.; Cuerva, J.M. *Tetrahedron Lett.*, **2004**, *45*, 4293-4296
82. Justicia, J.; Rosales, A.; Bunuel, E.; Oller-Lopez, J.L.; Valdivia, M.; Haidour, A.; Oltra, J.E.; Barrero, A.F.; Cardenas, D.J.; Cuerva, J.M. *Chem.Eur.J.* **2004**, *10*, 1778-1788
83. Haruo, Y.; Hasegawa, T.; Tanaka, H.; Takahashi, T. *Synlett* **2001**, *12*, 1935-1937
84. Zoretic, P.A.; Fang, H. *J.Org.Chem.* **1998**, *63*, 4779-4785
85. Kienzle, F.; Stadlwieser, J.; Mergelsberg, I. *Helv.Chim.Acta.* **1989**, *72*, 348-352
86. Delpech, B.; Calvo, D.; Lett, R. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 1015-1018 ; Delpech, B.; Calvo, D.; Lett, R. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1019-1022
87. Minger, T.L.; Phillips, A.J. *Tetrahedron Lett*, **2002**, *43*, 53-57-5359
88. Trost, B.M.; Gutierrez, A.C.; Ferreira, E.M. *J.Am.Chem.Soc.* **2010**, *132*, 9206-9218
89. Kin, K.; Cha, J.K. *Angew.Chem.Int.Ed.* **2009**, *48*, 5334-5336
90. Mori, K.; Waku, M. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 5653-5660
91. Hersel, U.; Steck, M.; Seifert, K. *Eur.J.Org.Chem.* **2000**, 1609-1615
92. Barrero, F.; Rosales, A.; Cuerva, J.M.; Oltra, J.E. *Org.Lett.* **2003**, *5*, 1935-1938
93. Saxena, S.; Jain, D.C.; Gupta, M.M.; Bhakuni, R.S.; Mishra, H.O.; Sharma, R.P. *Phytochem . Anal.* **2000**, *11*, 34-36
94. Xu, L.; Xiao, D-W.; Lou, S.; Zou, J-J.; Zhu, Y-B.; Fan, H-W.; Wang, G-J. *J.Chrom.B* **2009**, *877*, 502-506
95. Li, W., Fitzloff, J.F. *J.Liq.Chrom.&Rel.Technol.* **2002**, *25(9)*, 1335-1343
96. Du, Q.; Jerz, G.; Winterhalter, P. *J.Chrom.A* **2003**, *984*, 147-151
97. Marston, A.; Hostettmann, K. *J.Chrom.A* **2006**, *1112*, 181-194
98. Foucault, A.P.; Chevolut, L. *J.Chrom.A* **1998**, *808*, 3-22
100. Gu, Y.; Ma, J.; Liu, Y.; Chen, B.; Yao, S. *J.Chrom.B* **2007**, *854*, 328-331

101. Chen, L.; Jin, H.; Ding, L.; Zhang, H.; Wang, X.; Wang, Z.; Li, J.; Qu, C.; Wang, Y.; Zhang, H. *J.Chrom.A* **2007**, *1140*, 71-77
102. Ding, L.; Luo, X.-B.; Tang, F.; Yuan, J.-B.; Guo, M.; Yao, S.Z. *Talanta* **2008**, *74*, 1344-1349
103. Xu, L.; Xiao, D.-W.; Lou, S.; Zou, J.-J.; Zhu, Y.-B.; Fan, H.-W.; Wang, G.-J. *J.Chrom.B* **2009**, *877*, 502-506
104. Guiochon, G. *J.Chrom.A* **2007**, *1168*, 101-168
105. Xie, S.; Svec, F.; Fréchet, J.M.J. *Biotechnology and Bioengineering* **1999**, *62*, 30-35
106. Cunliffe, J.M.; Maloney, T.D. *J.Sep.Sci.* **2007**, *30*, 3104-3109
107. Xia, Y.-F.; Ye, B.-Q.; Li, J.-G.; He, X.-J.; Lin, X.; Yao, X.; Ma, D.; Slungaard, A.; Hebbel, R.P.; Key, N.S.; Geng, J.-G. *J.Immunol.* **2004**, *173*, 4207-4217
108. Nanduri, S.; Nyavanandi, V.K.; Thunuguntla, S.S.R.; Velisoju, M.; Kasu, S.; Rajagopal, S.; Kumar, R.A.; Rajagopalan, R.; Iqbal, J. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 4883-4886
109. Chao, W.-W.; Kuo, Y.-H.; Lin, B.-F. *J.Agric.Food Chem.* **2010**, *58*, 2505-2512
110. Van Tamelen, E.E. *Acc.Chem.Res.* **1968**, *1*, 111-120
111. Huang, A.-X.; Xiong, Z.; Corey, E.J. *J.Am.Chem.Soc.* **1999**, *121*, 9999-10003
112. Waitkins, G.R.; Clark, C.W. *Chem.Rev.* **1945**, *36*, 235-289
113. Trachtenberg, E.N.; Carver, J.R. *J.Org.Chem.* **1970**, *35*, 1646-1653
114. Fairlamb, I.J.S.; Cickinson, J.M.; Pegg, M. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2205-2208
115. Rapoport, H.; Bahlerao, U.T. *J.Am.Chem.Soc.* **1971**, *93*, 4835-4840
116. Wilberg, K.B.; Nielsen, S.D. *J.Org.Chem.* **1964**, *29*, 3353-3361
117. Schaefer, J.P.; Horvath, B.; Klein, H.P. *J.Org.Chem.* **1968**, *33*, 2647-2655
118. Sahara, Y.; Hirota, Y.; Nakagawa, K.; Kamao, M.; Tsugawa, N.; Okano, T. *Bioorg.Med.Chem.* **2008**, *16*, 3108-3117
119. Umbreit, M.A.; Sharpless, K.B. *J.Am.Chem.Soc.* **1977**, *99*, 5526-5528
120. Ra, C.S.; Park, G. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 1099-1102
121. Katsuki, T.; Sharpless, K.B. *J.Am.Chem.Soc.* **1980**, *102*, 5976-5978
122. Gao, Y.; Hanson, R.M.; Klunder, J.M.; Ko, S.-Y.; Masamune, H.; Sharpless, K.B. *J.Am.Chem.Soc.* **1987**, *109*, 5765-5780
123. Hashimoto, M.; Kan, T.; Nozaki, K.; Yanagiya, M.; Shirahama, H.; Matsumoto, T. *J.Org.Chem.* **1990**, *55*, 5088-5107
124. Li, W.-D.Z.; Yang, J.-H. *Org.Lett.* **2004**, *6*, 1849-1852
125. Barrero, A.F.; Quilez del Moral, J.F.; Sanchez, E.M.; Artega, J.F. *Eur.J.Org.Chem.* **2006**, 1627-1641
126. Arteaga, J.F.; Dommingo, V.; Quilez del Moral, J.F.; Barrero, A.F. *Org.Lett.* **2008**, *10*, 1723-1726
127. Barrero, A.F.; Cuerva, J.M.; Herrador, M.M.; Valdivia, M.V. *J.Org.Chem.* **2001**, *66*, 4074-4078
128. Haruo, Y.; Hasegawa, T.; Tanaka, H.; Takahashi, T. *Synlett* **2001**, *12*, 1935-1937
129. Villedieu, E.; Lopin-Bon, C.; Berteina-Raboin, S. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 2115-2118
130. Chuang, Y.-H.; Head, D.B. *J.Org.Chem.* **1988**, *53*, 4929-4938
131. Pelletier, S.W.; Chappell, R.L.; Prabhakar, S. *J.Am.Chem.Soc.* **1968**, *90*, 2889-2895
133. Donohoe, T.J.; Harji, R.R.; Cousins, R.P.C. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1331-1334
134. Brown, E.; Lebreton, J. *Tetrahedron* **1987**, *43*, 5827-5840
135. Germain, J.; Deslongchamps, D. *J.Org.Chem.* **2002**, *67*, 5269-5278
136. Smith III, A.B.; Kürti, L.; Davulvu, A.H.; Cho, Y.S. *Organic Process Research & Development* **2007**, *11*, 19-24

137. Vrielynck, F.A.; De Clercq, P.J. *Molecules* **2007**, *12*, 237-244
138. Yang, Y.-R.; Li, W.-D.Z. *J.Org.Chem.* **2005**, *70*, 8224-8227
139. Luche, J.L. *J.Am.Chem.Soc.* **1978**, *100*, 2226-2227
140. Hart, D.J.; Li, J.; Wu, W.-L.; Kozikowski, A.P. *J.Org.Chem.* **1997**, *62*, 5023-5033
141. Bosch, M.P.; Camps, F.; Coll, J.; Guerrero, A.; Tatsuoka, T.; Meinwald, J. *J.Org.Chem.* **1986**, *51*, 773-784
142. Castro, A.M.M. *Chem.Rev.* **2004**, *104*, 2939-3002
143. Nakazaki, A.; Era, T.; Numada, Y.; Kobayashi, S. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 6264-6271
144. Watanabe, W.H.; Conlon, L.E. *J.Am.Chem.Soc.* **1957**, *79*, 2828-2833
145. Burgstahler, A.W.; Nordin, I.C. *J.Am.Chem.Soc.* **1961**, *83*, 198-206
146. Bosch, M.; Schlaf, M. *J.Org.Chem.* **2003**, *68*, 5225-5227
147. Paquette, L.A.; Wang, T.-Z.; Philippo, C.M.G.; Wang, S. *J.Am.Chem.Soc.* **1994**, *116*, 3367-3374
148. Overman, L.E. *Angew.Chem.Int.Ed.Engl.* **1984**, *23*, 579-586
149. Van der Baan, J.L.; Bickelhaupt, F. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 6267-6270
150. Ireland, R.E.; Mueller, R.H. *J.Am.Chem.Soc.* **1972**, *94*, 5897-5898
151. Probst, N.P.; Haudrechy, A.; Plé, K. *J.Org.Chem.* **2008**, *73*, 4338-4341
152. Grieco, P.A.; Brandes, E.B.; McCann, S.; Clark, J.D. *J.Org.Chem.* **1989**, *54*, 5849-5851
153. Baraldi, P.G.; Barco, A.; Benetti, S.; Pollini, G.P.; Polo, E.; Simoni, D. *J.Org. Chem.* **1985**, *50*, 23-29
154. Oguchi, T.; Watanabe, K.; Abe, H.; Katoh, T. *Heterocycles* **2010**, *80*, 229-250
155. Leclercq, C.; Markó, I.E. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7229-7233
156. Gammil, R.B.; Bell, L.T.; Nash, S.A. *J.Org.Chem.* **1984**, *49*, 3039
157. D'Incan, E.; Loupy, A. *Tetrahedron* **1981**, *37*, 1171-1179
158. Ashby, E.C.; Lin, J.-J.; Kovar, R. *J.Org.Chem.* **1976**, *41*, 1939-1943
159. Ashby, E.C.; Lin, J.-J. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 4481-4484
160. Gless Jr., R.D. *Synth.Comm.* **1986**, *16*, 639-643
161. Mahoney, W.S.; Bretensky, D.M.; Stryker, J.M. *J.Am.Chem.Soc.* **1988**, *110*, 291-293
162. Bretensky, D.M.; Stryker, J.M. *Tetrahedron Lett.*, **1989**, *30*, 5677-5680
163. Koenig, T.M.; Daeuble, J.F.; Bretensky, D.M.; Stryker, J.M. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 3237-3240
164. Sauer, A.M.; Crowe, W.E.; Henderson, G.; Laine, R.A. *Synlett* **2010**, 445-448
165. Profitt, J.A.; Watt, D.S.; Corey, E.J. *J.Org.Chem.* **1975**, *40*, 127-128
166. Zhu, C.; Tang, P.; Yu, B. *J.Am.Chem.Soc.* **2008**, *130*, 5872-5873
167. Porzelle, A.; Williams, C.M. *Synthesis* **2006**, *18*, 3025-3030
168. Yoon, N.M.; Brown, H.C. *J.Am.Chem.Soc.* **1968**, *90*, 2927-2938
169. Maryanoff, B.E.; Reitz, A.B. *Chem.Rev.* **1989**, *89*, 863-927
170. Peterson, D.J. *J.Org.Chem.* **1968**, *33*, 780-784
171. Meyer, K.H.; Schuster, K. *Chem.Ber.* **1922**, *55*, 819-823
172. K.Miwa, T.Aoyama, T.Shioiri, *Synlett* **1994**, 109
173. Iguchi, M.; Tomioka, K. *Org.Lett.* **2002**, *4*, 4329-4331
174. Yokoe, H.; Sasaki, H.; Yoshimura, T.; Shindo, M.; Yoshida, M.; Shshido, K. *Org.Lett.* **2007**, *9*, 969-971
175. Douglas, A.E.; Dudley, G.B. *Org.Lett.* **2006**, *8*, 4027-4029
176. Edmonds, D.J.; Muir, K.W.; Procter, D.J. *J.Org.Chem.* **2003**, *68*, 3190-3198

177. Akahane, Y.; Inage, N.; Nagamine, T.; Inomata, K.; Endo, Y. *Heterocycles* **2007**, *74*, 637-648
178. Mori, K.; Katoh, T.; Suzuki, T.; Noji, T.; Yamanaka, M.; Akiyama, T. *Angew.Chem.Int.Ed.* **2009**, *48*, 1-4
179. Zhang, T.; Kientzy, C.; Franco, P.; Ohnishi, A.; Kagamihara, Y.; Kurosawa, H. *J.Chromatogr.A* **2005**, *1075*, 65-75
180. Davies, S.G.; Russell, A.J.; Sheppard, R.L. Smith, A.D.; Thomson, J.E. *Org.Biomol.Chem.* **2007**, *5*, 3190-3200
181. de March, P.; Escoda, M.; Figueredo, M.; Font, J.; Alvarez-Larena, A.; Piniella, J.F. *J.Org.Chem.* **1995**, *60*, 3895-3897
182. Stork, G. ; Zhao, K. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 287-290

Emmanuelle VILLEDIEU-PERCHERON

Etude d'une famille de diterpènes d'origine naturelle ayant une activité anti-inflammatoire

Résumé :

Andrographis paniculata est une échinacée d'origine asiatique utilisée depuis plus de deux mille ans en médecine traditionnelle asiatique. Ses activités anti-bactériennes, anti-virales et hépatoprotectrices, entre autre, en ont fait un sujet d'étude important depuis les trente dernières années. Cette plante est principalement constituée de diterpènes de série *ent*-labdanes, dont le composé majoritaire est l'andrographolide, une lactone diterpénique, qui a montré des propriétés anti-inflammatoires sur la voie NFκB.

C'est dans le but de comprendre et d'améliorer les activités anti-inflammatoires des composés issus de la plante que nous avons envisagé l'étude de la famille des andrographolides. Une étude qualitative d'extraits issus de compléments alimentaires a permis d'obtenir trois composés naturels, qui ont été pharmacomodulés chimiquement. De plus, une méthode quantitative de quatre extraits bruts a permis de déterminer la concentration des trois composés naturels isolés dans chaque mélange. Les composés isolés, ceux modifiés par hémisynthèse, ainsi que les mélanges de composition déterminée ont fait l'objet de tests d'activité anti-inflammatoire.

Afin de modifier la structure de l'andrographolide sur des positions non accessibles par hémisynthèse, la synthèse totale et énantiosélective du produit naturel a été envisagée. Deux voies de synthèses ont été envisagées pour la préparation de ce composé : une voie biomimétique et une voie utilisant la cétone de Wieland-Miescher. Cette dernière voie est divisée en trois parties (cyclisation énantiosélective, fonctionnalisation du cycle A, fonctionnalisation du cycle B). Ainsi, nous avons pu mettre au point des méthodologies permettant de fonctionnaliser chaque cycle et d'accéder à la synthèse d'analogues de l'andrographolide.

Mots clés : *Andrographis paniculata*, méthodes analytiques qualitative et quantitative, NFκB, synthèse chimique, cétone de Wieland-Miescher.

Study about an anti-inflammatory natural diterpenes family

Summary :

Andrographis paniculata is an Asian Echinacea. This plant is widely used in traditional remedies and folkloric medicines for thousands years and is reported to possess a wide spectrum of biological activities. A large number of diterpenoid *ent*-labdanes have been isolated from this plant, where the major compound is andrographolide, a diterpenoid lactone, that exhibits interesting anti-inflammatory activities on the NFκB way.

In order to understand and improve the anti-inflammatory activity of these compounds, we implemented a program aimed at their study. Qualitative analysis of crude extracts from dietary supplements allowed to obtain three major natural compounds, which were in a second time chemically modified. These products, as well as the crude extracts, where the composition was determined by a quantitative method, were used for the study of anti-inflammatory activity.

Our aim was also to modify andrographolide on some positions not accessible by hemisynthesis. So total and enantioselective synthesis of andrographolide was investigated. Two ways were studied: biomimetic pathway, and modification of a bicyclic precursor that already possessed the *ent*-labdane configuration (Wieland-Miescher ketone). Methodology using Wieland-Miescher ketone was divided in three parts (enantioselective cyclisation, cycle A functionalisation, cycle B functionalisation). By this way, the bicyclic core was successfully functionalised and analogues of andrographolide were prepared.

Keywords : *Andrographis paniculata*, qualitative and quantitative analytical methods, NFκB, chemical synthesis, Wieland-Miescher ketone.



Institut de Chimie Organique et Analytique

Université d'Orléans, UFR Sciences

Rue de Chartres, BP 6759

