



HAL
open science

Accès facile à de nombreux squelettes originaux pour la biologie: Auto-assemblage biomimétique de structures polycycliques complexes.

Adam Skiredj

► To cite this version:

Adam Skiredj. Accès facile à de nombreux squelettes originaux pour la biologie: Auto-assemblage biomimétique de structures polycycliques complexes.. Chimie organique. Université Paris-Saclay, 2016. Français. NNT: 2016SACLS176 . tel-01446938

HAL Id: tel-01446938

<https://theses.hal.science/tel-01446938>

Submitted on 26 Jan 2017

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.

NNT : 2016SACLS176

THESE DE DOCTORAT
DE
L'UNIVERSITE PARIS-SACLAY
PREPAREE A
L'UNIVERSITE PARIS SUD

ECOLE DOCTORALE N° 569
Innovation thérapeutique : du fondamental à l'appliqué
Spécialité de doctorat : Chimie des substances naturelles

Par

M. Adam Skiredj

Accès facile à de nombreux squelettes originaux pour la biologie :
"Auto-assemblage" biomimétique de structures polycycliques complexes.

Thèse présentée et soutenue à Châtenay-Malabry, le 5 Juillet 2016 :

Composition du Jury :

Mme, Joseph, Delphine, Pr
M., Nay, Bastien, Dr
M., Blanchard, Nicolas, Dr
M., Arseniyadis, Stellios, Dr
M., Maddaluno, Jacques, Dr
M., Poupon, Erwan, Pr
M., Evanno, Laurent, Dr

Professeure, Université Paris Sud
DR CNRS, Muséum National d'Histoire Naturelle
CR CNRS, ENSC de Mulhouse
DR CNRS, Reader, Queen Mary University of London
DR CNRS, Université de Rouen, INSA Rouen
Professeur, Université Paris Sud
Maître de conférence, Université Paris Sud

Présidente
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Directeur de thèse
Co-encadrant de thèse

Remerciements :

En premier lieu, je remercie le Professeur Erwan Poupon pour avoir été un enseignant captivant, un mentor bienveillant et un directeur de thèse motivant. Il a su faire de cette collaboration scientifique une période forte mêlant aventure humaine, croissance professionnelle et accomplissements scientifiques. Sa vision perfectionniste mais surtout créative et ouverte de la recherche en chimie des substances naturelles est passionnante. Je le remercie chaleureusement d'avoir partagé cela dans un cadre intellectuel libre et enrichissant. Je lui adresse ici toute ma reconnaissance et mon amitié.

D'autre part, je remercie le Docteur Laurent Evanno qui a été une source intarissable de conseils sur un plan expérimental et ce avant même le début de mon doctorat. Très positif et toujours prêt à proposer une nouvelle orientation aux manipulations, sa force motrice a été fort appréciable tout au long de ces années de thèse. Son humour et sa musicalité s'inscrivent dans ma mémoire sur le temps long. Enfin, je le remercie pour l'écoute et la disponibilité dont il a fait preuve lorsque le besoin s'en faisait ressentir.

Au Docteur Mehdi Beniddir, je tiens à adresser mes remerciements les plus amicaux. Que de souvenirs inoubliables à ses côtés. Une synthèse totale à quatre mains, puis une seconde. Des discussions, des éclats de rires et surtout des conseils précieux tant sur le plan professionnel que personnel. Je ne manquerai pas de garder tout ceci en mémoire. Je le remercie également pour sa générosité, sa passion partagée pour la science, son regard éclairé et ses réflexions pertinentes.

Mes remerciements vont aussi au Professeure Delphine Joseph pour les discussions chimiques toujours constructives et souvent cruciales dont elle m'a gratifié. Je la remercie également pour ses conseils en général, ainsi que pour sa bienveillance en tant qu'enseignante. Sa disponibilité et son humour ont été appréciés à leur juste valeur.

Je tiens par ailleurs à remercier particulièrement Karine Leblanc pour son dévouement et son professionnalisme qui ont grandement facilité la conduite de ces travaux de recherche mettant en jeux des composés pour le moins capricieux. À titre personnel, je la remercie également pour son amitié, sa franchise, sa fraîcheur et tous ces moments passés ensemble presque quotidiennement. J'aurai du mal à remplacer ces pauses-déjeuner.

Je remercie également de Docteur David Lachkar pour sa pondération, ses conseils avisés et son dynamisme au quotidien. Ce fut un plaisir de partager le laboratoire avec lui pendant ces deux années. Chimie, musique et rires.

Je souhaite également remercier le Docteur Stellos Arseniyadis qui m'a ouvert les portes de son équipe avec générosité. Je le remercie pour sa créativité, sa force de proposition, son dynamisme et sa gentillesse. J'ai énormément apprécié cette collaboration.

D'autre part, j'adresse des remerciements cordiaux à mes collègues, aux anciens du laboratoire que j'ai eu le plaisir de côtoyer, aux stagiaires ainsi qu'aux enseignants de l'équipe qui m'ont appris beaucoup et ce bien avant le début de ce doctorat. Je pense ici particulièrement à Michel Leboeuf, Guy Lewin, François Roblot, Pierre Champy, Alexandre Maciuk, Guillaume Bernadat, Christophe Fourneau, Kevin Cottet, Asmaa Boufridi, Kadiria Ahamada, Lok-Hang Yan, Blandine Séon-Méniel, Sara Vallerotto, Johan Fenneteau, Natacha Bonneau, Victor Turpin et Agnès Berton.

Je remercie également le Docteur Bruno Figadère, qui m'a permis de réaliser ces travaux au sein du laboratoire BioCIS. Par ailleurs, je remercie les membres du jury d'avoir accepté de juger mon travail de thèse.

Aussi, je remercie mes parents et ma sœur pour le soutien qu'ils m'ont témoigné tout au long de mon parcours universitaire.

Enfin, je remercie ma femme, Margaux, pour ses encouragements, sa patience et sa bienveillance au quotidien. Cette aventure scientifique n'a été que plus belle grâce toi, comme tout le reste.

Table des matières :

INTRODUCTION GENERALE : BIOMIMETISME, CHIMIE ET SYNTHÈSE TOTALE.....	9
CHAPITRE 1 SYNTHÈSE MULTI-ÉTAPE ET ÉTAPE-CLE BIO-INSPIRÉE : MIMER L'ÉVÉNEMENT PRINCIPAL DE LA BIOSYNTÈSE DES DRIMENTINES.	29
1. INTRODUCTION AUX DRIMENTINES COMME CIBLES SYNTHÉTIQUES.....	29
1.1. <i>Structures et hypothèse biosynthétique.</i>	29
1.2. <i>Objectifs de l'approche.</i>	31
2. ARTICLE.....	33
3. PARTIE EXPERIMENTALE.....	39
4. PERSPECTIVES ET LIMITES DES TRAVAUX SUR LA FAMILLE DES DRIMENTINES.....	69
4.1. <i>Limites observées et conclusions.</i>	69
4.2. <i>Synthèse de Li.</i>	71
CHAPITRE 2 L'AUTO-ASSEMBLAGE DE DIMERES : SOURCE DE DIVERSITE ET COMPLEXITE DANS LA FAMILLE DES APLYSINOPSINES.....	75
1. LA DIMERISATION, UNE SOURCE DE COMPLEXITE DANS LA NATURE ET UNE STRATEGIE DE SYNTHÈSE BIOMIMETIQUE.....	75
1.1. <i>Substances naturelles dimériques et stratégies biomimétiques.</i>	75
1.2. <i>Présentation de la famille des aplysinopsines.</i>	82
2. SYNTHÈSE BIOMIMETIQUE DU (±)-DICTAZOLE B.....	84
2.1. <i>Deux scénarios biosynthétiques possibles.</i>	84
2.2. <i>Article.</i>	86
2.3. <i>Partie expérimentale.</i>	97
2.4. <i>Conclusions synthétiques et perspectives biogénétiques.</i>	121
3. SYNTHÈSE BIO-INSPIRÉE DU (±)-TUBASTRINDOLE B, VERS UNE CASCADE DES APLYSINOPSINES ?	123
3.1. <i>L'hypothèse d'une expansion de cycle.</i>	123
3.2. <i>Article.</i>	126
3.3. <i>Partie expérimentale.</i>	133
3.4. <i>Perspectives synthétiques et bio-inspiration.</i>	154
4. VISION D'ENSEMBLE ET EXPLORATION DES VARIATIONS DE LA FAMILLE DES APLYSINOPSINES.....	156
4.1. <i>L'influence du motif hydantoïne dans la série aplysinopsine.</i>	156
4.2. <i>Article.</i>	157
4.3. <i>Partie expérimentale.</i>	167
4.4. <i>Remarques sur le motif hydantoïne dans la série aplysinopsine.</i>	183
5. ANALYSE BIOSYNTHETIQUE DES ALCALOÏDES MARINS DITS "CYCLOBUTANE CENTRES".....	184
5.1. <i>Le développement d'un rationnel biogénétique issu de l'expérience.</i>	184
5.2. <i>Article.</i>	185
5.3. <i>Perspectives biosynthétiques et biomimétiques.</i>	222
6. EXPLORATION DE LA CATALYSE A L'ADN DANS LA CASCADE DES APLYSINOPSINES.....	223
6.1. <i>Introduction : structure, catalyse et intérêt biomimétique.</i>	223
6.1.1 <i>Structure de l'ADN.</i>	223
6.1.2. <i>L'ADN, un biopolymère utilisé en catalyse asymétrique.</i>	225
6.1.3. <i>Aspects biomimétiques et intérêts de l'approche dans la série aplysinopsine.</i>	234
6.2. <i>Résultats et discussions.</i>	235
6.2.1. <i>Adaptation du système à l'aplysinopsine.</i>	235
6.2.2. <i>Résultats expérimentaux.</i>	236

6.3. Perspectives.....	240
6.3.1. Résultats complémentaires attendus.	240
6.3.2. Extension des travaux vers de nouvelles directions.	240
6.4. <i>Partie expérimentale</i>	240
7. CONCLUSION.....	241
CHAPITRE 3 EXPLOITATION DE "RESEaux MOLECULAIRES" POUR L'EXPLORATION DE MELANGES BIOMIMETIQUES COMPLEXES.	248
1. PRESENTATION DE L'APPROCHE : ALCALOÏDES GENERES EN MELANGES COMPLEXES ET RESEaux MOLECULAIRES.	248
1.1. <i>Sélection et biogenèse d'alcaloïdes des genres Nitraria et Myrioneuron.</i>	<i>248</i>
1.2. <i>Une stratégie biomimétique originale : la synthèse en mélange complexe.</i>	<i>252</i>
1.3. <i>L'analyse de réseaux moléculaires, une technique en devenir.</i>	<i>254</i>
1.4. <i>Entre genèse de métabolome artificiel, synthèse orientée vers la diversité et exploration des mélanges par dérégulation bio-informatique en réseaux : une approche inédite.</i>	<i>256</i>
2. RESULTATS INAUGURaux DU PROJET.....	257
2.1. <i>Mélanges précédemment réalisés au laboratoire.....</i>	<i>257</i>
2.2. <i>De nouvelles cibles aux précurseurs modulables.</i>	<i>260</i>
3. PARTIE EXPERIEMENTALE.....	261
4. PERSPECTIVES.	263
CONCLUSION GENERALE.....	267

Préambule

Les alcaloïdes sont des substances naturelles singulières qui ont été mises à profit pour leurs propriétés biologiques. Dotés de propriétés chimiques spécifiques à l'azote, nombre d'entre eux présentent une structure polycyclique complexe. Ces architectures étonnantes, et rares dans certains cas, constituent des cibles de choix pour la synthèse totale depuis les premiers développements de la discipline.

L'art de la synthèse totale exploite, particulièrement, des chimies très variées. De plus, les défis synthétiques posés par des molécules toujours plus complexes imposent un nombre d'étapes considérable et une ingéniosité croissante. Dans ce contexte, les stratégies de synthèses biomimétiques ou bio-inspirées se distinguent non seulement par leur originalité et leur élégance mais aussi par leur concision et leur efficacité.

Tout d'abord, les stratégies de synthèses biomimétiques et leur apport à la chimie des substances naturelles seront introduits. Plusieurs exemples emblématiques serviront de support à cette entrée en matière.

Le parti pris rédactionnel est de présenter les articles scientifiques publiés à l'issue des travaux de recherche entrepris. Ainsi, alors que les publications originales en langue anglaise sont présentées (au même titre que pour le reste de la communauté scientifique) dès que cela est possible, les études sont introduites et commentées en langue française par ailleurs. Par ailleurs, les travaux n'ayant pas donné lieu à une publication à ce jour sont également discutés en langue française.

Dans un premier chapitre, les travaux réalisés sur les drimentines seront abordés. Les squelettes de ce groupe d'alcaloïdes y seront présentés ainsi que leur biogenèse probable. Ensuite, c'est l'accès à ces squelettes *via* un étape-clé biomimétique qui sera développé au sein d'une voie de synthèse multi-étapes plus classique.

Le deuxième chapitre, consacré à l'étude de la "cascade des aplysinopsines", sera le plus important du manuscrit. L'émergence de complexité et de diversité par la dimérisation de monomères plus simples sera discutée. Nous aborderons ici la synthèse biomimétique du dictazole B par auto-assemblage de monomères naturels dérivés de l'aplysinopsine. Ces monomères s'apparient en dimères étonnants qui se réarrangent en congénères plus complexes encore. Ainsi, la synthèse bio-inspirée du tubastrindole B sera présentée. C'est ensuite une étude élargie qui conduira à l'exposé d'une réflexion biosynthétique globale sur cette famille d'alcaloïdes marins. Enfin, l'application de la catalyse à l'ADN au potentiel réactionnel de ces substances sera envisagée.

Finalement, un troisième et dernier chapitre posera les bases d'une nouvelle approche : l'utilisation de "réseaux moléculaires" générés par MS-MS pour l'analyse de mélanges synthétiques complexes d'alcaloïdes des genres *Myrioneuron* et *Nitraria*.

Introduction générale :

Biomimétisme, chimie et synthèse totale.

Introduction générale : Biomimétisme, chimie et synthèse totale.

Biomimétisme et chimie

Le plus haut niveau de complexité de la matière est sans doute celui exprimé dans les substances et les processus qui supportent la vie. Par définition, la chimie est au cœur de ce système qui repose sur un réseau moléculaire intriqué, en constante évolution et possède un niveau d'organisation très élevé.

Dès lors, il semble logique que les chimistes tentent non seulement de comprendre la nature, mais également de s'en inspirer plus ou moins directement. La finalité de cette démarche est simple. Elle peut être de reproduire une fonction d'intérêt ou d'exploiter un processus pour le mettre à profit dans un autre contexte.

C'est une vision de la nature comme source intarissable d'inspiration, d'innovation et d'étonnement qui fonde la logique biomimétique au sens large. En fait, cette observation scrupuleuse, calquée sur la minutie des naturalistes, ne se cantonne pas à la chimie et fait partie intégrante de nombreuses disciplines. On parle même d'ingénierie inversée dans les cas les plus flagrants. Les ailes d'avion, l'adhésif inspiré des pattes de gecko ou même les surfaces super-hydrophobes mimant les feuilles de lotus en sont des exemples évidents (Figure 1).



Figure 1 : Biomimétisme et ingénierie inversée.

Lorsque le souci de reproduire le plus fidèlement possible les phénomènes observés ou supposés prime, on parle de biomimétisme. Plus largement, si le processus naturel sert d'outil, de guide ou simplement de prétexte ponctuel pour orienter des études scientifiques, on parle de bio-inspiration. Nombre de travaux de chimie organique (et de chimie en générale) ont été réalisés dans cet esprit, le lecteur intéressé est invité ici à consulter un ouvrage transversal très complet.¹

¹ G. F. Swiegers (Ed.); *Bioinspiration and Biomimicry in Chemistry*; Wiley-VCH; 2012.

Synthèse totale et biomimétisme

La synthèse totale est une sous-discipline de la synthèse organique qui ne laisse pas indifférent. Certains pensent qu'elle représente un exercice ultime qui culmine avec l'obtention de substances naturelles complexes. Que par la même, l'efficacité de la synthèse et l'ingéniosité des auteurs y sont démontrées. De plus, le seul moyen d'étudier les dites molécules est bien souvent de se prêter à cet exercice délicat. À l'inverse, d'autres considèrent que s'aventurer dans des synthèses fastidieuses, coûteuses et risquées dans le but d'obtenir quelques milligrammes d'une substance n'est pas justifiable, voire irresponsable. La liste des molécules obtenues par synthèse totale est longue.^{2,3} Dès lors, la beauté des structures et la complexité des molécules atteintes sont, quoi qu'on en pense, à la hauteur des esprits les plus exigeants.⁴ Les synthèses totales de la (-)-tétrodotoxine (**1**) par Du Bois,⁵ de l'ampelopsine F (**2**) par Snyder⁶ et de la (+)-nocardioazine A (**3**) par Reisman⁷ représentent des exemples marquants que le lecteur éclairé sera en mesure d'apprécier (Figure 2).

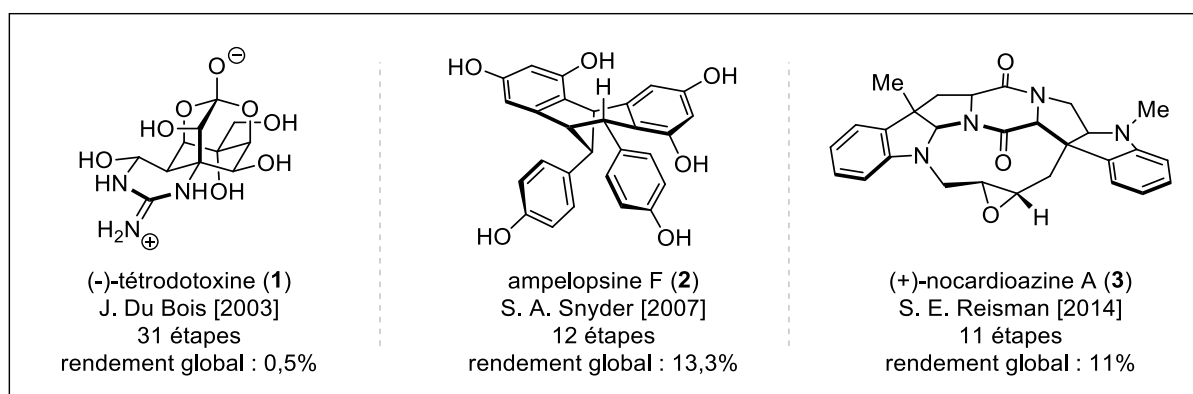


Figure 2 : Exemples de substances complexes obtenues par synthèse totale.

Dans ce contexte, la synthèse biomimétique est un outil puissant qui, lorsque l'hypothèse formulée est pertinente, permet de réconcilier l'ensemble des parties.⁸ La démarche adoptée lors de synthèses dites "biomimétiques" est la suivante. Tout commence par l'analyse détaillée de la structure cible. Puis, vient la déduction des voies de biosynthèses impliquées dans sa formation *in vivo*, chez l'organisme d'origine. Le degré de spontanéité, de contrôle enzymatique, le type de machinerie et les différentes étapes élémentaires du mécanisme de formation sont alors définis : c'est la formulation d'une hypothèse biosynthétique. Finalement, l'aspect rétrosynthétique entre en compte dans le but d'exploiter

² K. C. Nicolaou, D. J. Edmonds and P. G. Bulger; *Cascade Reactions in Total Synthesis*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7134-7186.

³ K. C. Nicolaou and J. S. Chen; *The art of total synthesis through cascade reactions*; *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 2993-3009.

⁴ K. C. Nicolaou and J. S. Chen (Eds.); *Classics in Total Synthesis III*, Wiley-VCH; 2011.

⁵ A. Hinman and J. Du Bois A; *Stereoselective Synthesis of (-)-Tetrodotoxin*; *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11510-11511.

⁶ S. A. Snyder, A. L. Zografos and Y. Lin; *Total Synthesis of Resveratrol-Based Natural Products: A Chemoselective Solution*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 8186-8191.

⁷ H. Wang and S. E. Reisman; *Enantioselective Total Synthesis of (-)-Lansai B and (+)-Nocardioazines A and B*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 6206-6210.

⁸ E. Poupon and B. Nay (Eds.); *Biomimetic Organic Synthesis*; Wiley-VCH; 2011.

au maximum la réactivité des précurseurs identifiés. En préservant la beauté et la complexité des cibles, ce sont l'efficacité, le faible nombre d'étapes et donc l'élégance ainsi que les cascades réactionnelles qui sont privilégiées. Par conséquent, bien que le risque fasse partie intégrante de la synthèse totale,⁹ les synthèses biomimétiques présentent de nombreux atouts.

Certains exemples emblématiques sont présentés ci-après.¹⁰ De multiples approches telles que la polycyclisation de précurseurs linéaires, la dimérisation ou même l'oligomérisation de monomères sont des principes naturels qui ont guidés nombre de synthèses biomimétiques. Les mécanismes impliqués sont, là-encore, variés : ils peuvent être électrocycliques, photochimiques ou radicalaires entre autres.¹¹

La synthèse biomimétique de la tropinone (**4**) réalisée par Robinson en 1917 a ouvert la voie à une épopée de synthèses d'alcaloïdes toujours plus complexes.¹² Elle illustre idéalement la puissance de simplification que peuvent apporter les considérations biosynthétiques en synthèse organique. En une seule étape, le simple mélange de succinaldéhyde (**5**), de méthylamine (**6**) et d'acide β -cétoglutarique (**7**) à pH physiologique conduit à la formation de la tropinone (**4**). La cascade réactionnelle expliquant sa formation implique une série de condensations d'imines, de réactions de Mannich et de décarboxylations (Schéma 1). L'efficacité de cette synthèse renforce l'hypothèse biosynthétique formulée il y a un siècle et montre la robustesse de cette chimie des imines-énamines.

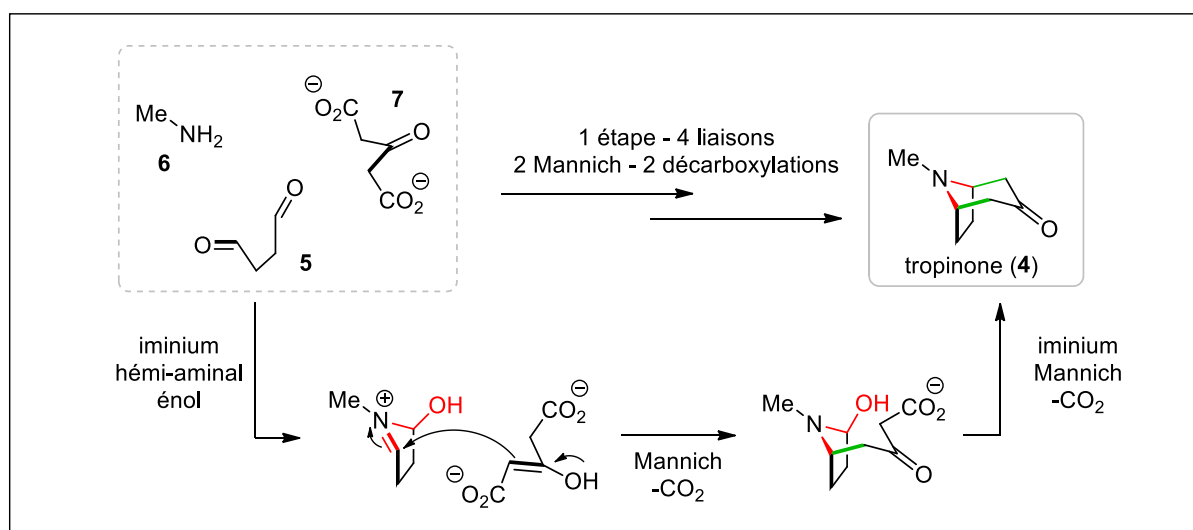


Schéma 1 : Cascade de formation de la tropinone (**4**) réalisée par Robinson.

⁹ E. J. Sorensen; D. A. Siler and J. D. Mighion; *Taking risks in complex synthesis design* 2013, 249-273, in M. Harmata (Ed.); *Strategies and Tactics in Organic Synthesis*.

¹⁰ J. Kim and M. Movassaghi; *Biogenetically inspired syntheses of alkaloid natural products*; *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 3035-3050.

¹¹ E. Gravel and E. Poupon; *Biogenesis and Biomimetic Chemistry: Can Complex Natural Products Be Assembled Spontaneously?*; *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2008, 27-42.

¹² R. Robinson; *A Synthesis of Tropinone*; *J. Chem. Soc., Trans.*, **1917**, 111, 762-768.

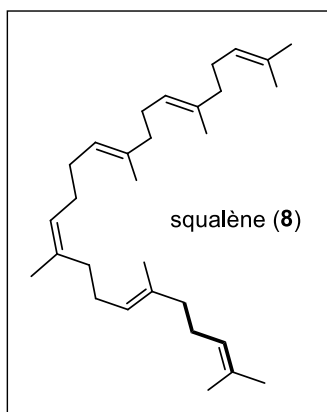


Figure 3 : Représentation du squalène (8)

Capitalisant sur une chimie similaire, la synthèse bio-inspirée des alcaloïdes du genre *Daphniphyllum* par Heathcock est un classique du domaine.¹³ La complexité atteinte est remarquable, notamment en aussi peu d'étapes. Dans ce cas, parmi les nombreux processus qui génèrent de la diversité et de la complexité dans la nature, Heathcock a exploité un des principes fondateurs. Tout d'abord, l'identification du motif squalène (8) (entité de base des triterpènes, Figure 3) comme précurseur du squelette seco-daphniphylline l'a conduit à linéariser son analyse. Une forme oxydée "dialdéhyde" (9) du squalène (8) lui a alors permis de former (en une étape) la dihydro-proto-daphniphylline (10) via

une cascade magistrale de réarrangements intramoléculaires (Schéma 2). Si Heathcock proposa qu'un cofacteur tel que la pyridoxamine puisse être la source d'azote de ces alcaloïdes, expérimentalement, il utilisa la méthylamine (6). Après la formation d'imines et d'énamines, 11 subit une réaction de Mannich intramoléculaire. Ensuite, la fermeture de l'aminal 12 installe le second cycle du future squelette. En milieu acide, l'aminal 12 évolue vers une forme iminium et génère l'aza-diène clé 13. La cascade réactionnelle se poursuit par la formation de deux liaisons centrales via une cycloaddition séquentielle entre le motif aza-diène et une des unités prényles latérales. L'intermédiaire cyclisé 14 présente un iminium qui est piégé par la double liaison terminale du motif isoprénique ayant déjà réagi précédemment. Cette dernière liaison achève la construction de 15 et du squelette de la seco-daphniphylline. Une migration d'hydrure intramoléculaire permet d'expliquer la formation de l'iminium 16 qui, lui-même, conduit à la dihydro-proto-daphniphylline (10) par simple hydrolyse avec un rendement global sur la séquence de 65 %.

L'utilisation de la méthylamine (4) comme source d'azote est loin d'être anecdotique. Elle fait, celle-ci est issue de "l'incident de la bouteille d'ammoniaque de Vollhardt". Un flacon mal étiqueté (contenant de la méthylamine (4) à la place de l'ammoniaque désiré), avait mené au composé 10. Le composé 17 attendu initialement comportait une double liaison terminale. L'élimination d'un proton de l'isopropylum présent sur le composé 18, équivalent de 15 dans la cascade à l'ammoniaque correspondante (Schéma 3), en est à l'origine. Deux points étonnants devaient alors être expliqués : la disparition de la double liaison terminale et l'absence du méthyle résiduel de la méthylamine (4) sur le composé final 10. La proposition de la migration d'un hydrure intramoléculaire explique la réduction du motif propylène. Plus surprenant, le *N*-méthyle surnuméraire serait spontanément hydrolysé et libèrerait l'amine libre finale de 10.

¹³ a) C. H. Heathcock; *The Enchanting Alkaloids of Yuzuriha*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1992**, 31, 665-681. b) C. H. Heathcock; *Nature knows best: An amazing reaction cascade is uncovered by design and discovery*; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 14323-14327.

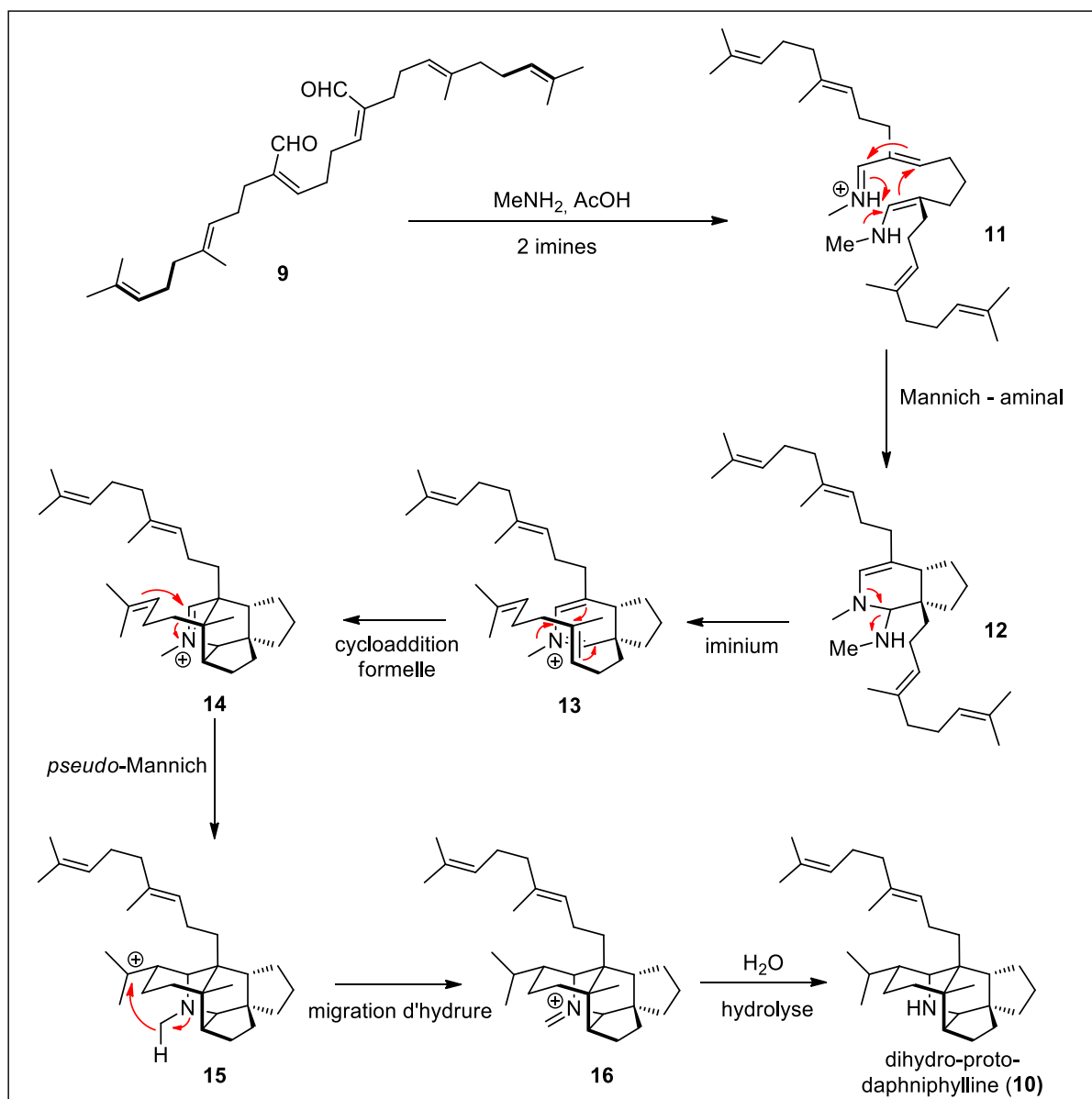


Schéma 2 : Cascade de formation de la dihydro-proto-daphniphylline (**10**) selon Heathcock.

L'élégance de ces travaux réside non seulement dans la beauté de la séquence de réactions réalisées en une seule étape avec une efficacité déconcertante (65 % de rendement). En effet, on peut ajouter à cela la compréhension des voies de biogenèse déduite de la réactivité intrinsèque des précurseurs mis en jeu. La synthèse totale, même biomimétique, ne constitue pas une preuve absolue de la biosynthèse des composés étudiés. Néanmoins, la spontanéité et la sélectivité de la transformation sont troublantes et défient les pratiques classiques de la synthèse multi-étape.

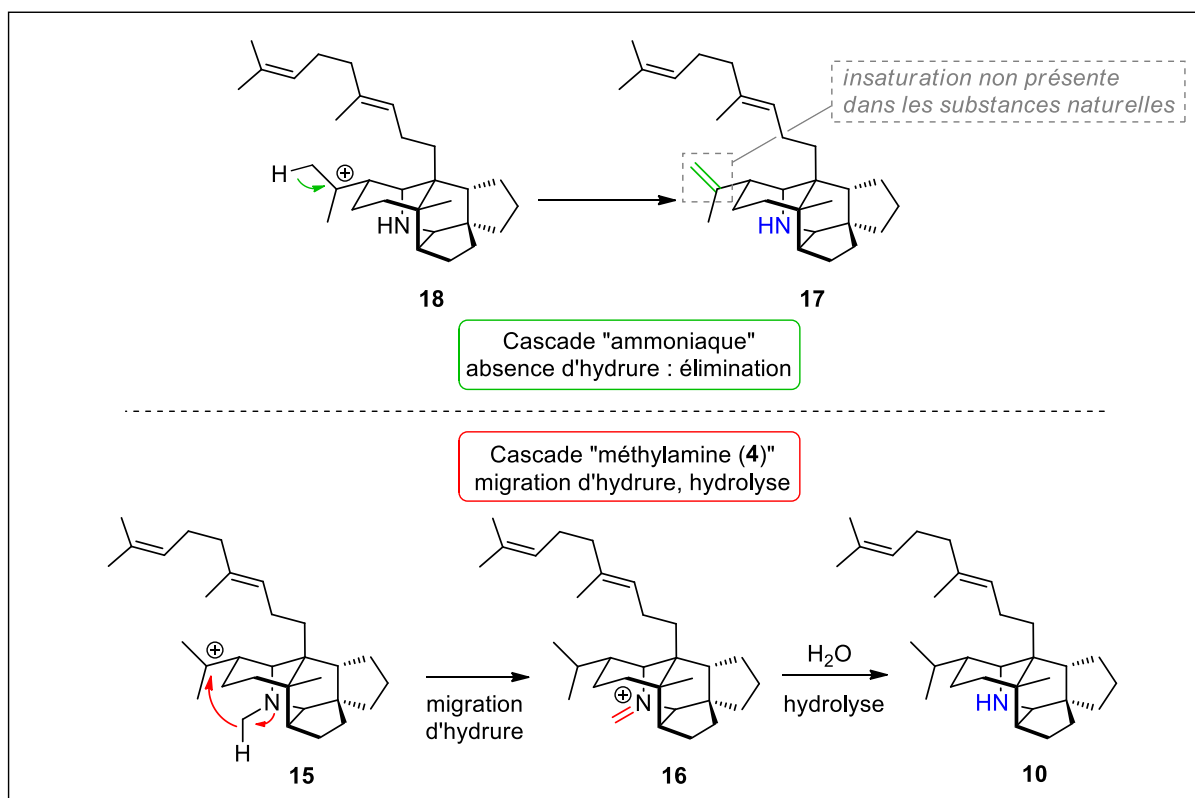


Schéma 3 : Cascade comparative selon l'utilisation d'ammoniaque ou de méthylamine (4).

Stratégies biomimétiques et révisions de structures.

La synthèse totale permet de fournir en quantité suffisante des substances naturelles complexes dans le but de réaliser des tests biologiques. Mais bien au-delà de cette utilité pratique de base, elle permet de répondre à des questions fondamentales. Si le développement de méthodologies de synthèse vient immédiatement à l'esprit, l'élucidation ou la révision de structures reste l'apport historique de la synthèse totale à la chimie des substances naturelles. Il est évident et tout à fait logique que des stratégies inspirées par la nature, dotées d'un recul structural et mécanistique forts, présentent une pertinence supérieure à d'autres approches. Par exemple, dans le cas de molécules très peu abondantes ou difficiles à élucider, les structures établies peuvent être erronées en raison du manque de données.^{14,15} Alors, la révision de structure est facilitée par la connaissance du chemin synthétique emprunté qui correspond au plus près aux voies de biogenèse supposées.

Les cas de deux synthèses biomimétiques réalisées par Sherburn et Lawrence soutiennent les arguments précédents et ce sous deux aspects structuraux distincts.

¹⁴ K. C. Nicolaou and S. A. Snyder; *Chasing Molecules That Were Never There: Misassigned Natural Products and the Role of Chemical Synthesis in Modern Structure Elucidation*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1012-1044.

¹⁵ M. E. Maier; *Structural revisions of natural products by total synthesis*; *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 1105-1124.

Tout d'abord, leurs synthèses biomimétiques de la (\pm)-incarvilleatone (**19**) et de la (\pm)-incarviditone (**20**) représentent un double tour de force expliqué ci-après.¹⁶ Ces deux composés ont été isolés d'*Incarvillea younghusbandii* et *delevayi* par Zhang en 2009 et 2012 (Figure 4).¹⁷

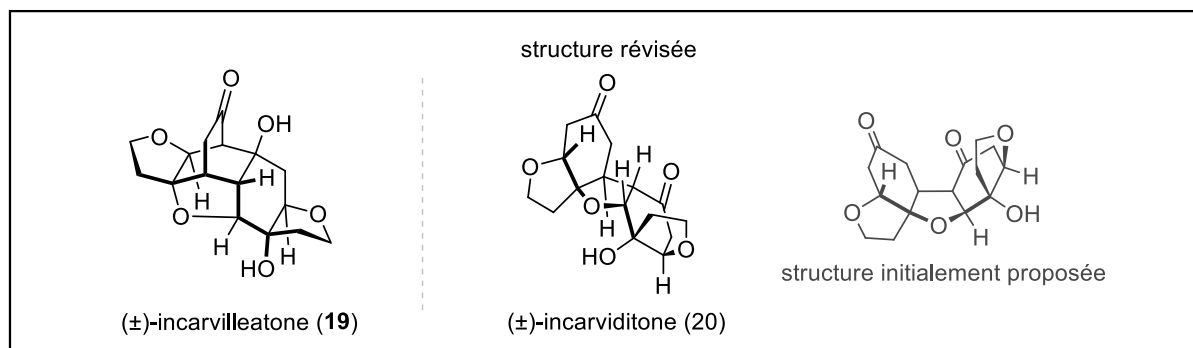


Figure 4 : Structures de la (\pm)-incarvilleatone (**19**) et de la (\pm)-incarviditone (**20**).

L'hypothèse de biogenèse proposée repose sur l'auto-condensation de la (\pm)-rengyolone (**21**). Elle-même proviendrait du cornoside (**22**) qui, après déglucosylation en **23**, se cycliserait pour former **21** (Schéma 4). Bien que l'hypothèse générale semble cohérente, la structure proposée de la (\pm)-incarviditone (**20**) résulterait d'un couplage "homochiral" stéréosélectif de deux unités rengyolone (**21**). Cette sélectivité surprenante méritait d'être confrontée à l'expérience.

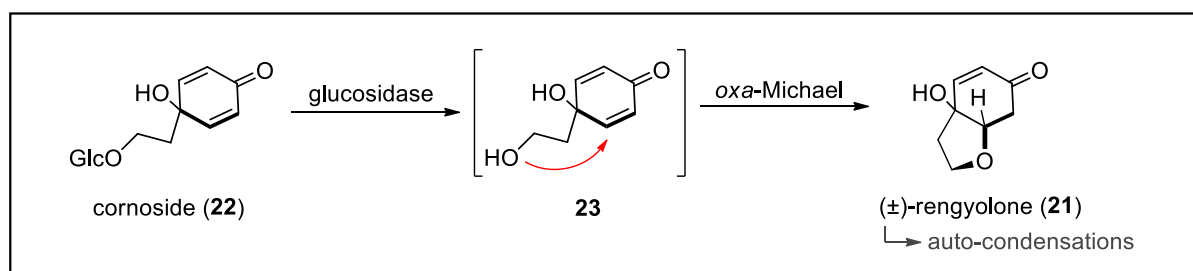


Schéma 4 : Origine biosynthétique de la (\pm)-rengyolone (**21**).

Le prérequis synthétique pour l'étude de ces dimérisations était d'obtenir la (\pm)-rengyolone (**21**) en quantités suffisantes. Ne parvenant pas à reproduire les conditions décrites par Carreño et Urbano pour former **21**,¹⁸ Sherburn et Lawrence ont développé leur propre voie de synthèse à partir du phénol commercial **24**. La protection de l'alcool primaire de **24** par un éther de *tert*-butyldiméthylsilyle fournit **25**. L'oxydation de ce phénol par du PIDA conduit au *para*-quinol **26**. Une simple déprotection du groupement silylé par du TBAF libère le même

¹⁶ P. D. Brown, A. C. Willis, M. S. Sherburn and A. L. Lawrence; *Total Synthesis of Incarviditone and Incarvilleatone*; *Org. Lett.* **2012**, *14*, 4537-4539.

¹⁷ a) Y.-Q. Chen, Y.-H. Shen, Y.-Q. Su, L.-Y. Kong and W.-D. Zhang; *Incarviditone: A Novel Cytotoxic Benzofuranone Dimer from Incarvillea delavayi*; *Chem. Biodivers.* **2009**, *6*, 779-783. b) Y.-P. Gao, Y.-H. Shen, S.-D. Zhang, J.-M. Tian, H.-W. Zeng, J. Ye, H.-L. Li, L. Shan and W.-D. Zhang; *Incarvilleatone, a New Cyclohexylethanoid Dimer from Incarvillea younghusbandii and Its Inhibition against Nitric Oxide (NO) Release*; *Org. Lett.* **2012**, *14*, 1954-1957.

¹⁸ M. C. Carreño, M. González-López and A. Urbano; *Oxidative De-aromatization of para-Alkyl Phenols into para-Peroxyquinols and para-Quinols Mediated by Oxone as a Source of Singlet Oxygen*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2737-2741.

intermédiaire **23** que la déglucosylation du cornoside (**22**) et conduit à la formation de **21** (Schéma 5).

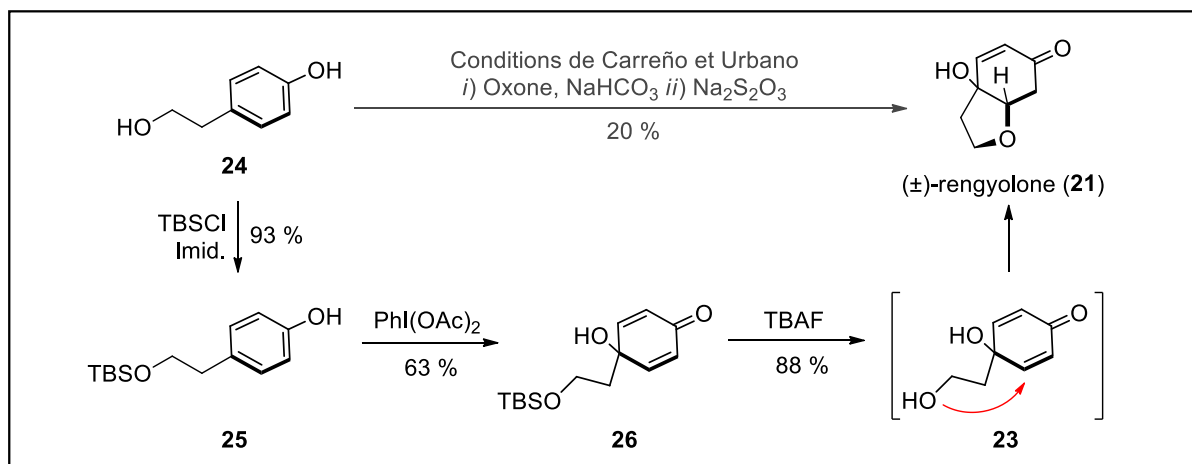


Schéma 5 : Synthèse de la (±)-rengyolone (**21**) par Sherburn et Lawrence.

Dans des conditions basiques très simples, la (±)-rengyolone (**21**) subit une cascade réactionnelle qui mène aux composés naturels **19** et **20** désirés. La (±)-incarvilleatone (**19**) est formée lorsque le couplage de **21** par une réaction d'oxa-Michael "hétérochirale" est suivi par une séquence Michael-aldol intramoléculaire. On peut noter qu'un formalisme de type Diels-Alder convient pour expliquer le même résultat (Schéma 6).

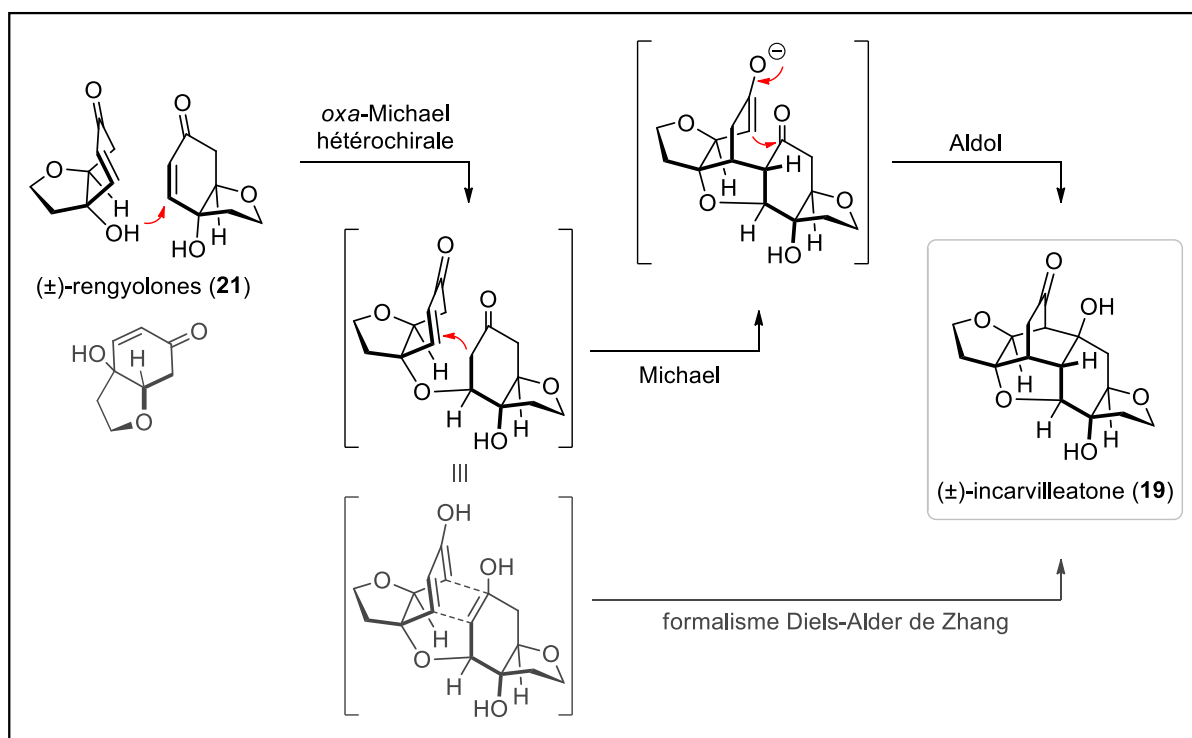


Schéma 6 : Synthèse biomimétique de la (±)-incarvilleatone (**19**).

La stéréo-divergence qui a lieu lors du couplage "homochiral" de **21** montre l'importance des stéréochimies relatives en synthèse organique. Dans ce dernier cas, la séquence réactionnelle s'achève après une unique Michael intramoléculaire. Malgré la

correspondance parfaite des données RMN, la confirmation de la synthèse totale fut complétée par la réalisation de cristaux RX après dérivatisation de **(20)**. C'est ainsi que Sherburn et Lawrence révisèrent la structure, et plus précisément la configuration relative de ce composé. Bien que le squelette (en terme de connectivité) soit correcte, la première réaction d'oxa-Michael semble se faire en *syn* de l'hydroxyle du partenaire électrophile (et pas en *anti* comme supposé par Zhang). Cela conditionne alors la chiralité des centres créés durant la réaction de Michael suivante (Schéma 7).

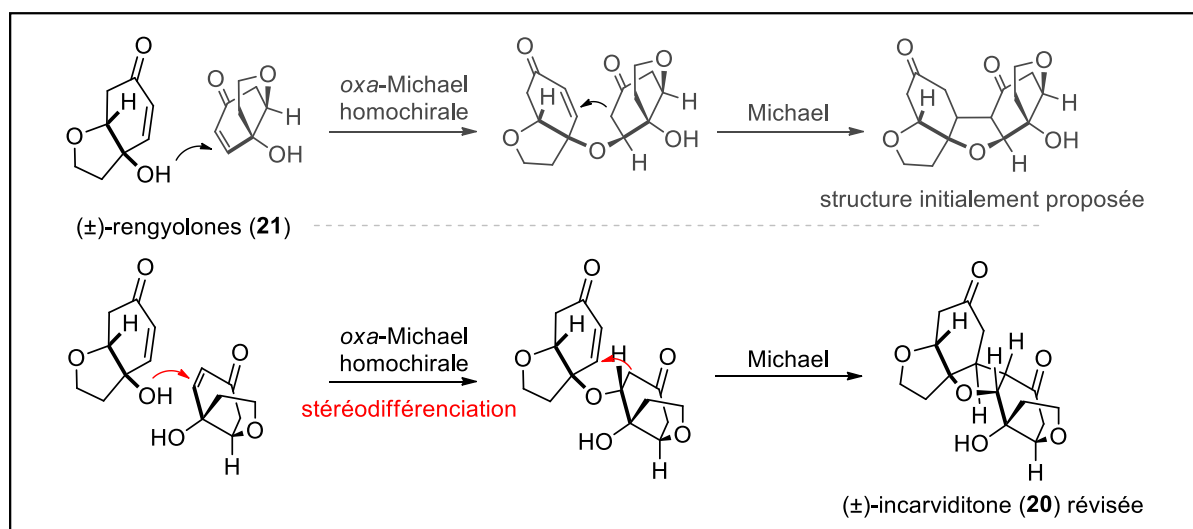


Schéma 7 : Synthèse biomimétique et révision de structure de la (±)-incarviditone **(20)**.

On peut également noter que les spectres RMN de cette série chimique sont dépendants de la concentration. Il convient de rappeler qu'établir avec certitude la structure de certains composés peut être extrêmement difficile. Il ne s'agit pas ici de critiquer les erreurs de certains auteurs mais plutôt de montrer le renfort apporté par les synthèses biomimétiques dans ce contexte.

Dans l'exemple précédent, l'erreur porte uniquement sur la configuration relative des centres chiraux présents sur les molécules. Parfois, la déconvenue est plus importante et porte sur le châssis moléculaire des substances considérées.

Le cas de l'incarganine B **(27)** montre bien l'intérêt de la vision biosynthétique qui pose l'origine des composés étudiés au centre des problèmes structuraux et synthétiques. L'incarganine B **(27)** a été isolée d'*Incarvillea mairei* var. *grandiflora* par Zhang en 2010.¹⁹ Alors, la structure proposée présentait un motif indolo[1.7]naphthyridine nouveau (Figure 5).

¹⁹ Y.-H. Shen, Y.-Q. Su, J.-M. Tian, S. Lin, H.-L. Li, J. Tang, W.-D. Zhang; *Helv. Chim. Acta* **2010**, 93, 2393– 2396.

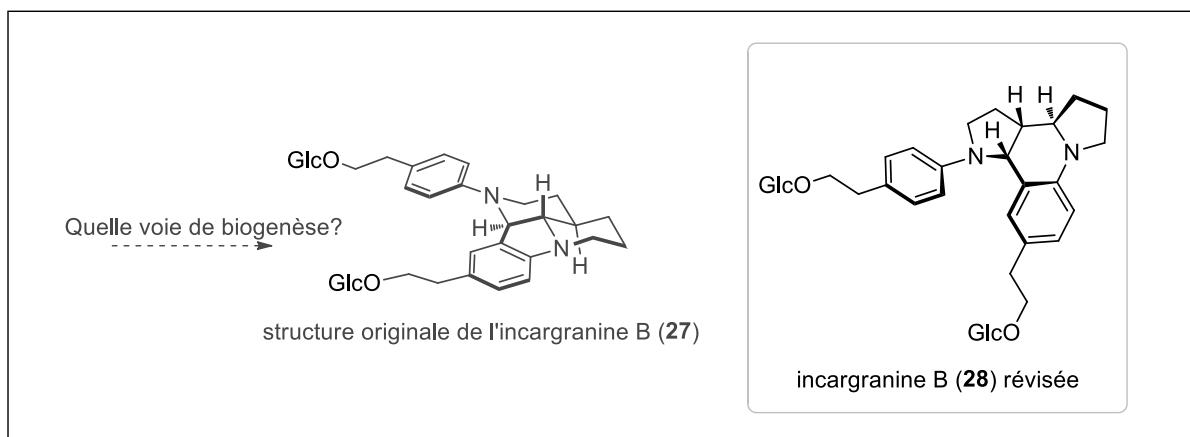


Figure 5 : Structure originale (27) et révisée de l'incargranine B (28).

Depuis lors, aucun autre alcaloïde présentant ce squelette n'a été décrit. Ce fait, quelque peu troublant, intrigua Sherburn et Lawrence. Leur analyse biosynthétique de ce métabolite spécialisé a mis en doute la structure proposée par Zhang. En effet, selon eux, cette substance présentait toutes les caractéristiques d'un dimère.

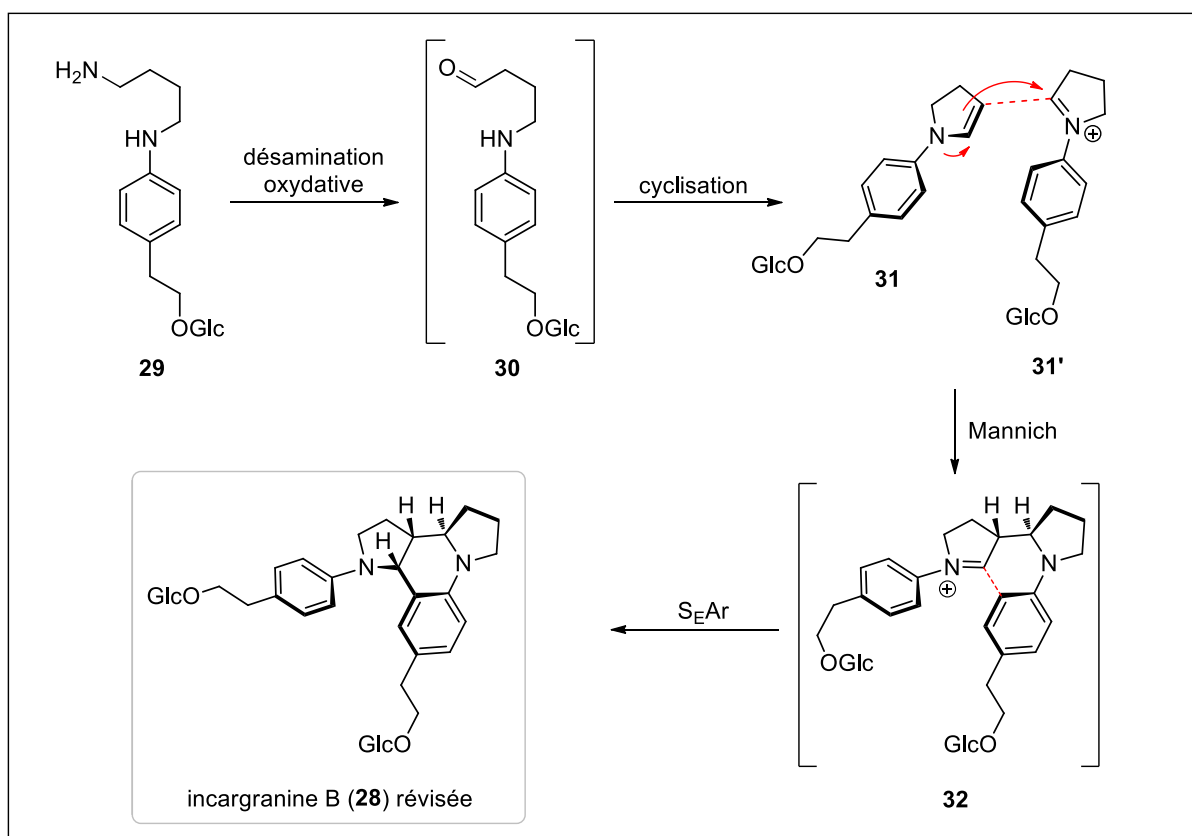


Schéma 8 : Origine biosynthétique postulée de l'incargranine B (28).

Possédant une formule brute paire, la compatibilité avec la décomposition suivante était complète : deux glucoses, deux unités C_6C_2 (dites phényl-éthanoïdes) issues de la voie de l'acide shikimique et deux unités C_4N dérivées de l'ornithine. Or, la biosynthèse de 27 établie ne pouvait être expliquée par la dimérisation de deux unités semblables. Les processus complexes expliquant sa formation devaient inclure un nombre étonnamment grand de ruptures

et de formations de liaisons. Bien que cela ne constitue pas une preuve d'inexactitude, Sherburn et Lawrence proposèrent une voie de biogenèse rationnelle alternative. Celle-ci expliquait la formation d'une structure nouvelle de l'incargranine B (**28**) à partir du glucoside à génine phényl-diaminée simple (**29**). Après la désamination oxydative de **29** en **30**, une réaction de Mannich intermoléculaire entre deux unités **31** et **31'** donne intermédiairement **32** qui subit une substitution électrophile aromatique (S_EAr) intramoléculaire rationaliserait la formation de **28** (Schéma 8).

Leur synthèse de l'aglycone débute par l'obtention en trois étapes du composé **33**, équivalent déglucosylé masqué de **30**. Le 4-bromoester **34** est réduit au DiBAL-H puis, l'aldéhyde résultant **35** est protégé sous la forme d'un acétal cyclique (**36**). L'aniline **37** est ensuite alkylée par **36** pour conduire à **33** (Schéma 9).

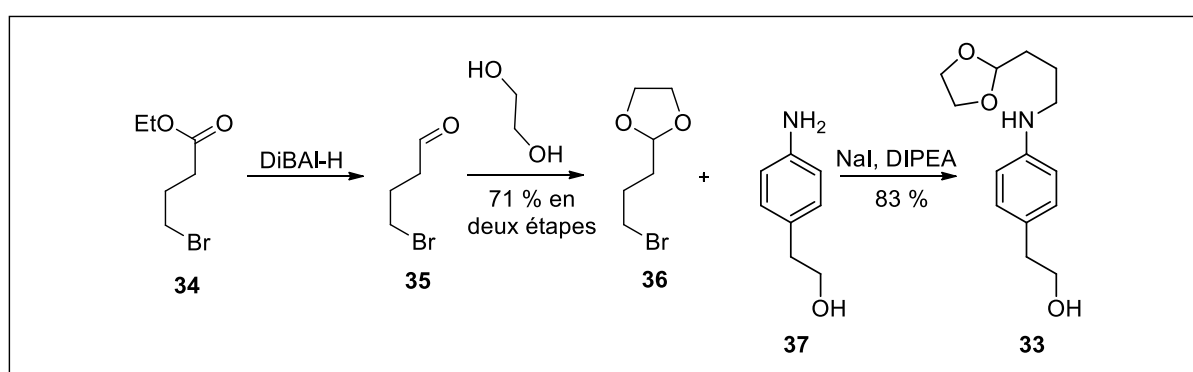


Schéma 9 : Synthèse de l'aglycone protégée **33**.

La simple déprotection de l'acétal **33** en milieu acide génère **38** et **38'**, les équivalents déglucosylés de **31** et **31'**. L'hypothèse avancée par Sherburn et Lawrence se confirme alors. En effet, la génine (**39**) attendue se forme en accord avec la séquence Mannich- S_EAr proposée. La double glucosylation vient parachever la synthèse biomimétique de cet hétéroside qui a permis de réviser la structure initialement proposée pour l'incargranine B (**27**) en (**28**) (Schéma 10).

Par ailleurs, ce processus de dimérisation crée deux liaisons carbone-carbone, deux liaisons carbone-azote et trois cycles en une seule opération. De plus, deux diastéréoisomères sont produits durant cette transformation et cela ne semble pas être en contradiction avec le pouvoir rotatoire décrit à l'état naturel. Ainsi, cette synthèse pose également la question du faible contrôle stéréochimique (puisque la molécule naturelle pourrait exister sous la forme d'un mélange comparable) durant la biosynthèse de cet alcaloïde.

Ce dernier exemple montre encore une fois l'importance des considérations biosynthétiques non seulement pour établir des stratégies de synthèse mais aussi pour déterminer ou réviser des structures. D'une façon générale, ce type de travaux, très fondamentaux - *qui laissent libre cours à la réactivité intrinsèque des précurseurs ainsi qu'à la spontanéité* - et efficaces constituent des outils redoutables qui permettent d'explorer assez profondément les biogenèses abordées.

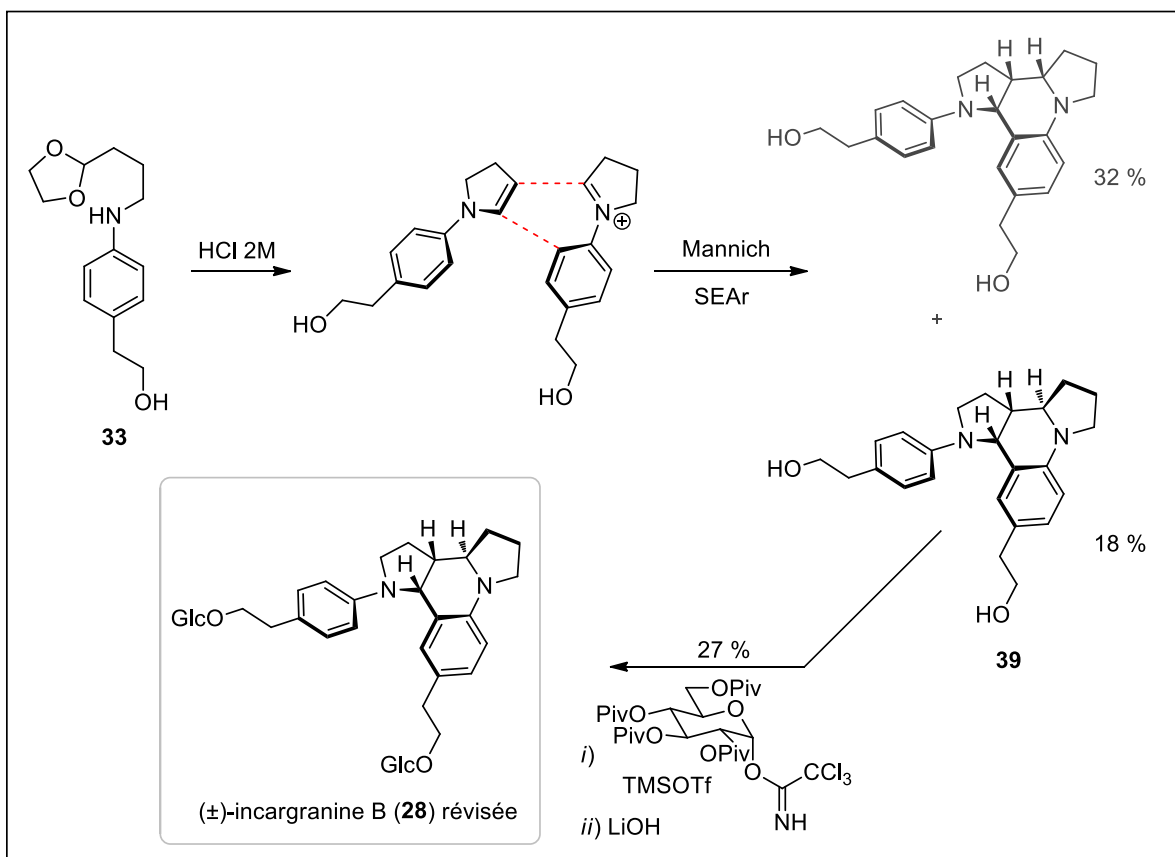


Schéma 10 : Synthèse biomimétique et révision de structure de l'incarganine B (**28**).

Stratégies biomimétiques et défis synthétiques

Les stratégies biomimétiques peuvent considérablement simplifier les synthèses de substances naturelles complexes. Cependant, le risque croît à mesure que l'on s'écarte de l'hypothèse adéquate. Alors, le défi synthétique peut prendre de l'ampleur et devenir une véritable épreuve. Néanmoins, deux issues favorables restent possibles.

La première consiste à persévérer si l'hypothèse ne peut pas être erronée. Ce fut le cas de la dimérisation tardive de deux monomères entreprise par Herzon pour synthétiser l'aglycone de la (-)-lomaïviticine (**40**).²⁰

La seconde est de capitaliser sur l'échec de la stratégie suivie, alors même que celle-ci semblait pertinente. Cette fois-ci, la première approche biomimétique apporte sur un plateau les enseignements nécessaires afin de définir une tactique concluante. L'exemple de la synthèse d'un groupe d'alcaloïdes de coccinelle comprenant la psylloborine A (**41**) par Snyder illustre cela (Figure 6).²¹

²⁰ S. B. Herzon, L. Lu, C. M. Woo and S. L. Gholap; 11-Step Enantioselective Synthesis of (-)-Lomaiviticin Aglycon; *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 7260-7263.

²¹ T. C. Sherwood, A. H. Trotta and S. A. Snyder; A Strategy for Complex Dimer Formation When Biomimicry Fails: Total Synthesis of Ten Coccinellid Alkaloids; *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 9743-9753.

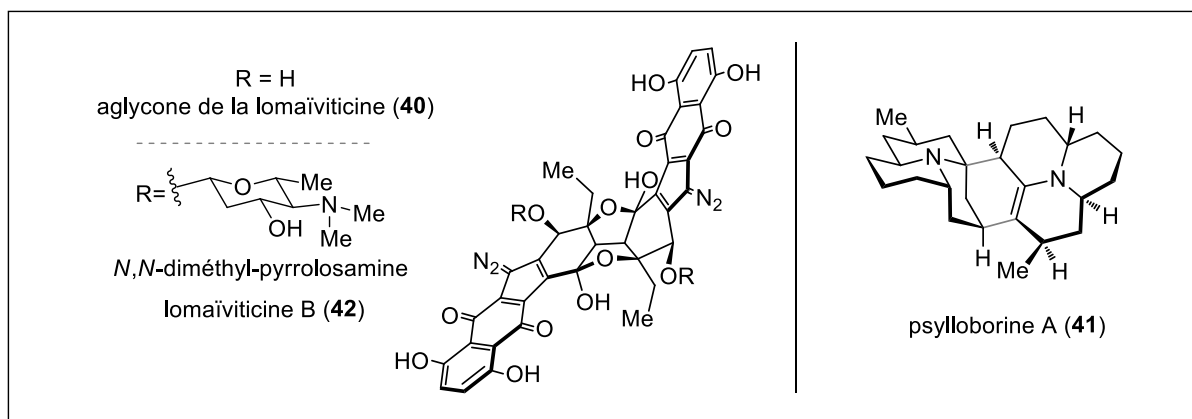


Figure 6 : Structures de la psylloborine A (41) et la lomaiviticine B (42).

La lomaiviticine B (42) est un métabolite bactérien dimérique complexe qui a été isolé d'un milieu de fermentation de *Micromonospora lomaivitiensis* en 2001.²² Cette substance naturelle représentait un défi synthétique important. Herzon entrepris de réaliser la première synthèse de la génine (40) de ce dimère de diazotétrahydrobenzo[b]fluorène oxydé singulier par une dimérisation tardive.

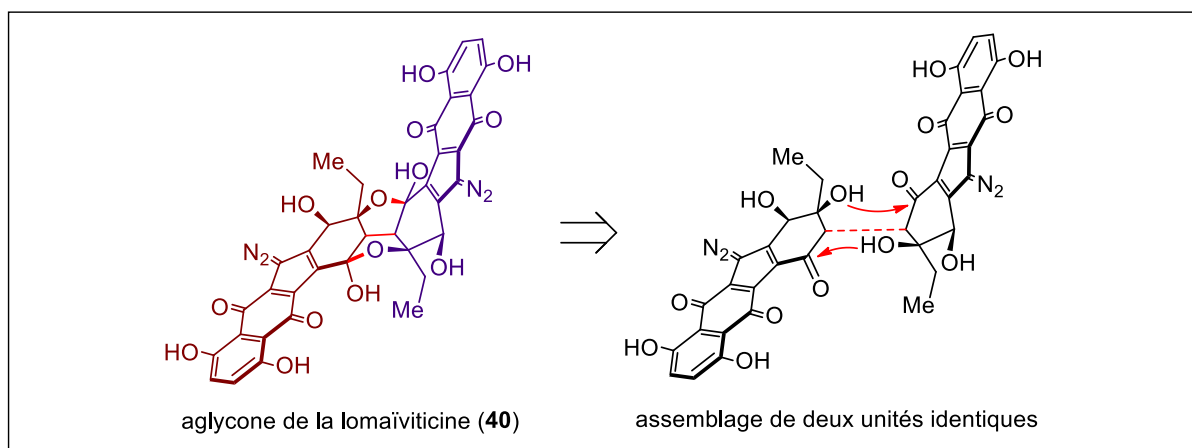


Schéma 11 : Mise en évidence de la nature dimérique de 40.

La structure des monomères étant apparente, le postulat biosynthétique formulé ne pouvait être erroné (Schéma 11). Néanmoins, le risque pris était maximal puisque le succès de la synthèse repose entièrement sur la faisabilité et le contrôle de cette étape-clé de dimérisation finale. Sans entrer dans le détail de la synthèse, la formation du cœur de l'adduit et du squelette décacyclique de l'aglycone visée 40 se révéla être un supplice de Tantale. Finalement, plus de 1500 tentatives ont échoué avant qu'une solution satisfaisante soit proposée (Schéma 12). La séquence-clé repose sur la dimérisation du dérivé protégé 43. La formation transitoire de l'éther d'énol silylé correspondant 44 permet de créer la première liaison entre les deux unités. La déprotection en milieu acide de l'ensemble des acétals présents sur le proto-dimère 45 obtenu conduit à la génine désirée 40. Le succès final ne doit

²² H. He, W.-D. Ding, V. S. Bernan, A. D. Richardson, C. M. Ireland, M. Greenstein, G. A. Ellestad and G. T. Carter; *Lomaiviticins A and B, Potent Antitumor Antibiotics from Micromonospora lomaivitiensis*; *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5362-5363.

pas occulter la difficulté traversée. Deux questions se posent alors. Les précurseurs chimiques et conditions réactionnelles choisis étaient-ils pertinents ? Une assistance enzymatique ou par confinement vient-elle faciliter la formation du métabolite ciblé *in vivo* ?

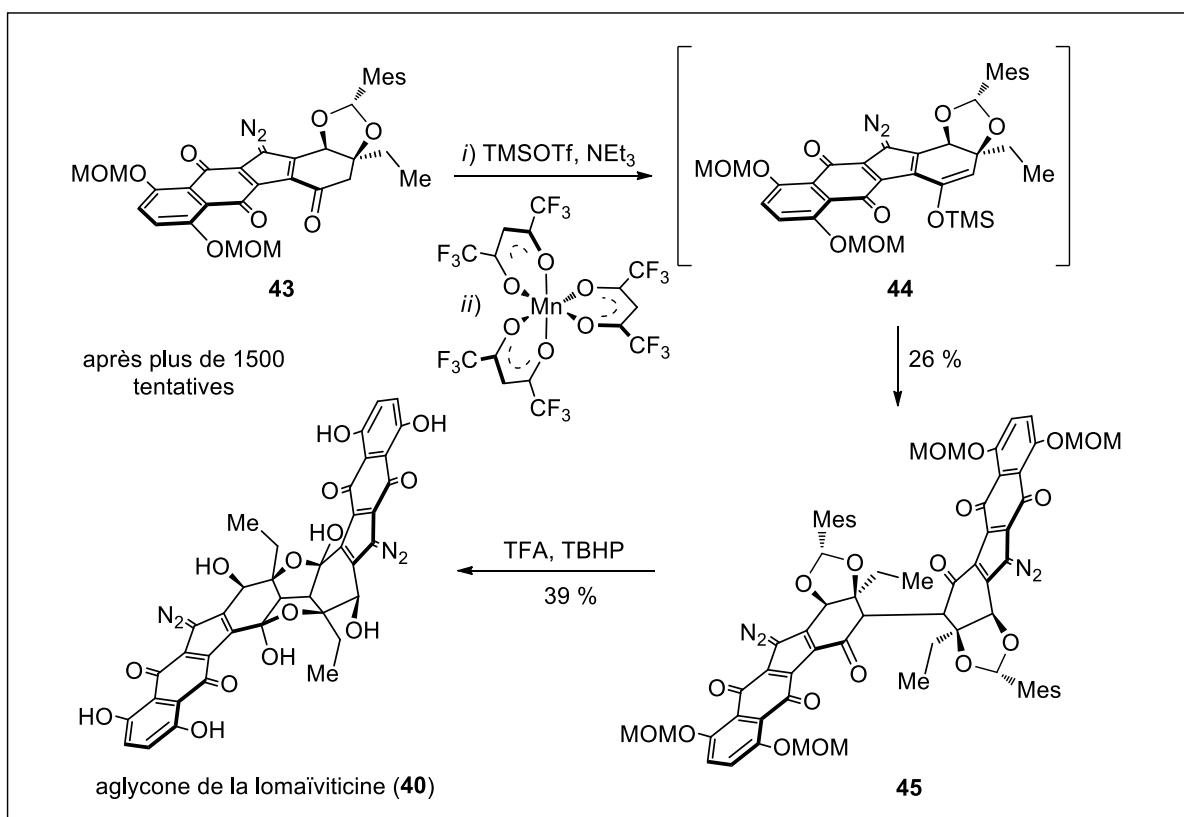


Schéma 12 : Séquence de dimérisation menant à l'aglycone de la lomaïvitine (40).

La persévérance dont Herzon a fait preuve dans l'exemple précédent ne suffit pas toujours à résoudre le problème synthétique posé. Ce fut le cas pour Snyder lorsqu'il entreprit la synthèse biomimétique de la psylloborine A (41). Il formula alors une hypothèse comparable de *pseudo*-dimérisation entre la propyléine (46) et une forme oxydée de l'isopropyléine (47).

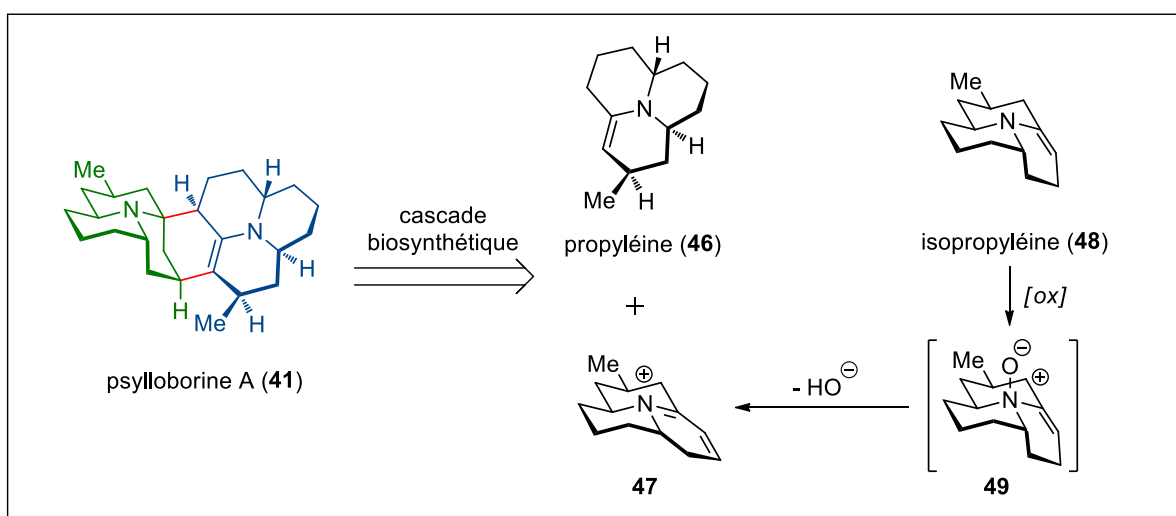


Schéma 13 : Postulat biosynthétique de la psylloborine A (41) par dimérisation.

En effet, encore une fois, il semblait évident qu'une dimérisation entre ces deux unités non modifiées était à l'origine de la formation de **41** (Schéma 13). L'oxydation de l'isopropyléine (**48**) conduirait à l'iminium **47** via un intermédiaire *N*-oxyde **49** similaire à d'autres alcaloïdes de la famille (voir pour exemple la structure de la coccinelline (**50**), Figure 7). Une réaction de Mannich-vinylogue serait à l'origine de la création de la première liaison entre **47** et la propyléine (**46**) pour donner **51**. Un transfert de proton restituerait alors les fonctions énamine et iminium adéquates de **52**. Une réaction de Mannich intramoléculaire donnerait le composé **53** alors qu'une perte de proton conclurait la biogenèse de la psylloborine A (**41**) (Schéma 14).

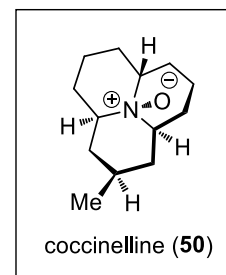


Figure 7 : Structure de **50**.

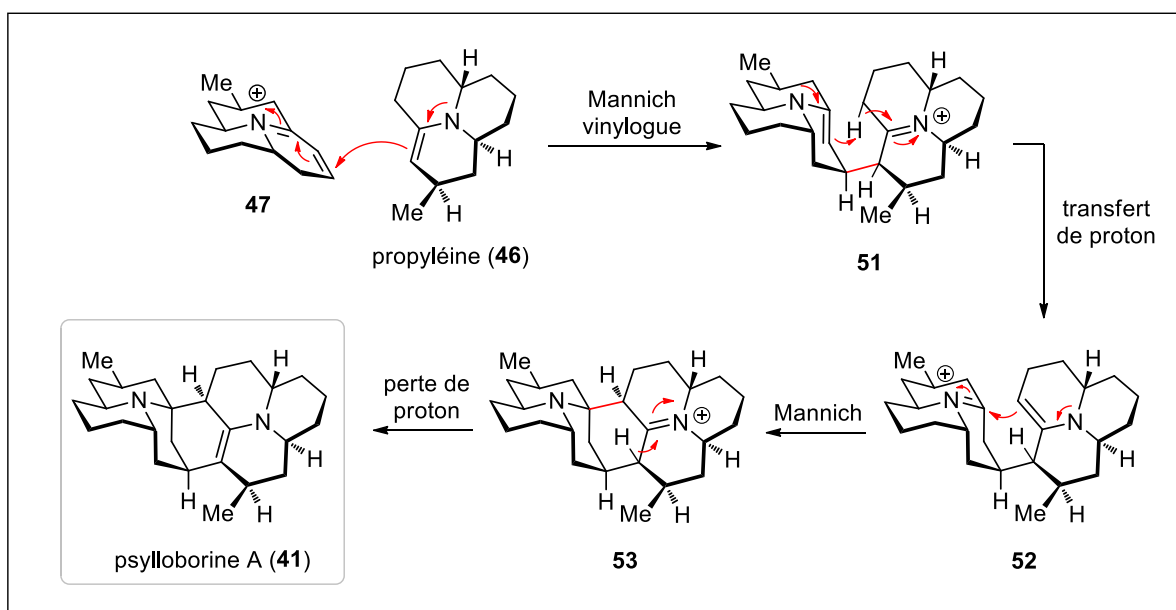


Schéma 14 : Hypothèse biogénétique de formation de la psylloborine A (**41**).

Après avoir réalisé la synthèse des monomères requis, Snyder essaya de réaliser la cascade décrite ci-avant. Comme chacun sait, la chimie réserve bien des surprises, même aux plus aguerris, rompus à l'exercice de la synthèse totale. Malgré une expertise indéniable, l'hypothèse formulée par Snyder se heurta à un problème de régiosélectivité. Afin d'obtenir l'iminium **47** souhaité, il utilisa un analogue oxydé **54** de la propyléine (**46**) et fut en mesure de mettre en présence **46** et **47** pour mimer l'étape-clé recherchée. La séquence réactionnelle postulée a bien eu lieu. Cependant, la position du méthyle sur le produit final ne correspondait pas à celle de l'alcaloïde visé. Ce détail révéla en fait un problème majeur qui ne pouvait être surmonté directement. Snyder nomma le composé obtenu "psylloborine B (**55**)" comme pour rendre compte de sa nature "presque naturelle", extrêmement proche de la psylloborine A (**41**) ciblée (Schéma 15).

Néanmoins, cette déconvenue lui permit d'identifier le verrou principal de la synthèse. Fort de cet enseignement, Snyder développa une voie de synthèse dans laquelle la liaison pré-dessinant la bonne régiosélectivité était contrainte et maîtrisée.

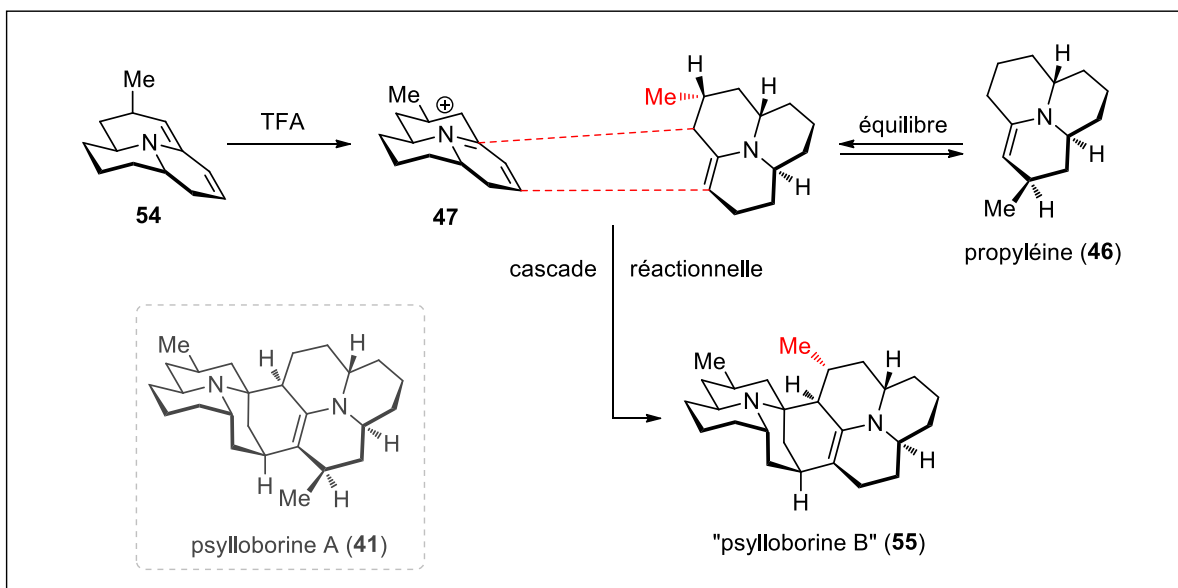


Schéma 15 : Réalisation de la cascade de la psylloborine, synthèse de la "psylloborine B" (55).

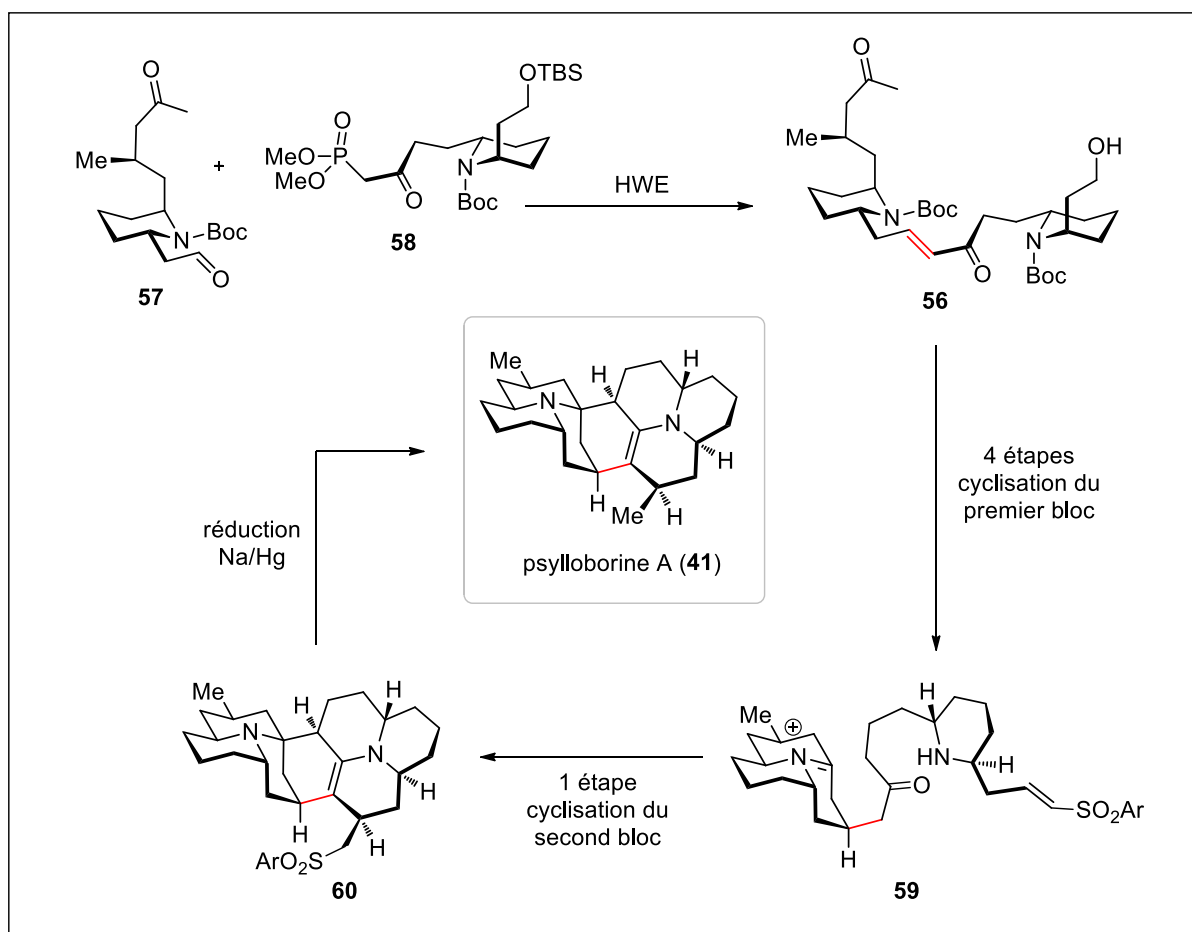


Schéma 16 : Après l'échec du biomimétisme, un tour de force de Snyder.

Pour ce faire, il utilisa le précurseur déployé **56** obtenu à partir de l'aldéhyde **57** et du phosphonate **58** via une réaction de Horner-Wadworth-Emmons et un ylure stabilisé (Schéma 16). Après une première séquence de cyclisation, **56** donne **59** et on constate bien que la

liaison voulue est installée. Une seconde cascade achève le squelette et fournit **60**. Un simple réduction de la sulfone **60** conduit enfin à la psylloborine A (**41**).

Ce dernier succès montre que même dans les cas les plus délicats, l'approche biomimétique est une source d'information précieuse. Dans le meilleur des cas, la synthèse envisagée peut être considérablement simplifiée ou raccourcie. Dans le pire, le point critique de la synthèse est mis en évidence et la stratégie biomimétique joue le rôle de révélateur pour proposer une autre voie de synthèse plus efficace.

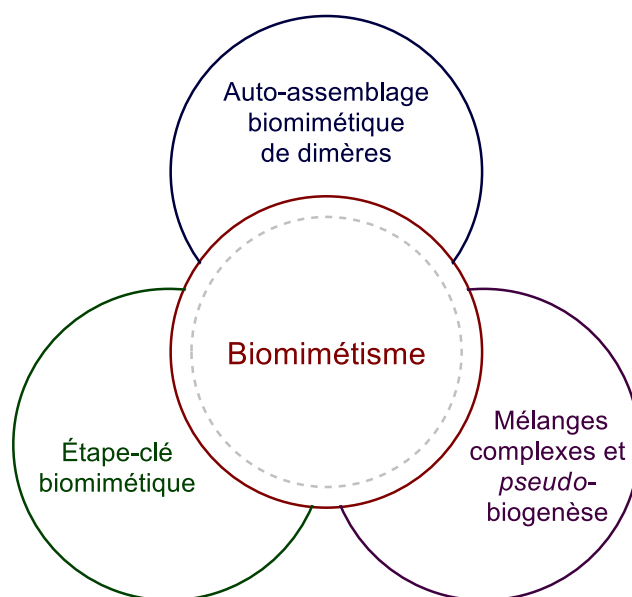
Perspectives

Cette brève présentation de la chimie biomimétique pose quelques concepts de base du domaine et permet de resituer cette thématique dans le courant de pensée dont elle est issue. Par ailleurs, la synthèse biomimétique est, depuis longtemps déjà, une composante primordiale de la chimie des substances naturelles et de la pharmacognosie.

Par le biais des quelques exemples présentés ici, on constate l'intérêt d'adopter ces stratégies bio-inspirées pour réaliser la synthèse totale d'alcaloïdes ou d'autres métabolites spécialisés complexes. En effet, l'élégance et la force des synthèses totales engendrées par la prise en compte des aspects biosynthétiques permet d'obtenir les molécules les plus complexes avec un recul structural considérable.

Le but de cette introduction n'est pas de fournir une description exhaustive des mécanismes ou des processus rencontrés. Néanmoins, on entrevoit déjà leur diversité avec le cas de la polycyclisation de précurseurs linéaires ou la dimérisation tardives d'unités monomériques conséquentes. Les variations peuvent être grandes lorsqu'il s'agit de définir des stratégies de synthèses totales biomimétiques. Mes travaux de thèse s'articulent autour de cette idée. Au cours des différents projets abordés, la déclinaison de plusieurs approches

bio-inspirées a permis de mettre à profit les analyses biogénétiques dans des travaux bien différents. C'est donc ce concept de "variabilité des partis-pris biomimétiques" qui guide ce manuscrit. L'accès au squelette des drimentines *via* une étape-clé biomimétique est décrit dans le chapitre 1 et représente une approche classique lorsque des considérations biosynthétiques sont prises en compte pour définir des stratégies de synthèse. Ensuite, une étude plus vaste de la famille des aplysinopsines sera l'objet du chapitre 2. Ce travail constitue une part conséquente de mes recherches doctorales. L'approche adoptée repose sur l'auto-



assemblage biomimétique de monomères naturels de la famille. Ces derniers s'apparient en dimères étonnants puis se réarrangent en congénères naturels plus complexes encore dans une logique fondamentale de spontanéité et de "tout naturel". Enfin, un dernier chapitre portera sur l'application des "réseaux moléculaires" générés par MS-MS aux mélanges synthétiques complexes d'alcaloïdes des genres *Myrioneuron* et *Nitraria*. Cette technique récente de déréplication issue de la chimie extractive de dernière génération est un outil puissant. La sensibilité de la méthode est très forte (celle de la spectrométrie de masse). De plus, la qualité, le volume et le traitement des informations collectées permettent de cibler spécifiquement les composés d'intérêts et donc de gagner en efficacité. C'est cette logique qui est appliquée à l'étude de mélanges synthétiques complexes. Par ailleurs, ces *pseudo*-métabolomes (ou soupes métaboliques artificielles) sont obtenu(e)s *via* le simple mélange de précurseurs bio-inspirés qui s'assembleraient par *pseudo*-biogenèse et conduiraient à une grande diversité de substances originales.

Références de l'introduction générale :

- (1) G. F. Swiegers (Ed.) ; *Bioinspiration and Biomimicry in Chemistry*; Wiley-VCH; 2012.
- (2) K. C. Nicolaou, D. J. Edmonds and P. G. Bulger; *Cascade Reactions in Total Synthesis*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 7134-7186.
- (3) K. C. Nicolaou and J. S. Chen; *The art of total synthesis through cascade reactions*; *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 2993-3009.
- (4) K. C. Nicolaou and J. S. Chen (Eds.) ; *Classics in Total Synthesis III*; Wiley-VCH; 2011.
- (5) A. Hinman and J. Du Bois A; *Stereoselective Synthesis of (-)-Tetrodotoxin*; *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 11510-11511.
- (6) S. A. Snyder, A. L. Zografos and Y. Lin; *Total Synthesis of Resveratrol-Based Natural Products: A Chemoselective Solution*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 8186-8191.
- (7) H. Wang and S. E. Reisman; *Enantioselective Total Synthesis of (-)-Lansai B and (+)-Nocardioazines A and B*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 6206-6210.
- (8) E. Poupon and B. Nay (Eds.); *Biomimetic Organic Synthesis*; Wiley-VCH; 2011.
- (9) E. J. Sorensen; D. A. Siler and J. D. Mighion; *Taking risks in complex synthesis design* **2013**, 249-273, in M. Harmata (Ed.); *Strategies and Tactics in Organic Synthesis*.
- (10) J. Kim and M. Movassaghi; *Biogenetically inspired syntheses of alkaloid natural products*; *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 3035-3050.
- (11) E. Gravel and E. Poupon; *Biogenesis and Biomimetic Chemistry: Can Complex Natural Products Be Assembled Spontaneously?*; *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2008, 27-42.

- (12) R. Robinson; *A Synthesis of Tropinone*; *J. Chem. Soc., Trans.* **1917**, 111, 762-768.
- (13) a) C. H. Heathcock; *The Enchanting Alkaloids of Yuzuriha*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1992**, 31, 665-681. b) C. H. Heathcock; *Nature knows best: An amazing reaction cascade is uncovered by design and discovery*; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 14323-14327.
- (14) K. C. Nicolaou and S. A. Snyder; *Chasing Molecules That Were Never There: Misassigned Natural Products and the Role of Chemical Synthesis in Modern Structure Elucidation*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 1012-1044.
- (15) M. E. Maier; *Structural revisions of natural products by total synthesis*; *Nat. Prod. Rep.*, **2009**, 26, 1105-1124.
- (16) P. D. Brown, A. C. Willis, M. S. Sherburn and A. L. Lawrence; *Total Synthesis of Incarviditone and Incarvilleatone*; *Org. Lett.* **2012**, 14, 4537-4539.
- (17) a) Y.-Q. Chen, Y.-H. Shen, Y.-Q. Su, L.-Y. Kong and W.-D. Zhang; *Incarviditone: A Novel Cytotoxic Benzofuranone Dimer from Incarvillea delavayi*; *Chem. Biodivers.* **2009**, 6, 779-783. b) Y.-P. Gao, Y.-H. Shen, S.-D. Zhang, J.-M. Tian, H.-W. Zeng, J. Ye, H.-L. Li, L. Shan and W.-D. Zhang; *Incarvilleatone, a New Cyclohexylethanoid Dimer from Incarvillea younghusbandii and Its Inhibition against Nitric Oxide (NO) Release*; *Org. Lett.* **2012**, 14, 1954-1957.
- (18) M. C. Carreño, M. González-López and A. Urbano; *Oxidative De-aromatization of para-Alkyl Phenols into para-Peroxyquinols and para-Quinols Mediated by Oxone as a Source of Singlet Oxygen*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 2737-2741.
- (19) Y.-H. Shen, Y.-Q. Su, J.-M. Tian, S. Lin, H.-L. Li, J. Tang, W.-D. Zhang; *Helv. Chim. Acta* **2010**, 93, 2393– 2396.
- (20) S. B. Herzon, L. Lu, C. M. Woo and S. L. Gholap; *11-Step Enantioselective Synthesis of (-)-Lomaiviticin Aglycon*; *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 7260-7263.
- (21) T. C. Sherwood, A. H. Trotta and S. A. Snyder; *A Strategy for Complex Dimer Formation When Biomimicry Fails: Total Synthesis of Ten Coccinellid Alkaloids*; *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 9743-9753.
- (22) H. He, W.-D. Ding, V. S. Bernan, A. D. Richardson, C. M. Ireland, M. Greenstein, G. A. Ellestad and G. T. Carter; *Lomaiviticins A and B, Potent Antitumor Antibiotics from Micromonospora lomaivitiensis*; *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 5362-5363.

Chapitre 1 :

Synthèse multi-étape et étape-clé bio-inspirée : mimer l'évènement principal de la biosynthèse des drimentines.

Chapitre 1 Synthèse multi-étape et étape-clé bio-inspirée : mimer l'évènement principal de la biosynthèse des drimentines.

1. Introduction aux drimentines comme cibles synthétiques.

1.1. Structures et hypothèse biosynthétique.

Les drimentines sont des alcaloïdes présentant un noyau dicétopipérazine. Ce type de dipeptides cycliques est courant.²³ Néanmoins, les structures rencontrées dans ce groupe restreint de substances naturelles sont bien particulières. En effet, ce sont des molécules hybrides qui se caractérisent par la présence d'une partie sesquiterpénique sur un châssis tétracyclique : une pyrrolo-indoline fusionnée à la dicétopipérazine voisine (Figure 8). Le motif pyrrolo-indoline permet de rattacher ces composés aux dipeptides cycliques incluant un tryptophane (**61**).

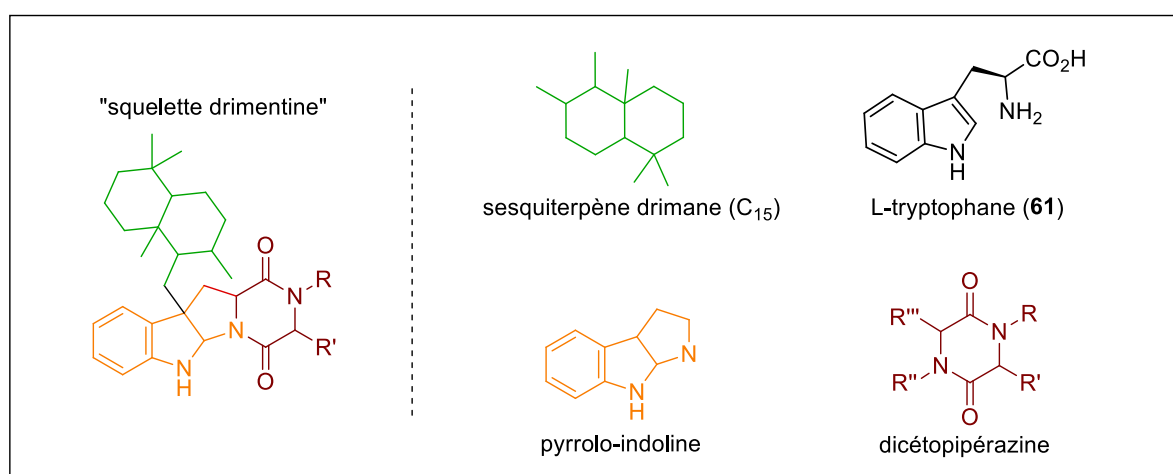


Figure 8 : Décomposition du squelette de base des drimentines.

La première mention de la famille des drimentines dans la littérature remonte à un brevet de 1998.²⁴ Alors, cinq alcaloïdes arborant ce même squelette sont décrits : les drimentine A à E (**62-66**). Bien plus récemment, courant 2012, les drimentines F (**67**) et G (**68**) ainsi que l'indotertine A (**69**) ont été isolées d'une rhizosphère d'un sol de mangrove chinoise de la province du Guangdong.²⁵ Ces trois derniers métabolites sont issus de la mise en culture d'une espèce de *Streptomyces* collectée dans une démarche de criblage biologique de micro-organismes sédimentaires marins.

En observant les structures (Figure 9), on constate que trois sous-types de squelettes coexistent. Le premier est celui de l'indotertine A (**69**) : son motif pentacyclique résulte de la fusion entre un indole et la partie décaline sesquiterpénique de la molécule. Le second, plus simple, est celui qui définit la famille des drimentines comme illustré dans la figure 9. Enfin, la troisième et dernière architecture est la plus complexe : un châssis heptacyclique totalement

²³ A. D. Borthwick; *2,5-Diketopiperazines: Synthesis, Reactions, Medicinal Chemistry, and Bioactive Natural Products*; *Chem. Rev.* **2012**, 112, 3641-3716.

²⁴ E. Lacey, M. Power, Z. Wu, R. W. Rickards; *Patent Int. Appl.* **1998**, WO 9809968 A1, 19980312.

²⁵ Q. Che, T. Zhu, R. A. Keyzers, X. Liu, J. Li, Q. Gu and D. Li; *Polycyclic Hybrid Isoprenoids from a Reed Rhizosphere Soil Derived Streptomyces sp. CHQ-64*; *J. Nat. Prod.* **2013**, 76, 759-763.

fusionné entre le noyau indole, la dicétopipérazine et le motif décaline comme pour la drimentine D (**65**).

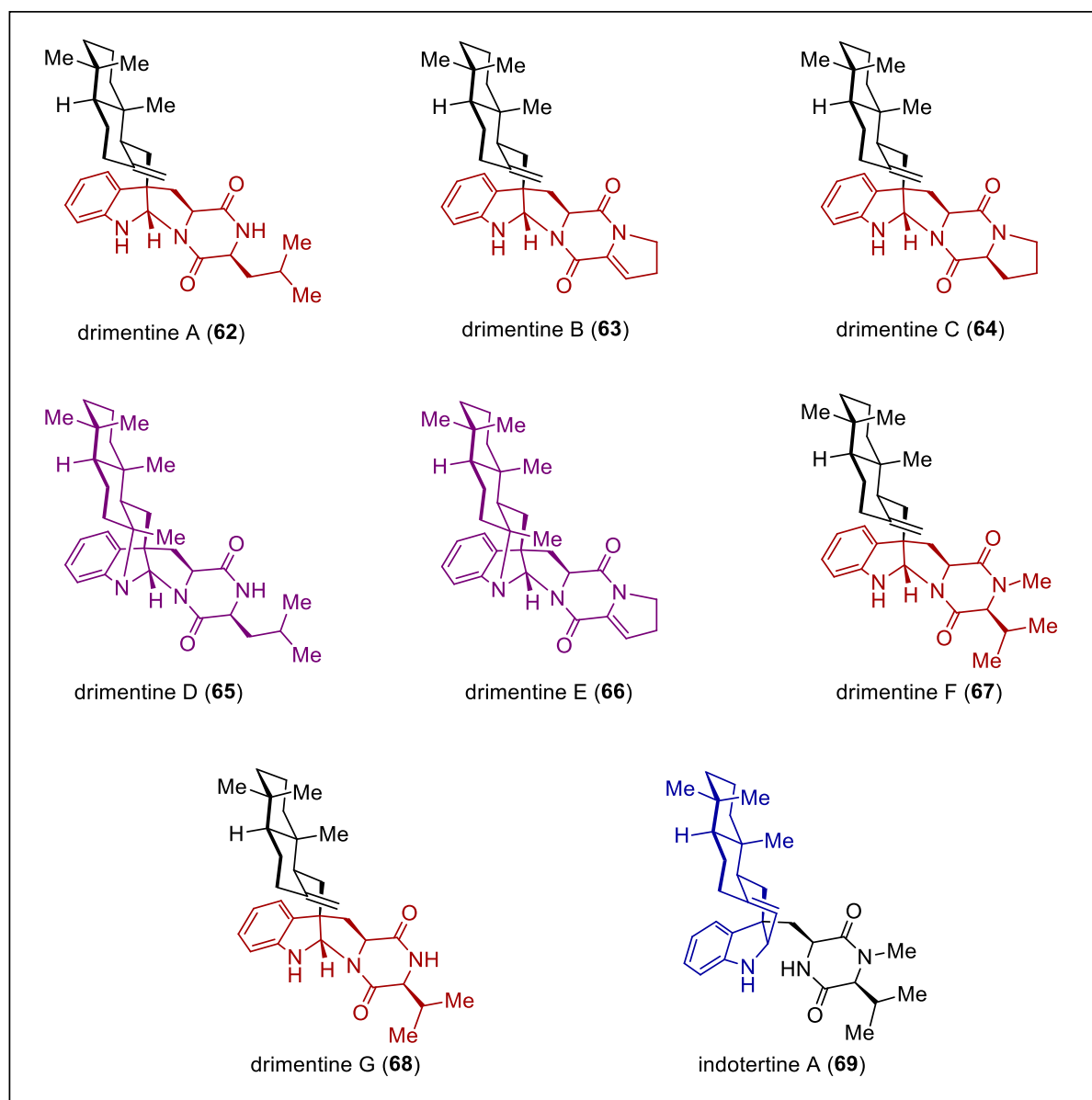


Figure 9 : Structures et squelettes de la famille des drimentines.

Après l'analyse de ces structures, on peut formuler une hypothèse biogénétique assez logique. Le couplage entre le tryptophane (**61**) et un second acide aminé (**I**) permet de former une dicétopipérazine (**II**). Alors, l'introduction d'une unité sesquiterpénique se ferait *via* une désaromatation du noyau indole en indolénine (**III**). La cyclisation du motif farnésyle de cet intermédiaire-clé (**III**) conduit à (**IV**). Ensuite, celui-ci peut évoluer dans deux directions distinctes (Schéma 17). Premièrement, l'indolénine de (**IV**) peut se faire piéger de façon intramoléculaire par la partie terpénique (squelette I). D'autre part, l'azote libre de la dicétopipérazine peut jouer le rôle de nucléophile intramoléculaire (squelette II). Enfin, dans ce squelette dit simple, l'azote de l'indolénine peut venir réagir sur la décaline encore libre (squelette III).

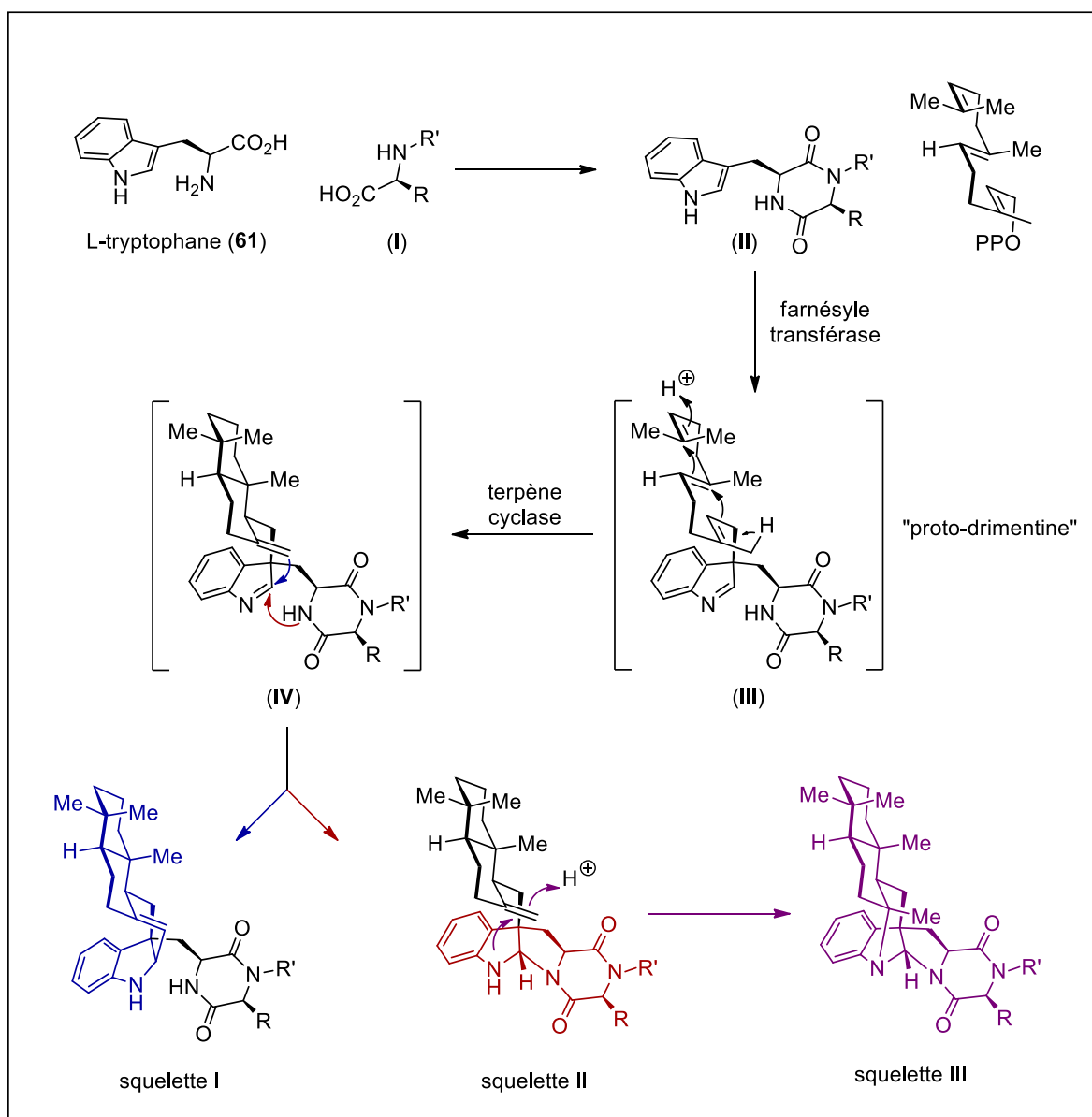


Schéma 17 : Hypothèse de biogenèse des trois squelettes de la famille des drimentines.

Outre la construction détaillée des différentes unités composant les drimentines, on constate qu'une unique cascade de désaromatisation de l'indole puis cyclisation sur l'indolénine explique la formation de tous les composés de la famille.

1.2. Objectifs de l'approche.

L'identification de l'étape cruciale de cette biosynthèse a permis de proposer une voie de synthèse bio-inspirée. Il est d'abord nécessaire de construire les blocs précurseurs par des méthodes classiques de synthèse multi-étape. Ensuite, l'idée est de mimer l'étape-clé de la biogenèse pour raccourcir la synthèse et exploiter au maximum la réactivité d'intermédiaires pertinents.

Les précurseurs identifiés pour la synthèse des drimentines A (**62**) et D (**65**) sont les dérivés sesquiterpéniques **70** et **71** pouvant être obtenus à partir des composés commerciaux tels que **72** ou **73** respectivement (Schéma 18). En effet, deux stratégies similaires sont envisagées : l'une reposant sur une unité farnésyle déployée et l'autre sur une décaline en C₁₅ préformée. La dicétopipérazine ciblée **74** pourrait, quant à elle, être facilement obtenue par couplage peptidique entre des dérivés du tryptophane (**75**) et de la leucine (**76**).

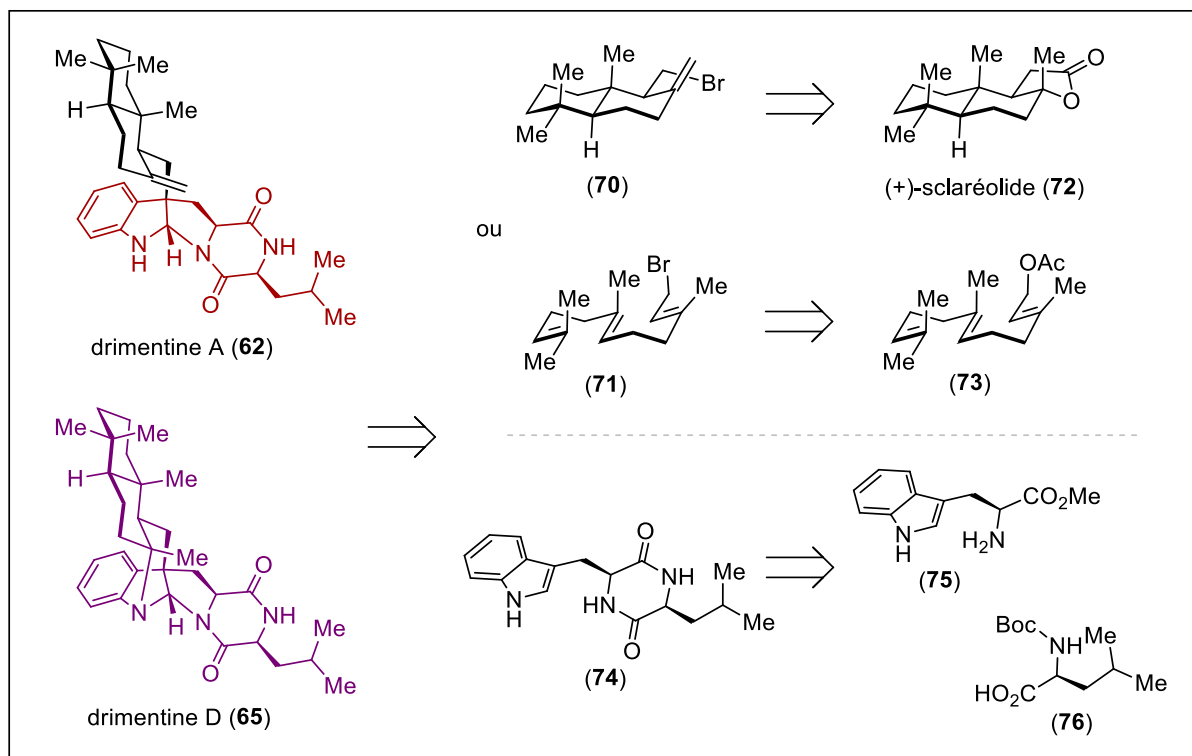
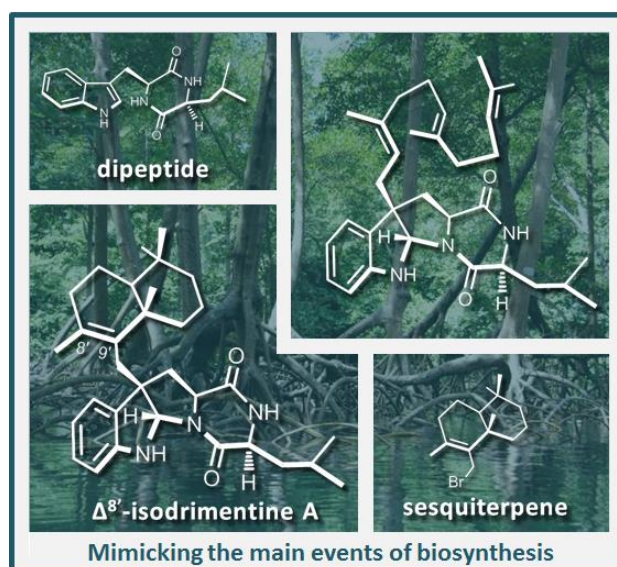


Schéma 18 : Rétrosynthèse, décomposition en précurseurs synthétiques commerciaux.

L'objectif de l'étude est de forger en très peu d'étapes le squelette des drimentines. La réalisation de plusieurs synthèses totales est bien sûr en ligne de mire et ce, de façon simplifiée. En effet, l'accent est mis sur le faible nombre d'étapes et une cascade réactionnelle. D'autre part, la désaromatation de l'indole selon deux approches : "linéaire" et "pré-cyclisée".

Mimicking the main events of drimentines biosynthesis: synthesis of Δ^8 -isodrimentine A and related compounds

Adam Skiredj, Mehdi A. Beniddir, Laurent Evanno,* and Erwan Poupon*



Abstract :

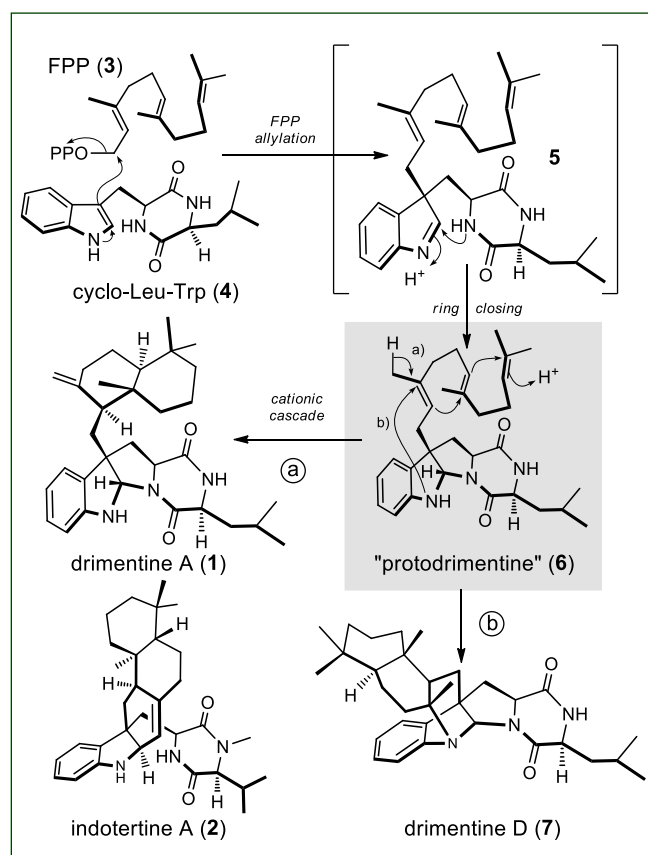
Drimentines are a family of tetracyclic alkaloids biosynthetically originating from the condensation of sesquiterpene units onto cyclic dipeptides. A straightforward assembly of the fused "diketopiperazino-pyrroloindoline" core of drimentine is described herein and used for the synthesis of Δ^8 -isodrimentine A. The strategy involves a bio-inspired indole dearomatization of a tryptophane-containing cyclodipeptide by a drimane-type decaline followed by the intramolecular trapping of the resulting indolenine intermediate in an uninterrupted reactive sequence. The starting diketopiperazine was prepared by classical peptidic coupling and the drimane-type decaline from (+)-sclareolide. A fully biomimetic approach with a linear sesquiterpene unit is also reported and led to farnesylated diketopiperazino-pyrroloindolines which correspond to the proposed biosynthetic precursors of both drimentines A and D. The end product Δ^8 -isodrimentine A and its congeners were evaluated *in vitro* for their cytotoxic activities against three human tumor cell lines.

Introduction:

Drimentines are a family of pyrroloindoline diketopiperazine alkaloids isolated from Actinomycetes strains,^{1,2} and showing antibiotic activities¹ as well as moderate cytotoxicities.² Among the substantial array of prenylated modified peptides,³ to date drimentines and the co-isolated indotertines are the sole examples of pyrroloindoline diketopiperazines bearing a sesquiterpene moiety (Scheme 1).⁴

En route to this class of alkaloids, Joullié and *coll.* reported a seminal total synthesis of roquefortine C.⁵ More recently, Li and *coll.* have reported a collective synthesis of drimentines A (1), G, F and indotertine A (2) *via* a multistep strategy resting on the radical conjugate addition of a bromoindoline derivative onto an appropriate Michael acceptor.⁶ Given our long-lasting interest for the biomimetic synthesis⁷ of natural products, we have been prompted to take advantage of a short and straightforward bio-inspired approach towards this group of alkaloids. When considering their biosynthetic origin (Scheme 1), the enzymatic transfer of a farnesyl unit (3) on a tryptophane-containing diketopiperazine (4) is likely to be responsible for the formation of their polycyclic central skeleton. Indeed,

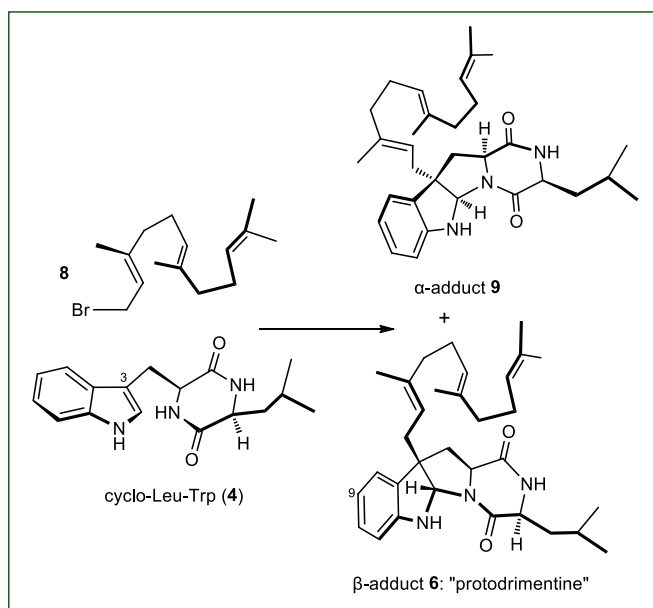
this would generate a transient indolenine intermediate (5) subsequently trapped by intramolecular nucleophilic attack forming thereby the final diketopiperazino-pyrroloindoline core (6 which could be considered as a “protodrimentine”) of drimentines (1 herein).⁸ As a final step, an enzymatic cationic cascade cyclization leading to the decaline ring system may end either by a β -elimination (pathway a), or by the trapping of the indoline nitrogen atom (pathway b) affording drimentine A (1) or D (7), respectively. Hence, we decided to mimic the indole dearomatization-intramolecular indolenine trapping sequence. Besides biosynthetic considerations, this approach appeared to us to be straightforward leading promptly to accessible precursors from the required tryptophane-containing dipeptides and electrophilic C₁₅-units. In this work, we evaluated the introductions of two distinct C₁₅-units: i) a farnesyl addition by allylation followed by a cascade cyclization in a completely bio-inspired approach; ii) a preformed drimane-type decaline obtained from sclareolide providing directly the targeted scaffold.



Scheme 1 : Biosynthesis of drimentines A (1) and D (7).

Results and discussion:

Prior to any study of the envisioned reaction sequences, we prepared unprotected cyclo-Leu-Trp (**4**) by peptidic coupling in two steps and good yields.⁹ From there, electrophilic C₁₅-donors were needed and appropriate bromide derivatives had to be prepared. At first, farnesylation was chosen to initiate the study with the aim of achieving a fully biomimetic synthesis of drimentines A (**1**) and D (**7**) from protodrimentine (**6**). For this purpose, after the



Scheme 2 : Bio-inspired assembly of “proto-drimentine” (**6**). Reaction conditions: *tert*-BuOK, -78°C, BEt₃, then **8** (1.1 eq.), 50°C, 12 h, 63% and after preparative HPLC (**6**: 25%, **9**: 25%).

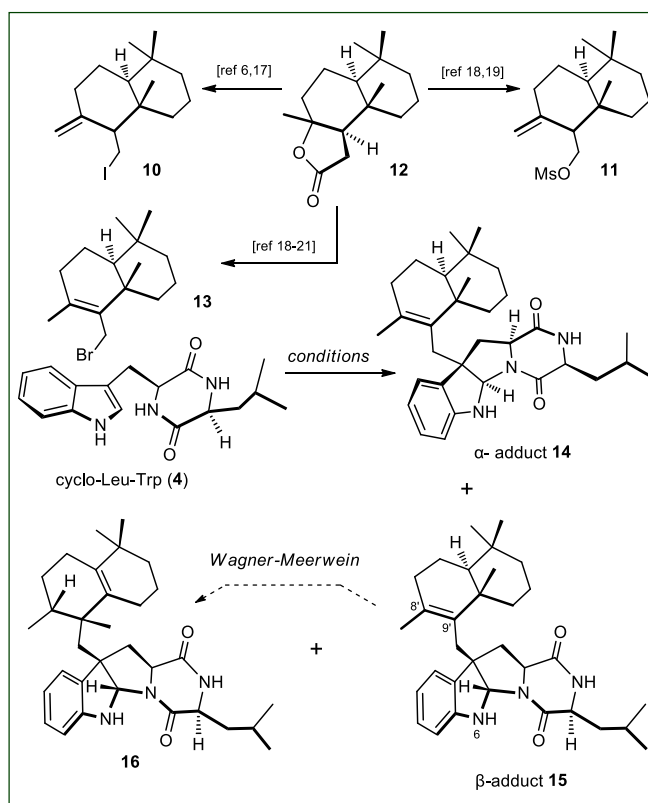
sequential exposure of **4** to potassium *tert*-butoxide and triethylborane (allowing the formation of an *N*-indolyltriethylborate species), farnesyl bromide (**8**)¹⁰ served as the electrophile (Scheme 2).¹¹⁻¹³ Under these conditions, complexation of the indole nucleus anion is supposed to enhance the C-3 nucleophilicity by electron enrichment therefore allowing the C-3 quaternization. The direct trapping of the transitory indolenine by the appended diketopiperazine moiety allowed the formation of the tetracyclic ring system of drimentines just as in the biosynthetic proposal. Indeed, under stoichiometric conditions the reaction afforded a 1:1 diastereomeric mixture of **6** and **9** in 63% yield. Further resolution by preparative HPLC gave β -adduct **6** and α -adduct **9** both in 25%

isolated yield each. Given the upstream position of β -adduct **6** in the proposed biosynthetic pathway of drimentines, numerous attempts of farnesyl cyclization were carried out in order to reach the final drimentine skeleton or even drimentines themselves, but without success.¹⁴⁻¹⁶

The successful synthesis of protodrimentine **6**, prompted us to pursue the study with preformed C₁₅-drimane-type decalines (Scheme 3). After the synthesis of the required decalines (*i.e.* with two possible leaving groups: iodide for **10**^{6,17} and mesylate for **11**^{18,19}) in several steps from sclareolide (**12**),²⁰ the previously validated conditions (*t*BuOK, BEt₃) proved to be ineffective with such homoallylic electrophiles. Nonetheless, the recourse to the very similar allylic drimane **13**²¹ restored the efficiency of the conditions. Starting from equimolar amounts of **4** and **13**, the key alkylation provided a 1:1 α - β diastereomeric mixture of the targeted drimentine core in 35% yield. Resolution by preparative HPLC afforded the two diastereomers **14** and **15** (Δ^8 -isodrimentine A) in 14% isolated yield each, alongside with minute amounts (2%) of **16** originating from a Wagner-Meerwein rearrangement of **15**.²² Owing to its high structural similarity with **1** and **7**, compound **15** represented the opportunity to reach

challenging alkaloids of the series. Indeed, among other possibilities, a supplementary N-6/C-9' ring closure could lead to drimentine D (**7**). However, all the experiments carried out to this end led to decomposition of the framework.

Compounds **6**, **9**, **14**, **15** and **16** were evaluated *in vitro* for their cytotoxic activities against three human tumor cell lines: colon cancer (HCT-116), lung carcinoma (A549) and myelogenous leukemia (K562). The results revealed that the non-cyclized compounds **6**, **9** and α -adduct **14** were inactive ($IC_{50} > 100 \mu M$), while compounds **15** and **16** showed moderate cytotoxic activities against HCT-116 and K562 cell lines (Table 1). Those results indicate that both isomers **15** and **16** are active in the same range than natural drimentines.² Overall, it could be postulated that the presence of a decaline group on the β -position of the tetracyclic alkaloid framework is critical for achieving tumor cell growth inhibitory activity.



Scheme 3 : Biomimetic assembly of $\Delta^{8'}$ -isodrimentine A (**15**). Reagents and conditions: (a) *tert*-BuOK, $-78^\circ C$, BEt₃, then **13** (1.1 eq.), $50^\circ C$, 12 h, 35% and after preparative HPLC (**14**: 14%, **15**: 14%, **16**: 2%).

Table 1 : IC_{50} (μM) of compounds **15** and **16** against HCT116, A549 and K562 cells.^a

^a Values are mean \pm standard errors of three independent experiments.

Cell line	HCT-116	A549	K562
15	6.0 \pm 0.6	71 \pm 6	4.5 \pm 0.3
16	5.0 \pm 1.0	46 \pm 3	16.2 \pm 2.8
Taxotere [®]	0.050 \pm 0.002	0.20 \pm 0.02	0.050 \pm 0.001

Conclusions:

In this work, we accessed the drimentine scaffolds in a straightforward sequence mimicking the main events of their biosynthesis. Cyclo-Leu-Trp was easily alkylated by farnesyl bromide affording a direct biosynthetic precursor. Allylation conditions were also effective with bulky drimane-type decalines allowing the efficient assembly of the alkaloid core. $\Delta^{8'}$ -isodrimentine A (**15**) and analogous **16** were synthesized and showed moderate cytotoxicities but similar to drimentine A, while α -adduct **14** and non-cyclized compound **6** and **9** were inactive.

References :

- [1] E. Lacey, M. Power, R. W. Rickerds, Z. WU., *Patent Int. Appl.* **1998**, WO 9809968 A1, 19980312.
- [2] a) Q. Che, T. Zhu, X. Qi, A. Màndi, T. Kurtàn, X. Mo, J. Li, Q. Gu, D. Li, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 3438–3441; b) Q. Che, T. Zhu, R. A. Keyzers, X. Liu, J. Li, Q. Gu, D. Li, *J. Nat. Prod.* **2013**, *76*, 759–763.
- [3] a) M. Ishikura, K. Yamada, Takumi Abe, *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 1630–1680; b) P. M. Scott, M. A. Merrien, J. Polonsky, *Experientia* **1976**, *32*, 140–142.
- [4] a) M. Okada, H. Yamagushi, I. Sata, F. Tsuji, D. Dubnau, Y. Sakagami, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2008**, *73*, 914–918; b) F. Tsuji, K. Kobayashi, M. Okada, H. Yamaguchi, M. Ojika, Y. Sakagami, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 4041–4044.
- [5] a) D. J. Richard, B. Schiavi, M. M. Joullié, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **2004**, *101*, 11971–11976; b) N. Shangguan, W. J. Hehre, W. S. Ohlinger, M. P. Beavers, M. M. Joullié, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6281–6287.
- [6] Y. S. Ruofan, W. Zhang, A. Li, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 9201–9204.
- [7] a) F. Senejoux, L. Evanno, E. Poupon, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 453–455 ; b) A. Skiredj, M. A. Beniddir, D. Joseph, K. Leblanc, G. Bernadat, L. Evanno, E. Poupon, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *25*, 6419–6424; c) A. Skiredj, M. A. Beniddir, D. Joseph, K. Leblanc, G. Bernadat, L. Evanno, E. Poupon, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 4980–4983; d) S. Benayad, M. A. Beniddir, L. Evanno, E. Poupon, *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 1894–1898.
- [8] X. Yu, G. Zocher, X. Xie, M. Liebhold, S. Schütz, T. Stehle, S.–M. Li, *Chem. Biol.* **2013**, *20*, 1492–1501.
- [9] a) Y. Zeng, Q. Li, R. P. Hanzlik, J. Aubé, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *15*, 3034–3038; b) T. Furukawa, T. Akutagawa, H. Funatani, T. Uchida, Y. Hotta, M. Niwa, Y. Takaya, *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 2002–2009.
- [10] N. S. Lamango, R. Duverna, W. Zhang, S. Y. Ablordeppey, *Open. Enzym. Inhib.* **2009**, *1*, 12–27.
- [11] A. Lin, J. Yang, M. Hashim, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 1950–1953.
- [12] a) N. Kagawa, J. P. Malerich, V. H. Rawal, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2381–2384; b) Y. Zhu, V. H. Rawal, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *134*, 111–114; c) Y. Liu, H. Du, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 740–743; d) M. Kimura, M. Futamata, R. Mukai, Y. Tamuru, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4592–4593.

- [13] a) Z. Meng, H. Yu, L. Li, W. Tao, H. Chen, M. Wan, P. Yang, D. J. Edmonds, J. Zhong, A. Lia, *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 6069; b) A. H. Trotta, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 3358–3361.
- [14] A. F. Barrero, J. Altarejos, E. J. Alvarez–Manzaneda, J. M. Ramos, S. Salido, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2215–2218.
- [15] a) S. A. Snyder, D. S. Treitler, *Ang. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7899–7903; b) S. A. Snyder, D. S. Treitler, *Org. Synth.* **2012**, 54–69; c) . A. Snyder, D. S. Treitler, A. P. Bucks, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *123*, 14303–14314.
- [16] Among others : sulfuric acid in nitromethane led to a non exploitable mixture of partially cyclized compounds, Snyder’s BDSB only provided a mixture of brominated compounds, both on the farnesyl side chain with unclear regioselectivity and on C–9 position of the aromatic ring.
- [17] D. D. Dixon, J. W. Lockner, Q. Zhou, P. S. Baran, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 8432–8435.
- [18] a) K. I. Kuchkova, Y. M. Chumakov, Y. A. Simonov, G. Bocelli, A. A. Panasenko, P. F. Vlad, *Synthesis* **1997**, *9*, 1045–1048; b) S. Poigny, T. Huor, M. Guyot, M. Samadi, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9318–9320.
- [19] All of the attempted bromination conditions on the homoallylic alcohol resulted in the formation of the corresponding diene after elimination of HBr.
- [20] a) A. Jermstad, *Parfumerie Moderne* **1927**, *19*, 151; b) Y. Volmar, A. Jermstad, *Compt. Rend.* **1928**, *186*, 783–785; c) A. Jermstad *Pharm. Acta Helv.* **1927**, *2*, 182–190 & 191–196; d) A. F. Barrero, E. J. Alvarez–Manzaneda, R. Chahboun, A. F. Arteaga, *Synthetic Commun.* **2004**, *34*, 3631–3643.
- [21] J. H. George, J. E. Baldwin R. M. Adlington, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2394–2397.
- [22] K. W. L. Yong, A. Jankam, J. N. A. Hooper, A. Suksamrarn, M. J. Garson, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 6341–6348.

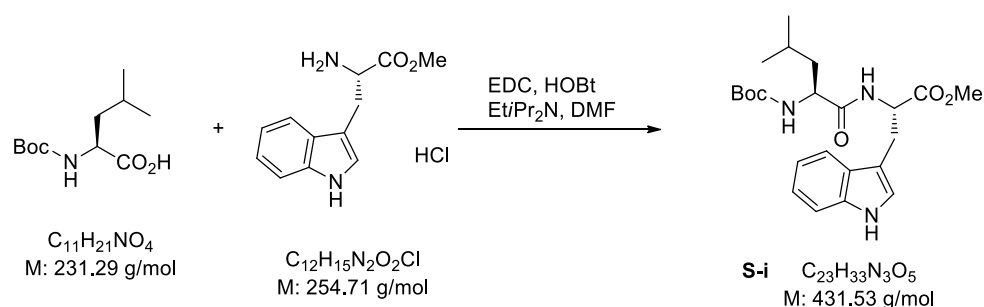
3. Partie expérimentale.

General experimental procedures

IR spectra were recorded with a Vector 22 Bruker spectrometer. The NMR spectra were recorded on Bruker AM-300 (300 MHz) and AM-400 (400 MHz) apparatus using chloroform-*d* and DMSO-*d*₆ as solvents. The solvent signals were used as references. Multiplicities are described by the following abbreviations: s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quadruplet, m = multiplet, b = br. HRESIMS were run on a Thermoquest TLM LCQ Deca ion-trap spectrometer. XBridge[®] C18 column (150 × 46 mm; i.d. 5 μM) was used for preparative HPLC separations using a Waters Delta Prep equipped with a binary pump (Waters 2525), a UV-visible diode array detector (190-600 nm Waters 2996). Analytical TLC was performed using Merck silica gel F254 (230-400 mesh) plates and analysed by UV light or by staining upon heating with vanillin solution (2 g vanillin, 1 mL conc. H₂SO₄, 100 mL EtOH). For silica gel chromatography, the flash chromatography technique was used, with Merck silica gel 60 (230-400 mesh) and p.a. grade.

All chemicals and solvents were purchased from Aldrich and SDS (France).

■ *N*-Boc-Leu-Trp-OMe (**S-i**)

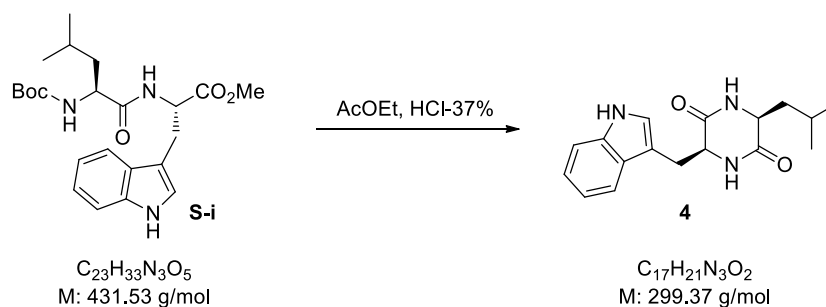


To a solution of *N*-Boc-Leu-OH (590 mg, 2.55 mmol) in DMF (10 mL), EDC (540 mg, 2.80 mmol) and then HOBt (625 mg, 4.55 mmol) are added. After 5 min stirring, Trp-OMe•HCl (650 mg, 2.55 mmol) and Hünig's base (2.00 mL) are added. Reaction mixture is heated to 50°C and stirred for 72 h. After cooling, reaction mixture is diluted with ethyl acetate (100 mL) and washed by a 10%-HCl aqueous solution (2 x 20 mL) and then a 10%- Na₂CO₃ aqueous solution (20 mL). Organic layer is dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure affording the title compound (950 mg, 86 %).

S-i: *R*_f = 0.24 (CH₂Cl₂ – MeOH 9:1). IR (neat): ν_{\max} = 1741, 1690, 1653 cm⁻¹. ¹H NMR (300 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): 8.19 (s broad, NH), 7.52 (*d*, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.34 (*d*, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.18 (*t*, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.10 (*t*, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.04 (*s*, 1H), 6.56 (*d* broad, *J* = 7.6 Hz, NH), 4.89 (*dt*, *J* = 7.9, 5.4 Hz, 1H), 4.80 (*s* broad, NH), 4.09 (*m*, 1H), 3.66 (*s*, 3H), 3.31 (*d*, *J* = 5.4 Hz, 2H), 1.73 – 1.54 (*m*, 3H), 1.41 (*s*, 9H), 0.89 (*d*, *J* = 4.3 Hz, 6H). ¹³C NMR (75 MHz,

chloroform-*d*), δ (ppm): 172.3, 172.2, 136.2, 127.8, 123.2, 122.4, 119.8, 118.7, 111.4, 110.0, 53.3, 53.0, 52.5, 41.5, 28.4, 27.8, 24.8, 23.1, 22.0.

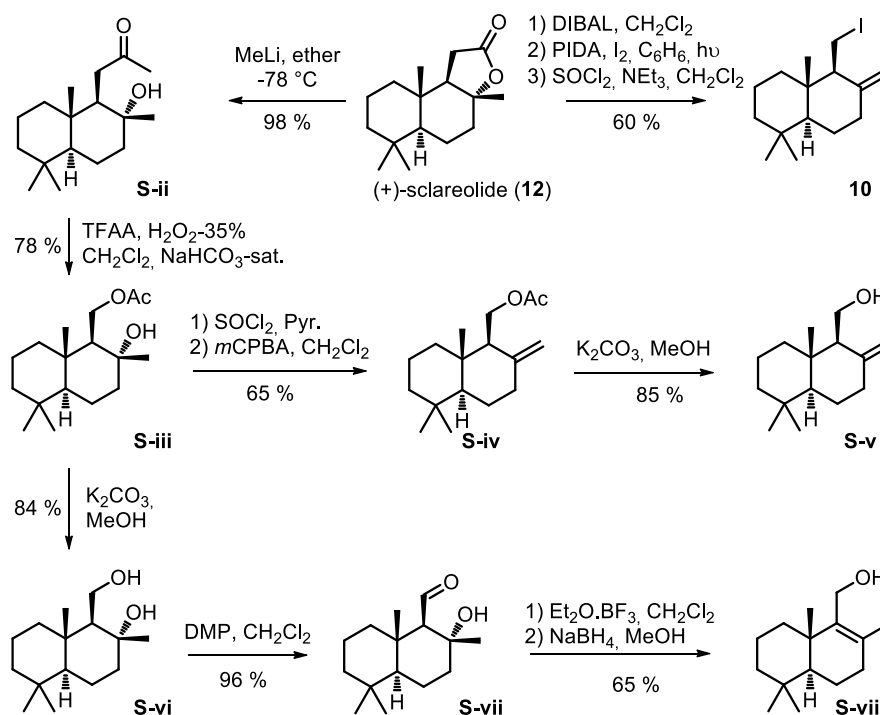
■ Cyclo-(leucinyltrptophyl) (**4**)



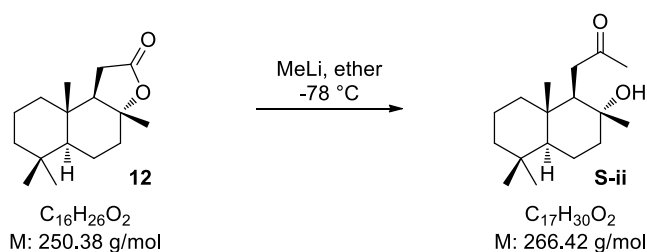
To a solution of *N*-Boc-Leu-Trp-OMe **S-i** (950 mg, 2.20 mmol) in ethyl acetate (30 mL), a 35%-HCl aqueous solution (10 mL) is added. Reaction mixture is heated to 50°C and stirred for 24 h. After cooling, reaction mixture is washed by water (2 x 20 mL) and then a 10%- Na_2CO_3 aqueous solution (20 mL). Organic layer is dried over Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure affording the title compound (360 mg, 55 %).

4: $R_f = 0.18$ ($CH_2Cl_2 - MeOH$ 9:1). IR (neat): $\nu_{max} = 1659, 1454, 1234\text{ cm}^{-1}$. 1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$), δ (ppm): 10.89 (s broad, NH), 8.02 (s broad, 1H), 7.93 (s broad, NH), 7.55 (*d*, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.30 (*d*, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.07 – 6.99 (*m*, 2H), 6.92 (*t*, $J = 7.4$ Hz, 1H), 4.09 (*m*, 1H), 3.40 (*m*, 1H), 3.26 (*dd*, $J = 14.4, 4.1$ Hz, 1H), 2.99 (*dd*, $J = 14.3, 4.8$ Hz, 1H), 1.21 (*m*, 1H), 0.65 (*m*, 1H), 0.53 (*d*, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.43 (*d*, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.02 (*m*, 1H). ^{13}C NMR (75 MHz, $DMSO-d_6$), δ (ppm): 167.4, 167.1, 135.9, 127.8, 124.6, 120.7, 119.0, 118.3, 111.1, 108.5, 55.5, 52.4, 43.7, 29.1, 22.9, 22.6, 21.3.

Chemical transformations of sclareolide (12)



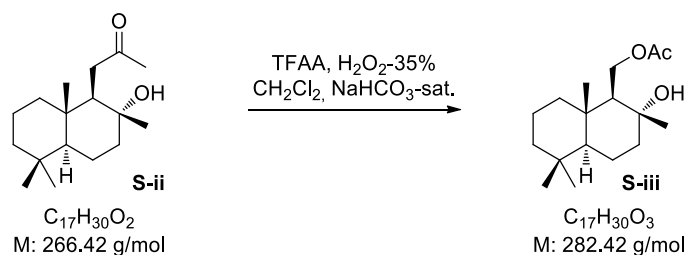
■ 11-Acetyldriman-8β-ol (S-ii)



To a pre-cooled solution (-78 °C) of (+)-sclareolide **12** (5.00 g, 20.0 mmol) in ether (150 mL), a 1.6-M solution of MeLi in ether (25.0 mL, 40.0 mmol) is added dropwise. After 45 min stirring at -78 °C, the mixture is carefully quenched by water (25 mL) and brought to r.t.. Organic layer is dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure affording the title compound (5.20 g, 98 %).

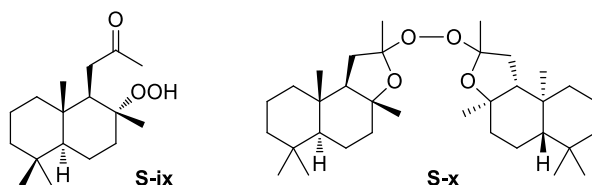
S-ii: *R*_f = 0.22 (petroleum ether – ethyl acetate 7:3). IR (neat): ν_{\max} = 3468 broad, 2978–2843, 1705 cm⁻¹. ¹H NMR (300 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): δ 2.51 (*dd*, *J* = 17.5, 5.5 Hz, 1H), 2.39 (*dd*, *J* = 17.5, 4.3 Hz, 1H), 2.16 (*s*, 3H), 1.91 (*dd*, *J* = 6.1, 3.6 Hz, 1H), 1.87 (*t*, *J* = 3.1 Hz, 1H), 1.76 (*s* broad, 1H), 1.65 (*dd*, *J* = 13.3, 2.6 Hz, 1H), 1.55 (*ddd*, *J* = 13.9, 3.6, 3.1 Hz, 1H), 1.49 – 1.30 (*m*, 6H), 1.23 (*m*, 2H), 1.16 (*m*, 1H), 1.11 (*d*, *J* = 4.4 Hz, 1H), 1.07 (*s*, 3H), 0.99 (*dd*, *J* = 12.1, 2.1 Hz, 1H), 0.90 (*m*, 1H), 0.84 (*s*, 3H), 0.76 (*s*, 6H). ¹³C NMR (75 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): 210.2, 73.1, 55.9, 44.5, 41.7, 39.6, 39.3, 38.3, 33.3, 33.2, 30.2, 29.7, 23.1, 21.4, 20.6, 18.4, 15.6.

■ 11-Acetyldrیمان-8β-ol (**S-iii**)



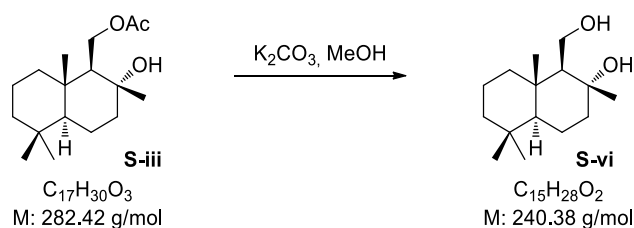
To a solution (0°C) of trifluoroacetic anhydride (9.0 mL, 63.8 mmol) in dichloromethane (40 mL), a 35%-H₂O₂ aqueous solution (2.60 mL, 3.0 mmol) is added. After 10 min stirring, the reaction mixture is brought to r.t. and solid NaHCO₃ (4 g) is added. After 10 min stirring, a solution of 11-acetyldrیمان-8β-ol **S-ii** (1.10 g, 4.1 mmol) in dichloromethane (50 mL) is added. After 30 min of additional stirring, water (10 mL) is added and pH is basified by addition of solid NaHCO₃ by small portions over a period of 45 min. The reaction mixture is extracted by ether (3 x 10 mL), the organic layer is dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. Purification by flash chromatography on silica gel (eluent: petroleum ether – ethyl acetate 7:3) affords the title compound (910 mg, 78 %).

Note: reaction performed on larger scale led to the predominant formation of starting material peroxides **S-ix** and **S-x** that can be recycled by reductive treatment by PPh₃ in dichloromethane.



S-iii: R_f = 0.28 (petroleum ether – ethyl acetate 7:3). IR (neat): ν_{max} = 3448 broad, 2923, 1790 cm⁻¹. ¹H NMR (300 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): δ 4.33 (*dd*, *J* = 11.8, 4.2 Hz, 1H), 4.20 (*dd*, *J* = 11.8, 5.4 Hz, 1H), 2.39 (*s* broad, 1H), 2.01 (*s*, 3H), 1.86 (*dt*, *J* = 12.5, 3.1 Hz, 1H), 1.69 – 1.57 (*m*, 2H), 1.57 – 1.31 (*m*, 4H), 1.27 – 1.16 (*m*, 2H), 1.14 (*s*, 3H), 1.12 – 0.96 (*m*, 2H), 0.92 (*dd*, *J* = 12.1, 2.1 Hz, 1H), 0.85 (*s*, 3H), 0.83 (*s*, 3H), 0.77 (*s*, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): 171.3, 72.5, 62.5, 59.9, 55.7, 44.0, 41.7, 39.7, 38.1, 33.4, 33.2, 24.5, 21.5, 21.2, 20.3, 18.4, 15.8.

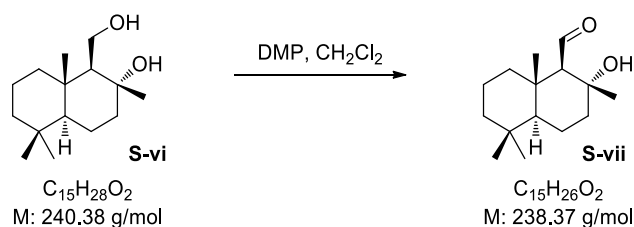
■ Driman-8 β ,11-diol (**S-vi**)



To a solution of 11-acetoxydriman-8(12)-ene **S-iii** (1.90 g, 6.74 mmol) in méthanol (100 mL), solid K_2CO_3 (1.00 g, 7.24 mmol) is added. After 1 h stirring, reaction mixture is concentrated under reduced pressure. Residue is partitioned between dichloromethane (100 mL) and water (30 mL). Organic layer is dried over Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure affording the title compound (1.35 g, 84 %).

S-vi: $R_f = 0.40$ (petroleum ether – ethyl acetate 1:1). IR (neat): $\nu_{\text{max}} = 3368, 2950 - 2845, 1457, 1385 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (300 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): δ 3.91 (*d*, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.43 (*s* broad, OH), 3.02 (*s* broad, OH), 1.88 (*dt*, $J = 12.3, 3.1$ Hz, 1H), 1.73 (*m*, 1H), 1.60 (*m*, 1H), 1.58 – 1.44 (*m*, 4H), 1.36 (*m*, 1H), 1.34 (*s*, 3H), 1.28 – 1.10 (*m*, 4H), 0.96 (*dd*, $J = 12.1, 2.3$ Hz, 1H), 0.87 (*s*, 3H), 0.78 (*s*, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): 75.2, 61.2, 60.6, 56.1, 44.5, 41.9, 40.2, 37.7, 33.7, 33.4, 24.4, 21.8, 20.3, 18.8, 16.2.

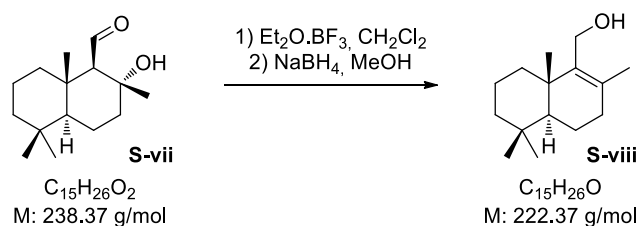
■ 8 β -Hydroxydriman-11-al (**S-vii**)



To a solution of driman-8 β ,11-diol **S-vi** (1.30 g, 5.4 mmol) in dichloromethane (50 mL) cooled to 0°C, Dess-Martin periodinane (3.50 g, 8.3 mmol) is added. After 1 h stirring, reaction mixture is washed by a sat- NaHCO_3 aqueous solution (10 mL), dried over Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. Purification by flash chromatography on silica gel (eluent: petroleum ether – ethyl acetate 8:2) affords the title compound (1.25 g, 96 %).

S-vii: $R_f = 0.58$ (petroleum ether – ethyl acetate 1:1). IR (neat): $\nu_{\text{max}} = 3400, 2950 - 2845, 1715, 1462, 1389 \text{ cm}^{-1}$. ^1H NMR (300 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): δ 9.99 (*d*, $J = 1.7$ Hz, 1H), 3.34 (*s* 1r, 1H), 2.06 (*dd*, $J = 2.4, 1.4$ Hz, 1H), 1.92 (*dtd*, $J = 12.8, 3.4, 1.7$ Hz, 1H), 1.80 (*dt*, $J = 12.2, 3.1$ Hz, 1H), 1.74 – 1.55 (*m*, 3H), 1.54 – 1.38 (*m*, 2H), 1.36 (*s*, 3H), 1.20 (*m*, 1H), 1.10 (*s*, 3H), 0.98 – 0.89 (*m*, 2H), 0.87 (*s*, 3H), 0.81 (*s*, 3H), 0.79 (*d*, $J = 6.1$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (75 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): 208.3, 72.9, 71.4, 55.3, 42.9, 41.8, 40.0, 37.5, 33.5, 33.38, 25.4, 21.5, 20.0, 18.3, 17.7.

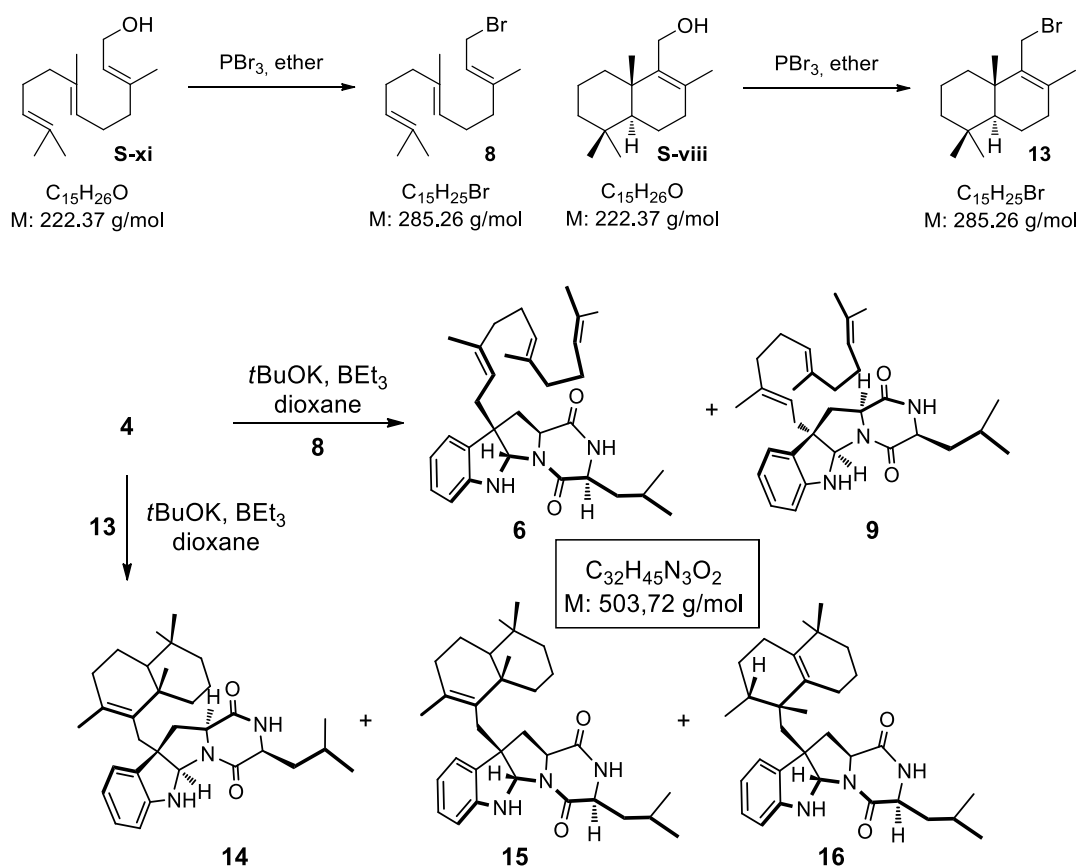
■ Driman-8-en-11-ol (**S-viii**)



To a solution of 8 β -Hydroxydriman-11-al **S-vii** (660 mg, 2.7 mmol) in dichloromethane (50 mL), Et₂O.BF₃ (1.40 mL, 11.3 mmol) is added. After 1 h stirring, reaction mixture is washed by a sat-NaHCO₃ aqueous solution (10 mL). Organic layer is dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. Residue is solubilized in methanol (20 mL) and NaBH₄ (300 mg, 7.9 mmol) is added. After 1 h stirring, reaction mixture is concentrated under reduced pressure. Residue is partitioned between dichloromethane (30 mL) and water (10 mL). Organic layer is dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. Purification by flash chromatography on silica gel (eluent: dichloromethane) affords the title compound (400 mg, 65 %).

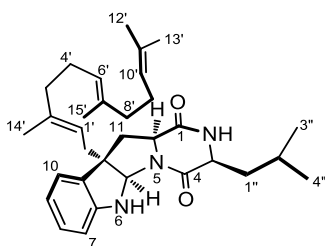
S-viii: R_f = 0.38 (dichloromethane). IR (neat): ν_{max} = 3466, 2950 - 2845, 1431, 1372 cm⁻¹. ¹H NMR (300 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): δ 4.19 (*d*, *J* = 11.5 Hz, 1H), 4.04 (*d*, *J* = 11.6 Hz, 1H), 2.10 – 1.98 (*m*, 2H), 1.90 (*m*, 1H), 1.72 (*s*, 3H), 1.68 – 1.34 (*m*, 4H), 1.32 – 1.10 (*m*, 4H), 0.96 (*s*, 3H), 0.95 (*s*, 1H), 0.89 (*s*, 3H), 0.84 (*s*, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): 141.1, 132.6, 58.4, 51.9, 41.8, 38.2, 37.0, 33.8, 33.4, 29.8, 21.7, 20.9, 19.4, 19.1, 19.0.

General procedure for the alkylation of cyclo-Leu-Trp



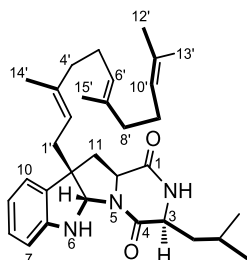
To a pre-cooled solution (0°C) of alcohol (farnesol **S-xi** or driman-8-en-11-ol **S-viii**, 163 mg, 0.74 mmol) in ether (5 mL), PBr_3 (100 μL , 1.1 mmol) is added. After 1 h stirring, reaction mixture is washed by water (5 mL). Organic layer is dried over Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. The corresponding allyl bromide is used without further purification immediately after its synthesis. To a pre-cooled solution (-78°C) of cyclo-Leu-Trp (200 mg, 0.67 mol) in dioxane (3 mL), a 1M-solution of *t*BuOK in THF (670 μL , 0.67 mmol) is added. After 10 min stirring, a 1M-solution of triethylborane in hexane (670 μL , 0.67 mmol) is added. After 10 min stirring, the appropriate, freshly-prepared allyl bromide (0.74 mol) in solution in dioxane (2 mL) is added and the reaction mixture is heated to 50°C for 16 hours. After cooling, reaction mixture is diluted with ethyl acetate (20 mL) and washed by water (5 mL). Organic layer is dried over Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. From farnesol: purification by flash chromatography on silica gel (eluent: dichloromethane – methanol 9:1) affords mixture of **6** and **9** (212 mg, 63 %). Resolution by preparative HPLC (XBridge® C18 column, 150 × 46 mm; i.d. 5 μM , isocratic 85% MeOH in H_2O at 42 mL/min,) affords **9** ($R_T = 13,1$ min, 85 mg, 25 %) and then **6** ($R_T = 14,6$ min, 85 mg, 25 %). From driman-8-en-11-ol: purification by flash chromatography on silica gel (eluent: dichloromethane – methanol 9:1) affords mixture of **14**, **15** and **16** (118 mg, 35 %). Resolution by preparative HPLC (XBridge® C18 column, 150 × 46 mm; i.d. 5 μM , isocratic 85% MeOH in H_2O at 42 mL/min,) affords **14** ($R_T = 11.1$ min, 47 mg, 14 %), **16** ($R_T = 12.3$ min, 7 mg, 2 %) and **15** ($R_T = 13.6$ min, 46 mg, 14 %).

■ (2*R*,3*R*)-Cyclo-leucinyl-(3-farnesyl-*N*,2-cyclo-2,3-dihydrotryptophyl): (**9**)



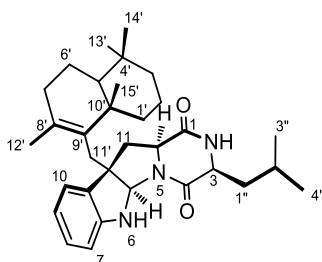
9: IR (neat): ν_{\max} = 3315, 2950 – 2922, 2852, 1678 – 1650, 1613, 1487, 1303 – 1287 cm^{-1} . $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = +82.7 (c = 0.25 CH_2Cl_2). HRMS ESI: m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: 504.3602; calculated for $\text{C}_{33}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_2^+$: 504.3590. ^1H NMR (400 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): 7.08 (d, J = 7.4, 1H), 7.04 (td, J = 7.7, 1.3 Hz, 1H), 6.72 (td, J = 7.5, 1.0 Hz, 1H), 6.55 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.27 (s, 1H), 5.37 (s, 1H), 5.14 (t, J = 7.5, 1H), 5.11 – 5.02 (m, 2H), 4.28 (t, J = 8.5, 1H), 3.96 (dd, J = 9.4, 3.8, 1H), 2.52 (s, 1H), 2.49 (s, 1H), 2.47 – 2.44 (m, 2H), 2.10 – 1.95 (m, 9H), 1.74 (m, 1H), 1.67 (s, 3H), 1.61 (s, 3H), 1.59 (s, 3H), 1.58 (s, 3H), 1.53 (m, 1H), 0.95 (d, J = 6.5 Hz, 3H), 0.92 (d, J = 6.5 Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): 169.9, 168.0, 147.4, 139.3, 135.3, 132.5, 131.3, 128.3, 124.2, 123.8, 123.0, 119.0, 118.5, 109.2, 81.2, 58.0, 55.6, 53.6, 39.9, 39.7, 38.4, 38.2, 35.2, 26.7, 26.5, 25.7, 24.5, 23.2, 21.2, 17.7, 16.5, 16.0.

■ (2*S*,3*S*)-Cyclo-leucinyl-(3-farnesyl-*N*,2-cyclo-2,3-dihydrotryptophyl): (**6**)



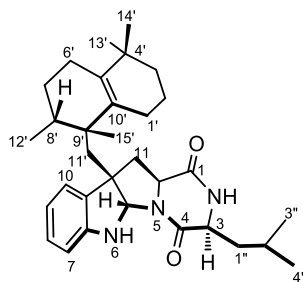
6: IR (neat): ν_{\max} = 3305, 2940 – 2915, 2845, 1675 – 1658, 1606, 1484, 1293 cm^{-1} . $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = – 205.3 (c = 0,57 CH_2Cl_2). HRMS ESI: m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: 504.3599; calculated for $\text{C}_{33}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_2^+$: 504.3590. ^1H NMR (400 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): δ 7.11 – 7.04 (m, 2H), 6.75 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 6.59 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.47 (s, 1H), 5.29 (s, 1H), 5.21 – 5.13 (m, 2H), 5.12 – 5.05 (m, 2H), 3.99 (dd, J = 11.3, 6.2, Hz, 1H), 3.94 (dd, J = 9.3, 3.9 Hz, 1H), 2.64 (dd, J = 12.8, 6.2 Hz, 1H), 2.42 (m, 2H), 2.29 (dd, J = 12.8, 11.1 Hz, 1H), 2.09 – 1.94 (m, 9H), 1.77 (m, 1H), 1.67 (s, 3H), 1.60 (s, 3H), 1.59 (s, 3H), 1.55 (m, 1H), 1.51 (s, 1H), 0.98 (d, J = 6.5 Hz, 3H), 0.92 (d, J = 6.5 Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): δ 169.9, 166.8, 148.9, 139.3, 135.13, 131.2, 131.0, 128.6, 124.3, 123.9, 123.4, 119.1, 118.2, 109.3, 79.7, 58.7, 55.6, 53.5, 39.9, 39.7, 38.6, 38.0, 35.4, 26.7, 26.5, 25.6, 24.5, 23.2, 21.2, 17.6, 16.3, 16.0.

■ (2*R*,3*R*)-Cyclo-leucinyl-(3-(driman-8-en-11-yl)-*N*,2-cyclo-2,3-dihydrotryptophyl): (**14**)



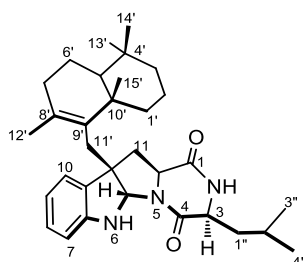
14: IR (neat): ν_{\max} = 3340, 2930 – 2920, 2832, 1665 – 1649, 1600, 1454, 1211, 1150 cm^{-1} . $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = +184.2 (c = 0.19 CH_2Cl_2). HRMS ESI: m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: 504.3584; calculated for $\text{C}_{33}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_2^+$: 504.3590. ^1H NMR (400 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): 7.12 (dd, J = 7.5, 1.2 Hz, 1H), 7.03 (td, J = 7.7, 1.2 Hz, 1H), 6.74 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.51 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.87 (s, 1H), 5.52 (s, 1H), 4.33 (t, J = 8.3 Hz, 1H), 3.93 (dd, J = 8.6, 3.5 Hz, 1H), 2.84 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 2.57 (dd, J = 13.1, 8.5 Hz, 1H), 2.49 (dd, J = 13.1, 8.5 Hz, 1H), 2.44 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 2.10 (dd, J = 18.0, 7.1 Hz, 1H), 2.00 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 1.78 (d, J = 12.5, 1H), 1.74 – 1.59 (m, 3H), 1.55 – 1.42 (m, 3H), 1.44 (s, 3H), 1.42 – 1.39 (m, 2H), 1.34 (d, J = 13.0, 1H), 1.01 (dd, J = 12.9, 2.3 Hz, 1H), 1.10 – 0.97 (m, 2H), 0.97 (d, J = 6.5 Hz, 2H), 0.93 (d, J = 6.5 Hz, 3H), 0.85 (s, 3H), 0.77 (s, 3H), 0.62 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): 169.8, 167.8, 147.2, 138.2, 133.9, 131.5, 128.3, 123.6, 119.2, 109.4, 81.3, 58.0, 55.9, 53.5, 51.5, 41.5, 40.8, 38.4, 38.1, 37.7, 33.87, 33.81, 33.5, 33.4, 24.7, 23.3, 21.7, 21.2, 20.8, 20.1, 19.01, 18.89.

■ (2*S*,3*S*)-Cyclo-leucinyl-(3-(8 β -9 β -15(10 \rightarrow 9)-abeodriman-5(10)-en-11-yl)-*N*,2-cyclo-2,3-dihydrotryptophyl): (**16**)



16: IR (neat): ν_{\max} = 3345, 2950, 2925, 1680 – 1669, 1610, 1466, 1163 cm^{-1} . $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = +145.8 (c = 0.22 CH_2Cl_2). HRMS ESI: m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: 504.3585; calculated for $\text{C}_{33}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_2^+$: 503.3632. ^1H NMR (400 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): 7.06 (m, 2H), 6.76 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 3.9 Hz, 1H), 6.57 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 5.51 (s, 1H), 3.91 (m, 2H), 2.72 (dd, J = 12.3, 6.0 Hz, 1H), 2.62 (s, 2H), 2.34 (t, J = 12.3 Hz, 1H), 2.08 – 2.00 (m, 2H), 1.77 – 1.36 (m, 4H), 1.60 – 1.38 (m, 5H), 1.36 (s, 3H), 1.33 (m, 1H), 1.10 – 0.98 (m, 2H), 0.95 – 0.92 (m, 12H), 0.85 (s, 3H), 0.81 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): 169.5, 166.8, 149.2, 137.4, 132.7, 131.9, 128.8, 124.1, 119.5, 109.3, 81.37, 6.42, 56.0, 55.7, 51.3, 43.1, 41.7, 40.9, 38.0, 34.1, 33.7 (3C), 33.6, 24.4, 23.2, 21.8, 21.4, 21.2, 21.1, 19.2, 19.1.

■ (2*S*,3*S*)-Cyclo-leucinyl-(3-(driman-8-en-11-yl)-*N*,2-cyclo-2,3-dihydrotryptophyl): (**15**)



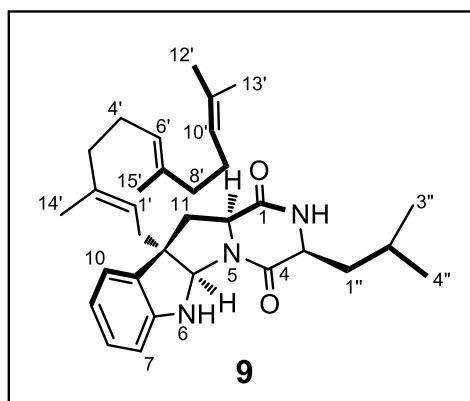
15: IR (neat): ν_{\max} = 3340, 2945, 2923, 2830, 1677 – 1664, 1606, 1442, 1173 cm^{-1} . $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -161.4$ ($c = 0.22$ CH_2Cl_2). HRMS ESI: m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: 504.3584; calculated for $\text{C}_{33}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_2^+$: 504.3590. ^1H NMR (400 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): 7.04 (td, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 1H), 7.00 (dd, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 1H), 6.75 (td, $J = 7.4, 1.0$ Hz, 1H), 6.54 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 5.39 (s, 1H), 3.95 (m, 2H), 2.79 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H), 2.76 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 2.39 (d, $J = 15.0$ Hz, 1H), 2.38 (t, $J = 12.3$ Hz, 1H) 2.10-2.00 (m, 2H), 1.90 (td, $J = 17.2, 6.6$ Hz, 1H), 1.79 – 1.50 (m, 7H), 1.50 – 1.35 (m, 2H), 1.20 - 1.14 (m, 3H), 1.10 (s, 3H), 0.99 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.92 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.88 (s, 3H), 0.82 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, chloroform-*d*), δ (ppm): 169.8, 166.7, 149.3, 137.1, 132.6, 132.3, 128.5, 124.5, 119.5, 109.3, 81.6, 59.7, 56.1, 53.7, 51.41, 42.0, 41.9, 39.0, 38.4, 38.1, 34.2, 33.6, 33.49, 33.43, 24.7, 23.4, 21.9, 21.3, 21.3, 20.8, 19.16, 19.13.

Cell Culture and Proliferation Assay:

Cancer cell lines were obtained from the American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA) and were cultured according to the supplier's instructions. Human HCT-116 colorectal carcinoma, A549 lung carcinoma and K562 myelogenous leukemia cells were grown in RPMI 1640 supplemented with 10% fetal calf serum (FCS) and 1% glutamine. Cell lines were maintained at 37°C in a humidified atmosphere containing 5% CO_2 . Cell growth inhibition was determined by an MTS assay according to the manufacturer's instructions (Promega, Madison, WI, USA).

Briefly, the cells were seeded in 96-well plates (2.5×10^3 cells/well) containing 200 μL of growth medium. After 24 h of culture, the cells were treated with the tested compounds at different final concentrations. After 72 h of incubation, 40 μL of resazurin was added for 2h before recording absorbance at 490nm with a spectrophotometric plate reader. The IC_{50} corresponds to the concentration of compound that induced a decrease of 50% in absorbance of drug-treated cells compared with untreated cells. Experiments were performed in triplicate.

(2*R*,3*R*)-Cyclo-leucinyl-(3-farnesyl-*N*,2-cyclo-2,3-dihydrotryptophyl): (9)



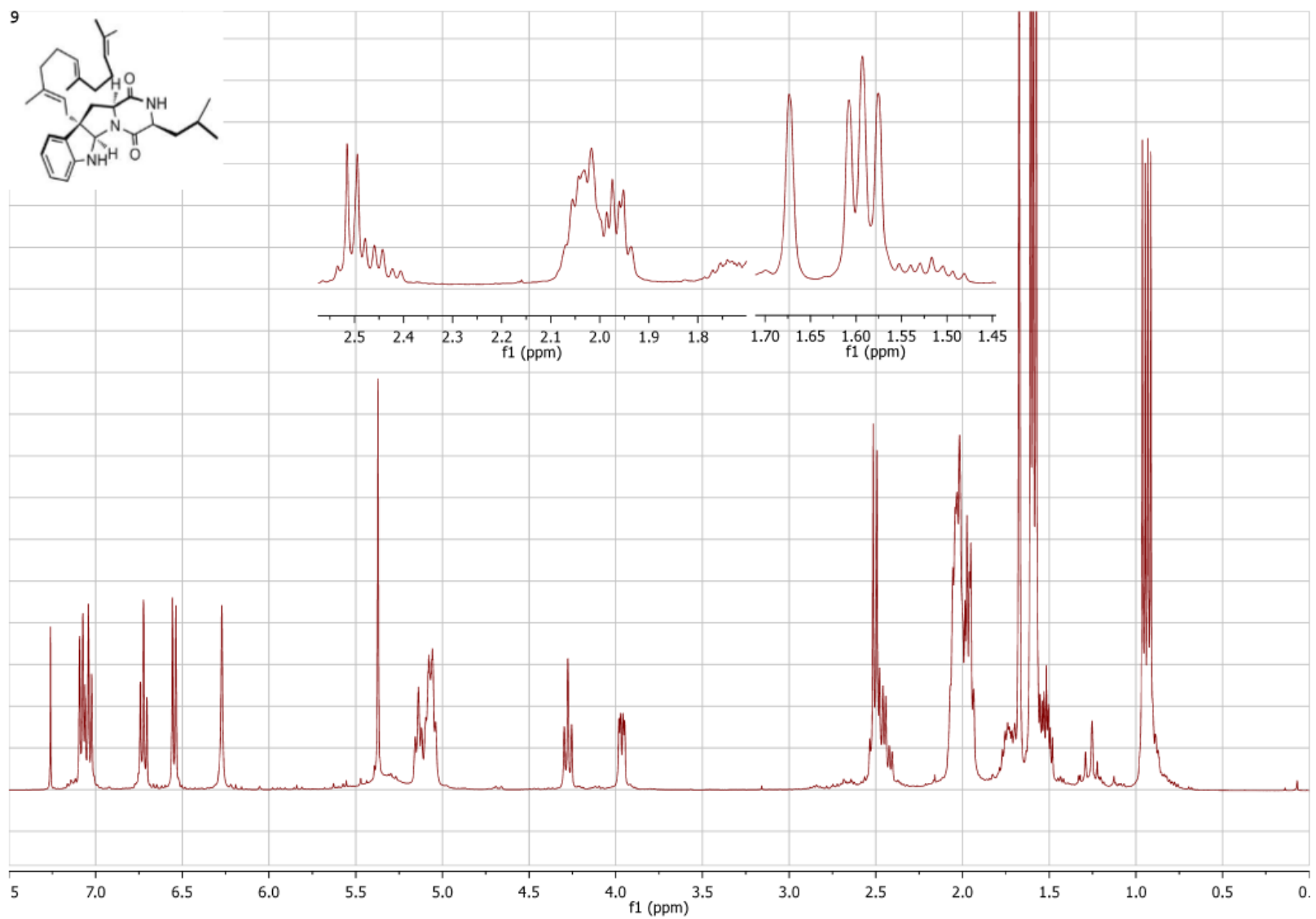
- Yellow foam
- HRMS (ESI-TOF) m/z $[M+H]^+$ 504.3602
- $[\alpha]_D^{20} = +82.7$ ($c = 0.25$ CH_2Cl_2)
- IR $\nu = 3315, 2950 - 2922, 2852, 1678 - 1650, 1613, 1487, 1303 - 1287$ cm^{-1}

- $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) and $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz CDCl_3)

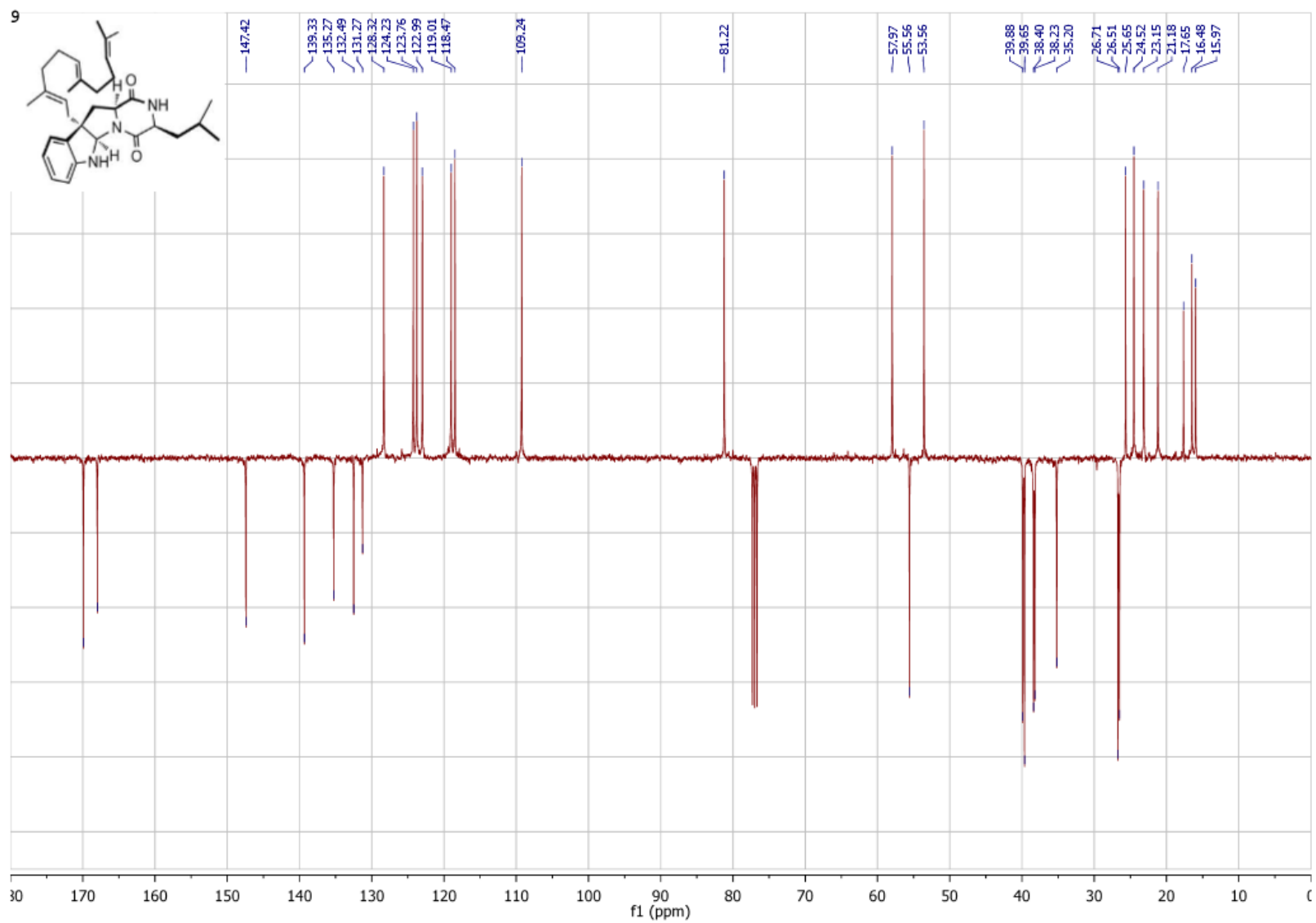
Assignment	^1H δ (ppm)	integration	multiplicity	J (Hz)	^{13}C δ (ppm)
1	-				169.9
2	6.27	1	s		-
3	3.96	1	dd	9.4 – 3.8	53.6
4	-				168.0
5a	5.37	1	s		81.2
6a	-				147.4
7	6.55	1	d	7.8	109.2
8	7.04	1	td	7.7 – 1.3	128.3
9	6.72	1	td	7.5 – 1.0	119.0
10	7.08	1	d	7.4	123.0
10a	-				132.5
10b	-				55.6
11 α	2.48	1	s		38.2
11 β	2.52	1	s		
11a	4.28	1	t	8.5	58.0
1'	2.46	2	m		35.2
2'	5.14	1	t	7.5	118.5

3'	-				139.3
4'	2.10 - 1.95	2	m		39.9
5'/9'	2.10 - 2.00	4	m		26.7
					26.5
6'	5.07	1	m		123.8
7'	-				135.3
8'	2.10 - 1.95	2	m		39.7
10'	5.07	1	m		124.2
11'	-				131.3
12'	1.67	3	s		25.7
13'	1.60	3	s		17.6
14'	1.52	3	s		16.0
15'	1.69	3	s		16.3
1"	2.05	1	m		38.6
	1.55	1	m		
2"	1.77	1	m		24.5
3"	0.92	3	d	6.5	21.2
4"	0.98	3	d	6.5	23.2

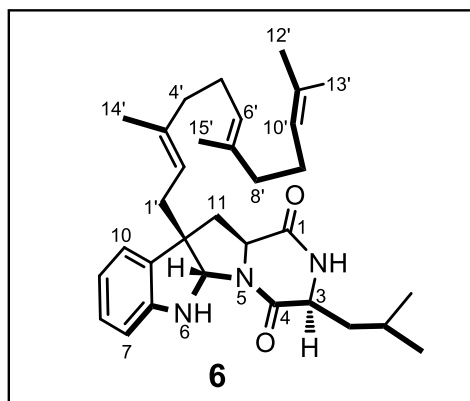
¹H NMR Spectrum (400 MHz, CDCl₃) of **9**



¹³C NMR Spectrum (100 MHz, CDCl₃) of **9**



(2*S*,3*S*)-Cyclo-leucinyl-(3-farnesyl-*N*,2-cyclo-2,3-dihydrotryptophyl): (6)



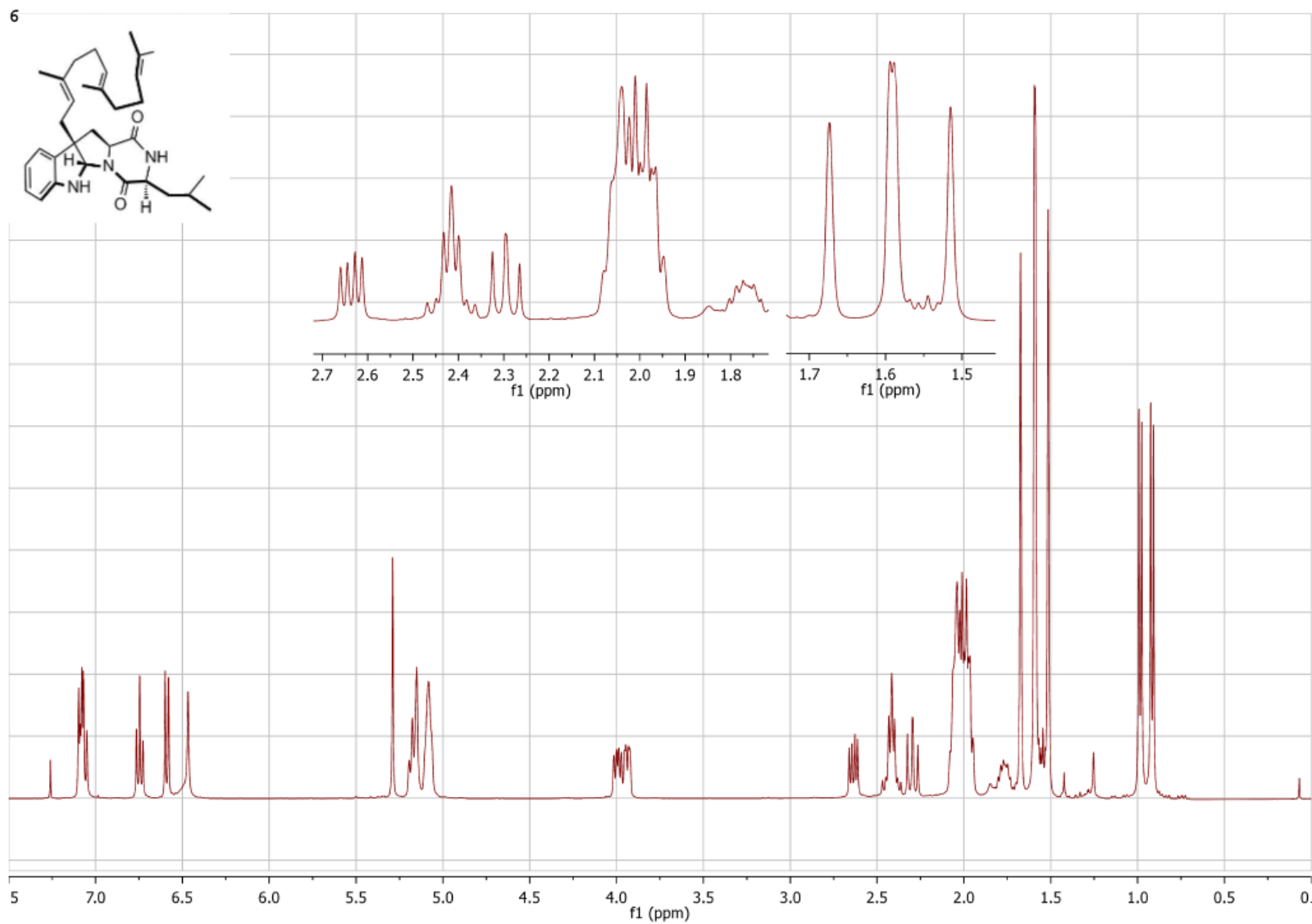
- Yellow foam
- HRMS (ESI-TOF) m/z $[M+H]^+$ 504.3599
- $[\alpha]_D^{20} = -205.3$ ($c = 0.57$ CH_2Cl_2)
- IR $\nu = 3305, 2940 - 2915, 2845, 1675 - 1658, 1606, 1484, 1293 \text{ cm}^{-1}$

- $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) and $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz CDCl_3)

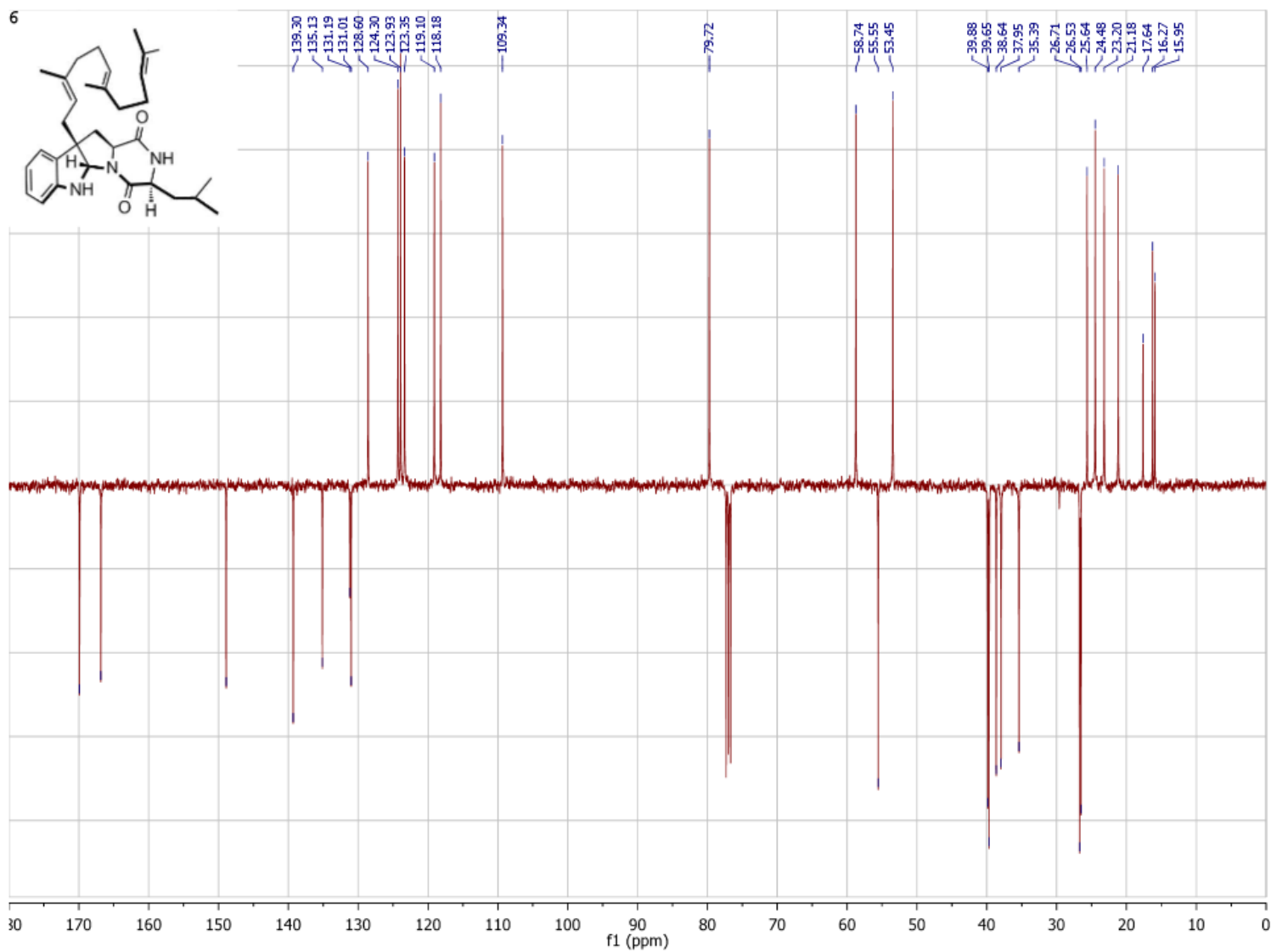
Assignment	$^1\text{H} \delta$ (ppm)	integration	multiplicity	J (Hz)	$^{13}\text{C} \delta$ (ppm)
1	-				169.9
2	6.47	1	s		-
3	3.94	1	dd	9.3 – 3.9	53.5
4	-				166.8
5a	5.29	1	s		79.7
6	5.16	1	m		-
6a					148.9
7	6.59	1	d	7.7	109.3
8	7.07	1	m		128.6
9	6.75	1	t	7.2	119.1
10	7.09	1	m		123.4
10a	-				131.0
10b					55.6
11 α	2.64	1	dd	12.8 – 6.2	38.0
11 β	2.29	1	dd	12.8 – 11.1	
11a	3.99	1	dd	11.3 – 6.2	58.7
1'	2.42	2	m		35.4

2'	5.16	1	m		118.2
3'	-				139.3
4'	2.00-1.90	2	m		39.9
5'/9'	2.10-1.95	2	m		26.7
	2.10-1.95	2	m		26.5
6'	5.08	1	m		123.9
7'					135.1
8'	2.00-1.90	2	m		39.7
10'	5.08	1	m		124.3
11'					131.2
12'	1.67	3	s		25.6
13'	1.60	3	s		17.6
14'	1.52	3	s		16.0
15'	1.69	3	s		16.3
1"	2.05	1	m		38.6
	1.55	1	m		
2"	1.77	1	m		24.5
3"	0.92	3	d	6.5	21.2
4"	0.98	3	d	6.5	23.2

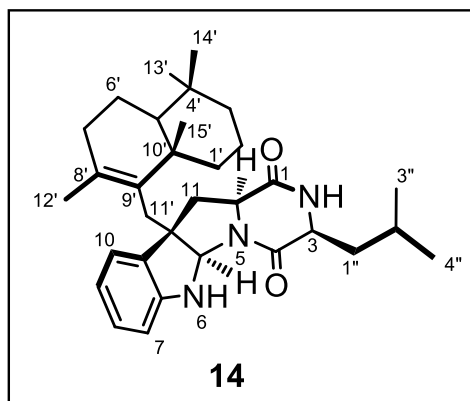
^1H NMR Spectrum (400 MHz, CDCl_3) of **6**



¹³C NMR Spectrum (100 MHz, CDCl₃) of **6**



(2*R*,3*R*)-Cyclo-leucinyl-(3-(driman-8-en-11-yl)-*N*,2-cyclo-2,3-dihydrotryptophyl): (14)



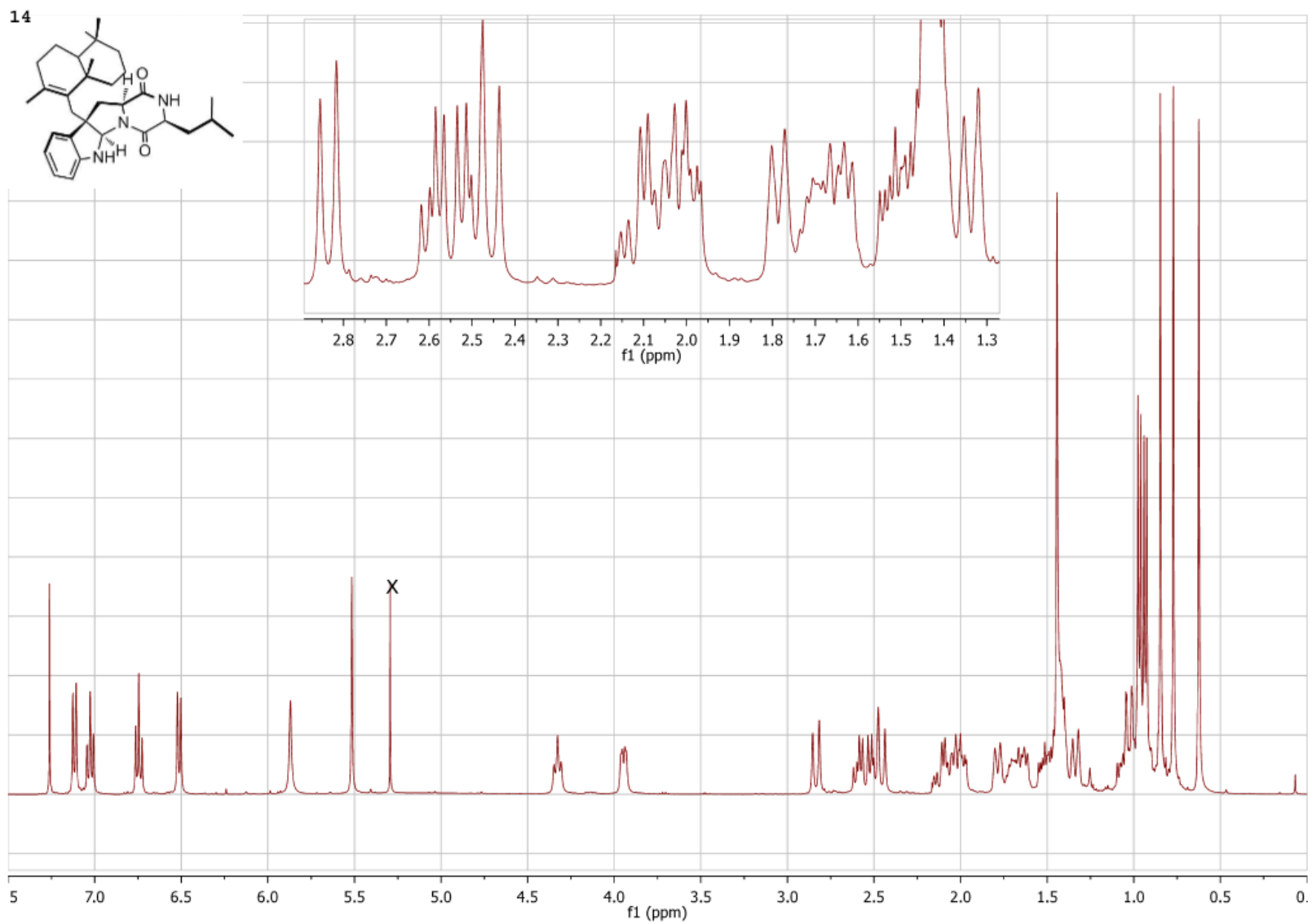
- Yellow foam
- HRMS (ESI-TOF) m/z $[M+H]^+$ 504.3584
- $[\alpha]_D^{20} = +184.2$ ($c = 0.19$ CH₂Cl₂)
- IR $\nu = 3340, 2930 - 2920, 2832, 1665 - 1649, 1600, 1454, 1211, 1150$ cm⁻¹

- ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) and ¹³C-NMR (100 MHz CDCl₃)

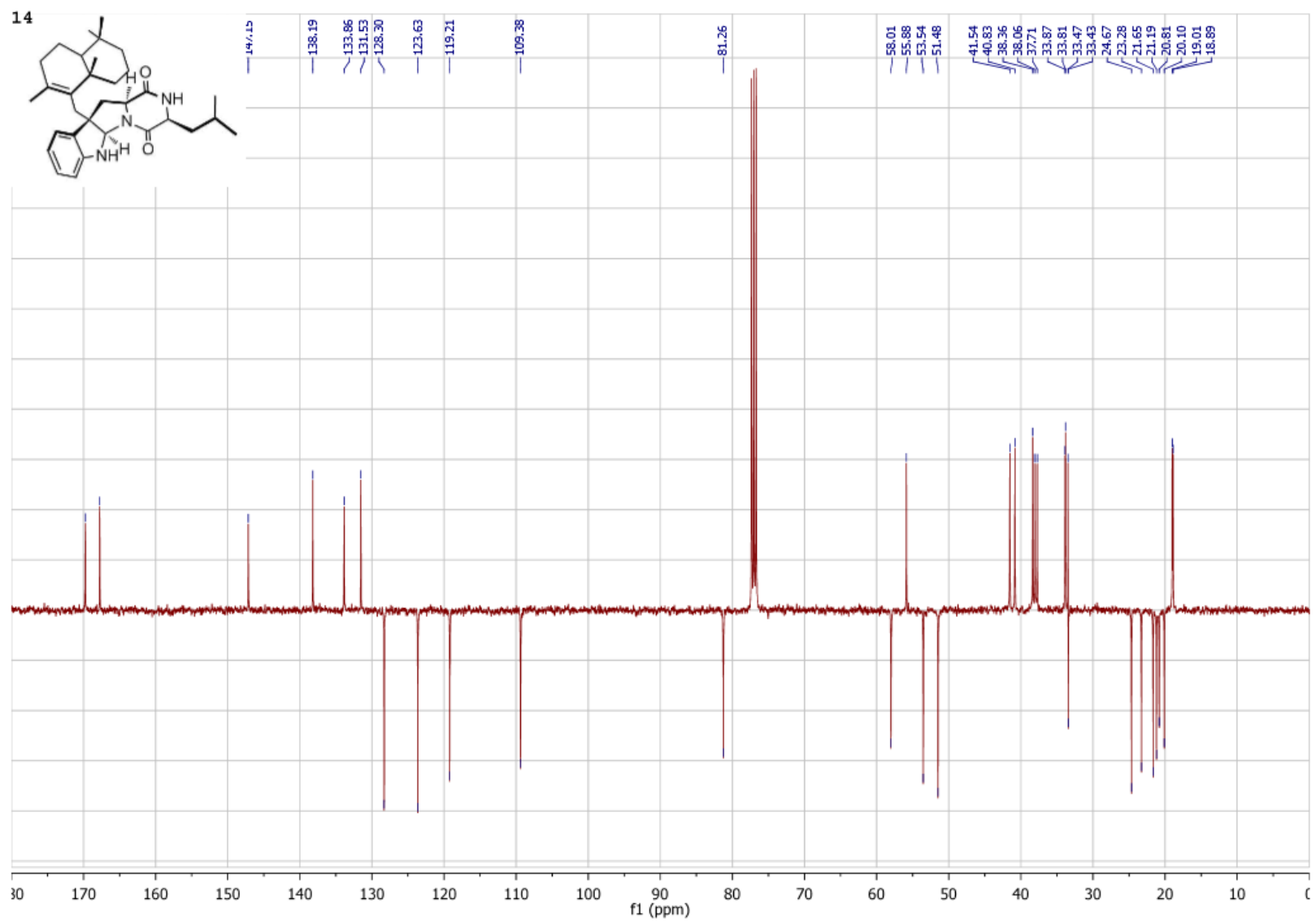
Assignment	¹ H δ (ppm)	multiplicity	<i>J</i> (HZ)	integration	¹³ C δ (ppm)
1					169.9
2	5.87	s			-
3	4.33	t	8.3	1H	58.2
4					167.9
5a	5.52	s		1H	81.4
6	1.78	d	12.5		
6a					147.3
7	6.51	d	7.7	1H	109.5
8	7.03	td	7.7 – 1.2	1H	128.5
9	6.72	t	7.4	1H	119.3
10	7.12	dd	7.5 – 1.2	1H	123.8
10a	-				134.0
10b	-				56.0
11	2.57	dd	13.1 – 8.1	1H	41.0
	2.49	dd	13.1 – 8.5	1H	
11a	3.93	dd	8.6 – 3.5	1H	53.7
1'	1.95	m		1H	37.8

	1.70	m		1H	
2'	1.40-1.50	m	or 6'	2H	19.0
3'	1.32	d	13.2	1H	41.7
	1.05	m		1H	
4'	-				34.0
5'	1.01	dd	12.9 – 2.3	1H	51.7
6'	1.60	m	or 2'	2H	19.2
7'	2.10	dd	18.0 –7.1	1H	33.61
	2.00	m		1H	
8'	-				138.3
9'	-				131.7
10'					38.2
11'	2.84	d	15.2	1H	33.9
	2.44	d	15.2	1H	
12'	1.42	s		3H	21.3
13'	0.85	s		3H	33.57
14'	0.77	s		3H	21.8
15'	0.63	s		3H	21.0
1"	1.42	m		1H	38.5
	1.10	m		1H	
2"	1.61	m		1H	20.2
3"	0.97	d	6.5	3H	24.8
4"	0.97	d	6.5	3H	23.4

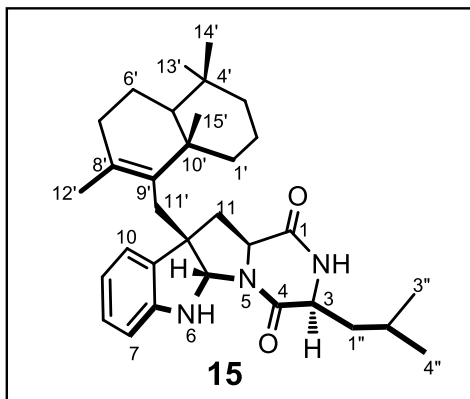
¹H NMR Spectrum (400 MHz, CDCl₃) of **14**



¹³C NMR Spectrum (100 MHz, CDCl₃) of **14**



(2S,3S)-Cyclo-leucinyl-(3-(driman-8-en-11-yl)-N,2-cyclo-2,3-dihydrotryptophyl): (15)



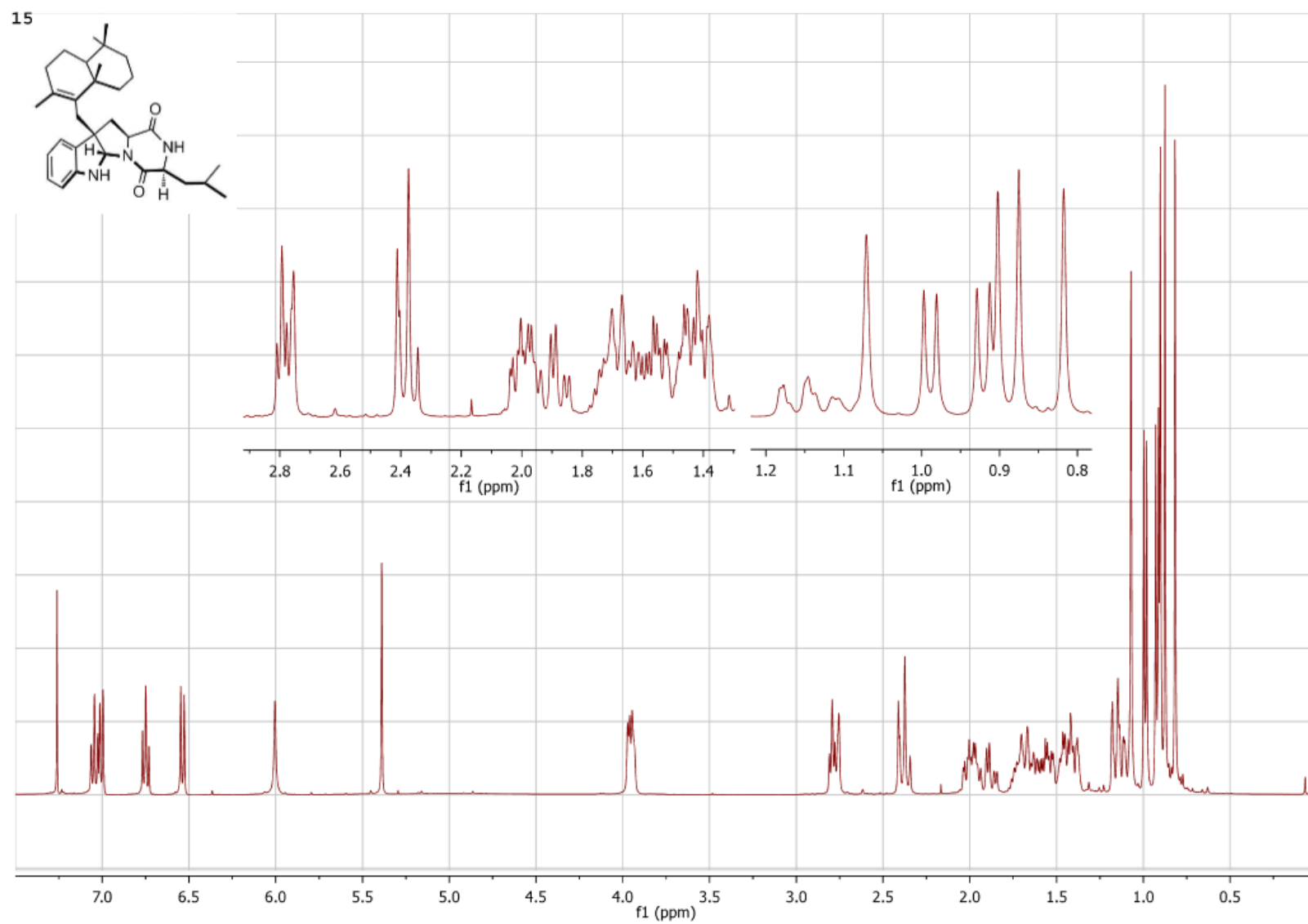
- Yellow foam
- HRMS (ESI-TOF) m/z $[M+H]^+$ 504.3584
- $[\alpha]_D^{20} = -161.4$ ($c = 0,22$ CH_2Cl_2)
- IR $\nu = 3340, 2945, 2923, 2830, 1677 - 1664, 1606, 1442, 1173$ cm^{-1}

- 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) and ^{13}C -NMR (100 MHz $CDCl_3$)

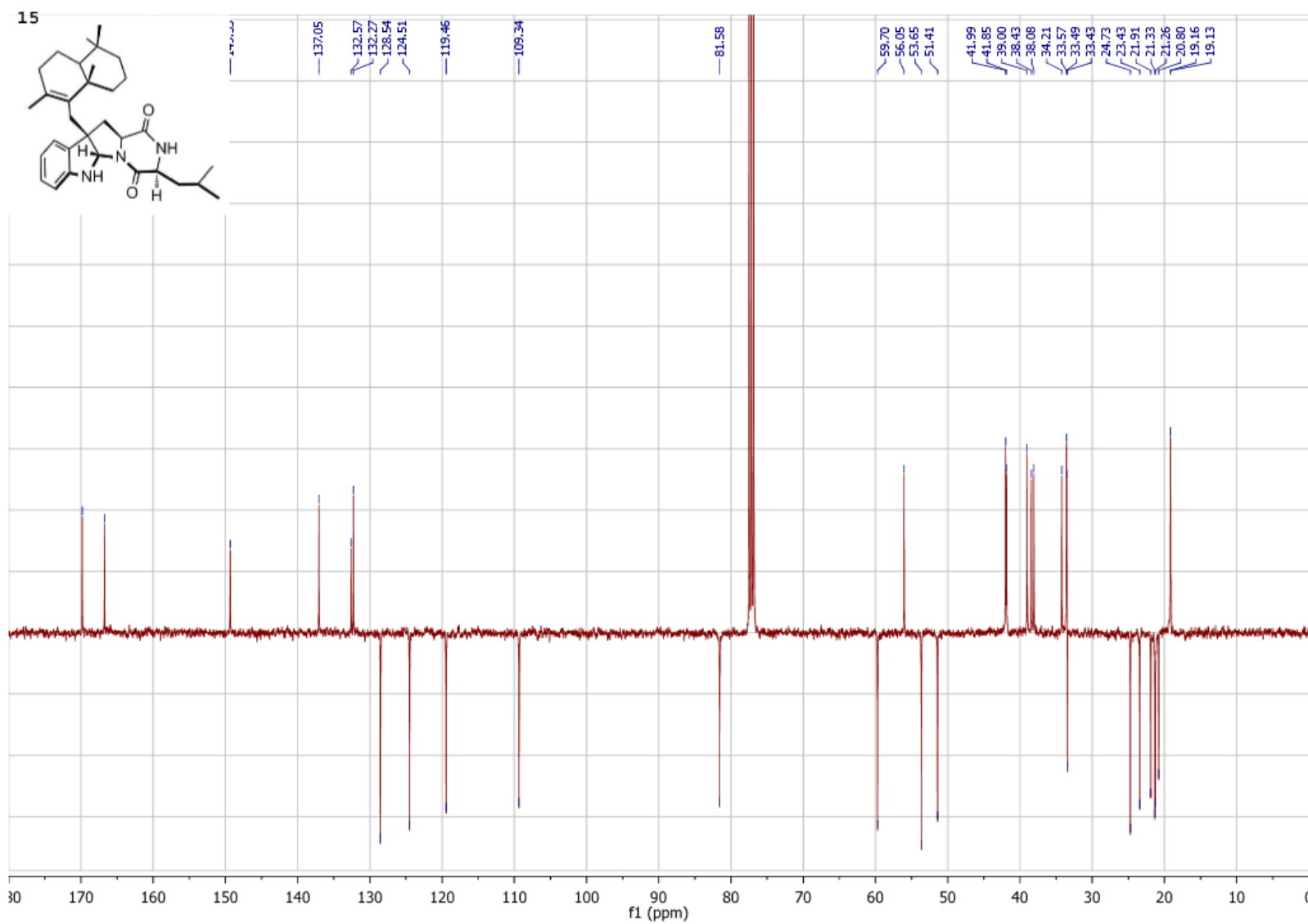
Assignment	1H δ (ppm)	multiplicity	J (HZ)	integration	^{13}C δ (ppm)
1	-				169.8
2	6.00				-
3	3.95	m^1		1H	53.7
4					166.7
5a	5.39	s		1H	81.6
6a					149.3
7	6.54	d	7.8	1H	109.4
8	7.04	td	7.6, 1.2		128.5
9	6.75	td	7.4, 1.0	1H	119.5
10	7.00	dd	7.6, 1.2		124.5
10a	-				132.6
10b	-				56.1
11 β	2.79	t	6.4	1H	42.0
11 α	2.38	t	12.3	1H	
11a	3.95	m^1		1H	59.7
1'	1.39	m	or 3'	1H	41.9
	1.14	m		1H	

2'	1.70-1.36	massif	or 6'		19.16
3'	1.70	m	or 1'		38.1
	1.11	m			
4'					33.5
5'	1.22	m		1H	51.4
6'	1.70-1.36	massif	or 2'		19.13
7'	2.00	m			33.6
	1.90	td	17.2 – 6.6		
8'	-				132,3
9'	-				137,1
10'					38.4
11'	2.76	d	3.4	1H	34.2
	2.39	d	15.0	1H	
12'	1.10	s		3H	20.8
13'	0.88	s		3H	21.26
14'	0.82	s		3H	21.9
15'	0.90	s		3H	33.4
1"	2.00	m		1H	39.0
	1.57	m		1H	
2"	1.73	m		1H	24.7
3"	0.99	d	6.5	3H	23.4
4"	0.92	d	6.5	3H	21.33

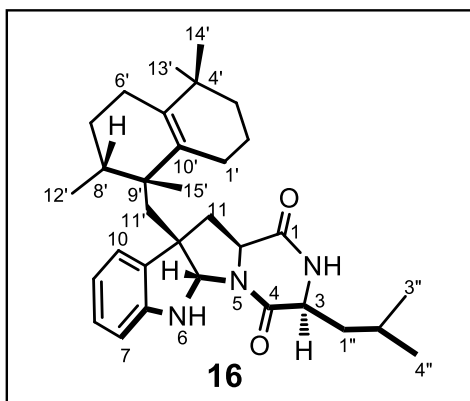
^1H NMR Spectrum (400 MHz, CDCl_3) of **15**



¹³C NMR Spectrum (100 MHz, CDCl₃) of **15**



(2*S*,3*S*)-Cyclo-leucinyl-(3-(8 β -9 β -15(10 \rightarrow 9)-abeodriman-5(10)-en-11-yl)-*N*,2-cyclo-2,3-dihydrotryptophyl): (16)



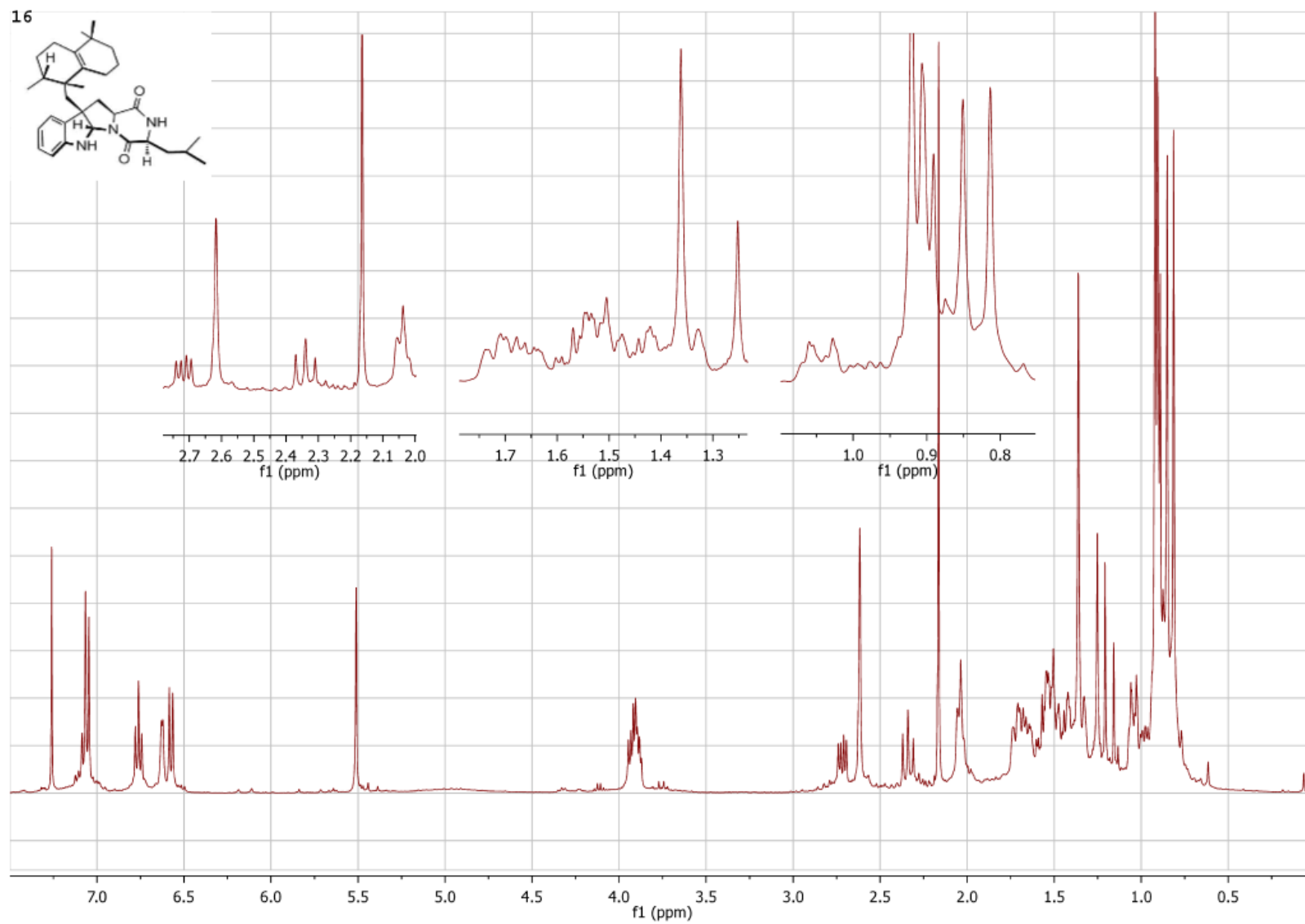
- Yellow foam
- HRMS (ESI-TOF) m/z $[M+H]^+$ 504.3585
- $[\alpha]_D^{20} = +145.8$ ($c = 0,22$ CH₂Cl₂)
- IR $\nu = 3345, 2950, 2925, 1680 - 1669, 1610, 1466, 1163$ cm⁻¹

- ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) and ¹³C-NMR (100 MHz CDCl₃)

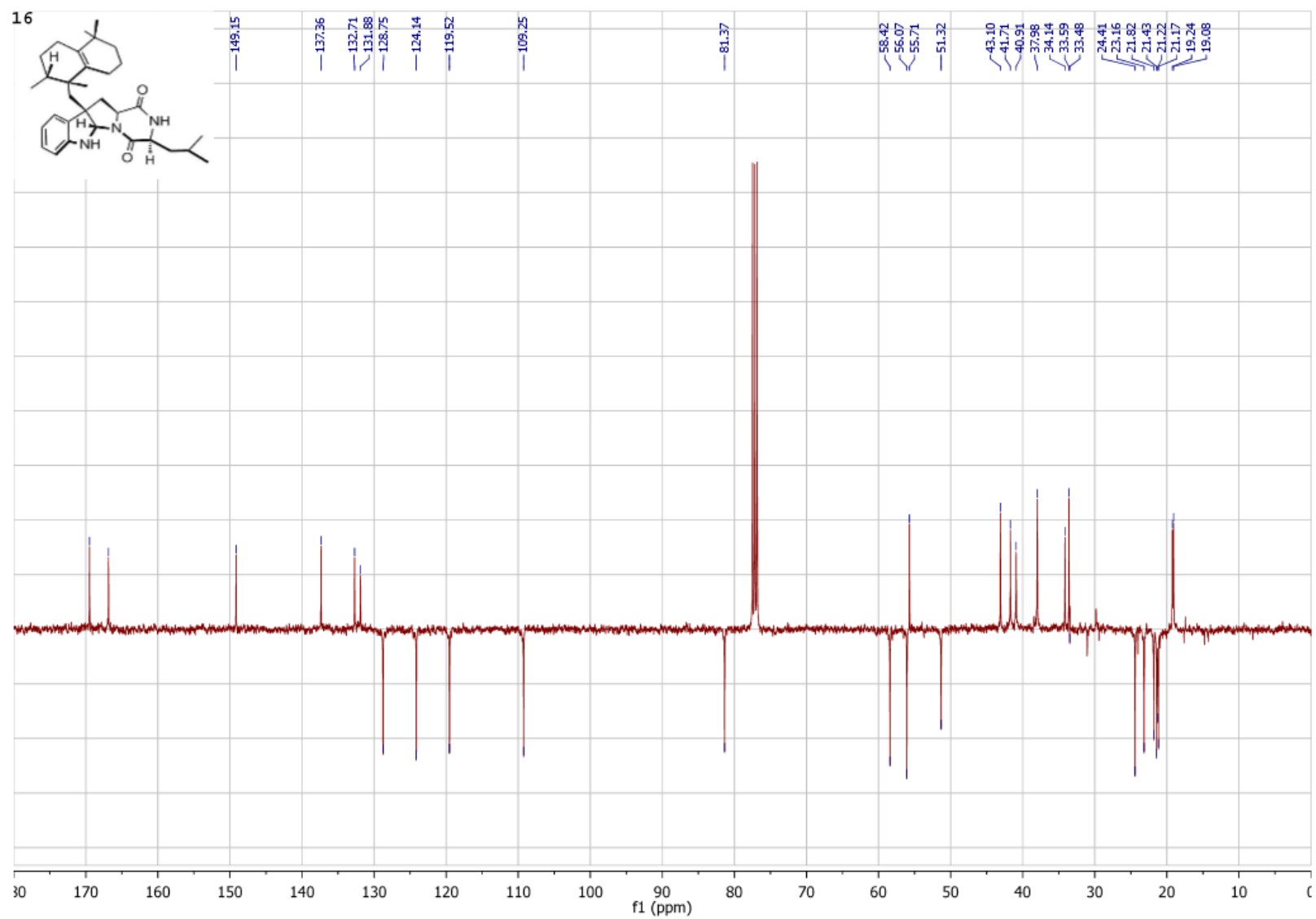
Assignment	¹ H δ (ppm)	integration	multiplicity	J (Hz)	¹³ C δ (ppm)
1	-				169.5
2	6.63	1	d	3.9	-
3	3.91	1	m		56.1
4	-				166.8
5a	5.51	1	s		81.4
6a	-				149.2
7	6.57	1	d	7.8	109.3
8	7.07	1	m		128.8
9	6.76	1	t	7.4	119.5
10	7.05	1	m		124.1
10a	-				132.7
10b	-				55.7
11 α	2.72	1	dd	12.3 – 6.0	40.9
11 β	2.34	1	t	12.3	
11a	3.91	1	m		58.4
1'	1.35	1	m		41.7
	1.04	1	m		

2'7'	1.70-1.35	2	m		19.2
	1.70-1.35				19.1
3'	1.72	2	m		38.0
4'	-				33.7
5'	-				131.8
6'	2.05				33.7
8'	1.05				51.3
9'	-				33.7
10'	-				137.4
11'	2.62	2	s		34.1
12'	0.92	3	m		21.2
13'	0.81	3	s		21.4
14'	0.85	3	s		33.6
15'	1.36	3	s		21.1
1"	1.50-1.60	2	m		43.1
2"	1.70	1	m		24.4
3"	0.90-0.91	3	m		23.2
4"	0.90-0.91	3	m		21.8

^1H NMR Spectrum (400 MHz, CDCl_3) of **16**



¹³C NMR Spectrum (100 MHz, CDCl₃) of **16**



4. Perspectives et limites des travaux sur la famille des drimentines.

4.1. Limites observées et conclusions.

Au cours de ces travaux, les méthodes classiques de la chimie organique ont été mises à profit pour obtenir les bromures **71** et **77**, l'iodeure **78** ainsi que le dipeptide cyclique **74** nécessaires à la synthèse de la drimentine A (**62**).²⁶

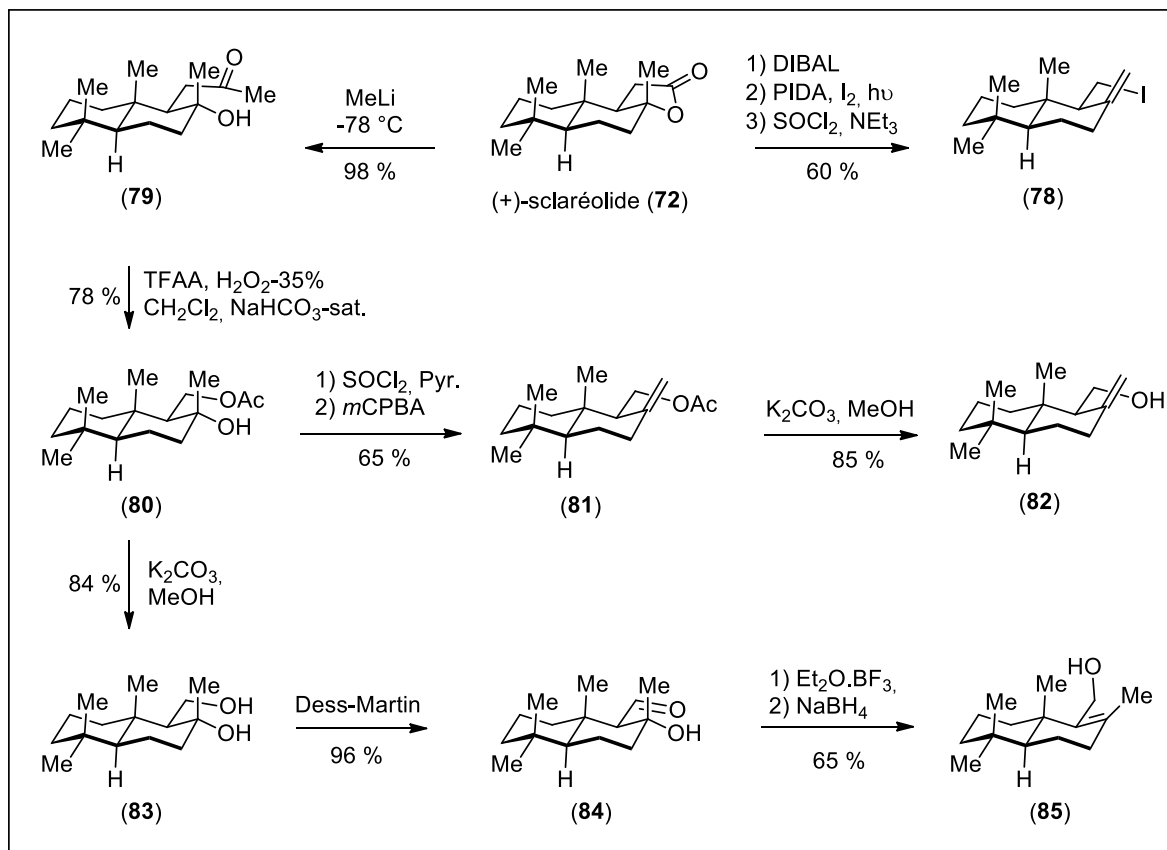


Schéma 19 : Accès synthétique aux décalines en C₁₅ souhaitées.

En effet, le sclaréolide (**72**) était un point de départ idéal pour la synthèse de la décaline puisque celui-ci possédait toutes les fonctionnalisations souhaitées. Après traitement au MeLi, la cétone **79** est obtenue et transformée en l'ester **80** par une réaction de Baeyer-Villiger (Schéma 19). La déshydratation de **80** conduit à **81**. La saponification de l'ester **81** libère l'alcool *homo*-allylique **82**. Malheureusement, ce dernier n'a pas pu être converti en bromure (**70**) pour servir d'électrophile dans la désaromatation ultérieure. Lorsque l'hydrolyse est réalisée directement sur l'ester **80**, c'est le diol **83** qui est formé. Son oxydation par le periodinane de Dess-Martin génère ensuite l'aldol **84**. Alors, la déshydratation de **84** se produit

²⁶ a) K. I. Kuchkova, Y. M. Chumakov, Y. A. Simonov, G. Bocelli, A. A. Panasencko and P. F. Vlad; *A Short Efficient Synthesis of 11-Monoacetate of Drimane-8 α ,11-diol from Norambreinolide*; *Synthesis* **1997**, 1997, 1045-1048. b) S. Poigny, T. Huor, M. Guyot and M. Samadi; *Synthesis of (-)-Hyatellaquinone and Revision of Absolute Configuration of Naturally Occurring (+)-Hyatellaquinone*; *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9318-9320. c) J. H. George, J. E. Baldwin and R. M. Adlington; *Enantiospecific, Biosynthetically Inspired Formal Total Synthesis of (+)-Liphagal*; *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2394-2397.

en faveur de la conjugaison de la double liaison et en accord avec la règle de Zaitsev pour donner **85** après réduction. Cet alcool allylique a été aisément converti en bromure désiré **77**.

Par ailleurs, un électrophile *homo*-allylique a finalement été obtenu sous la forme d'iodure (**78**) par une séquence de trois étapes reposant sur un clivage de Suarez.²⁷ Enfin, le bromure de farnésyle (**71**) a été très rapidement synthétisé à partir de l'acétate de farnésyle (**73**) par simple saponification suivie d'une bromation (Schéma 20). De même, la dicétopipérazine **74** a été obtenue en deux étapes à partir de **75** et **76** par couplage peptidique *via* le dipeptide (**86**).

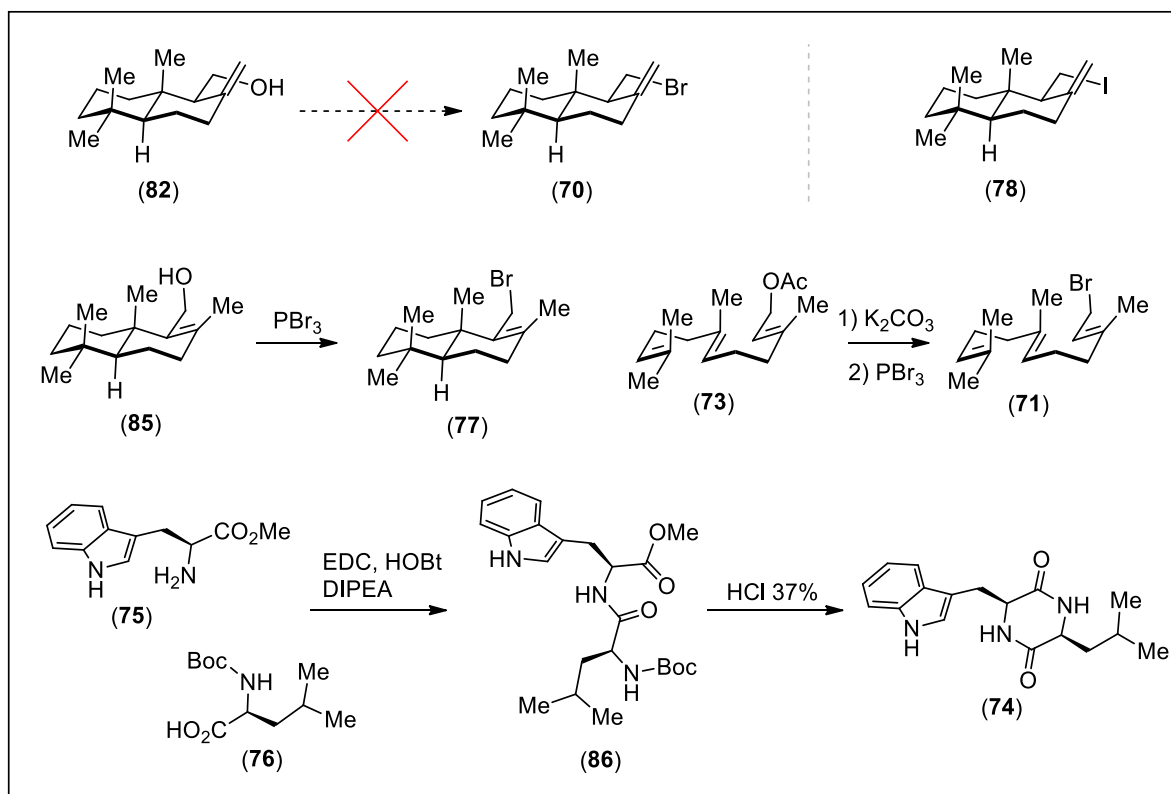


Schéma 20 : Synthèse des composés impliqués dans l'étape-clé.

Ayant à disposition l'ensemble des précurseurs requis, nous avons pu réaliser de nombreux essais de cascade décrits dans l'article joint ci-avant. Si cette stratégie n'a finalement pas permis de réaliser la synthèse totale des substances naturelle visées, l'étape-clé bio-inspirée a tout de même pu être mimée au laboratoire. La formation de l'intermédiaire indolyl-triéthylborate **87** a en effet permis de réaliser la désaromatisation souhaitée (Schéma 21).²⁸

²⁷ a) P. de Armas, R. Carrau, J. I. Concepción, C. G. Francisco, R. Hernández and E. Suárez; *Synthesis of 1,4-epimine compounds. Iodosobenzene diacetate, an efficient reagent for neutral nitrogen radical generation*; *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 2493-2496. b) A. Boto, R. Hernández, S. M. Velázquez, E. Suárez and T. Prangé; *Stereospecific Synthesis of 1,2-Dioxolanes by Alkoxy Radical β -Fragmentation of Steroidal Cyclic Peroxyhemiacetals*; *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 4697-4705.

²⁸ A. Lin, J. Yang and M. Hashim; *N-Indolyltriethylborate: A Useful Reagent for Synthesis of C3-Quaternary Indolenines*; *Org. Lett.* **2013**, 15, 1950-1953.

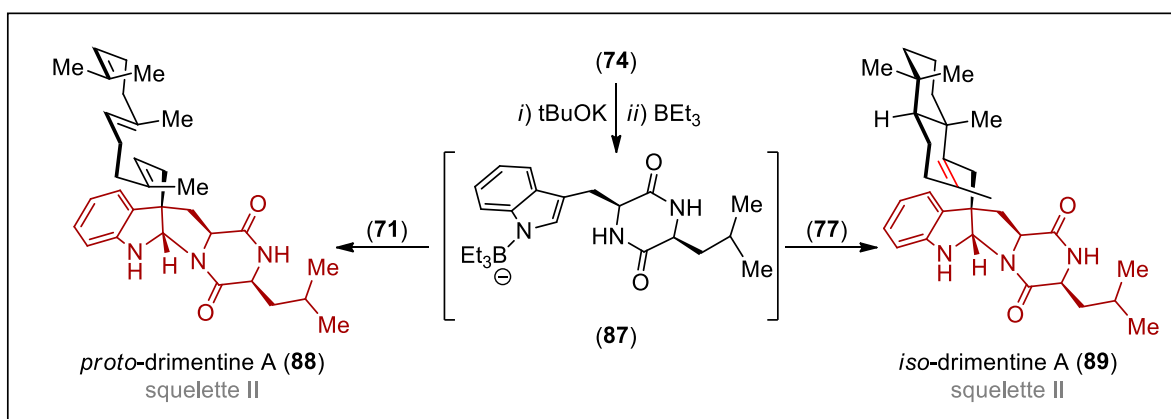


Schéma 21 : Réalisation de l'étape-clé biomimétique de la biosynthèse des drimentines.

De plus, la forme indolénine a dans tous les cas évoluée spontanément vers le squelette II des drimentines. Seule l'entrée des bromures allyliques **71** et **77** a été possible. Cela a abouti au composé déployé (**88**) pouvant être nommé *proto-drimentine A* ainsi qu'à l'*iso-drimentine A* (**89**). L'installation de l'*exo*-méthylène de la drimentine A (**62**) constitue la principale limite de ce travail. Par ailleurs, aucune des conditions testées pour la fermeture de **89** en drimentine D (**65**) n'a été fructueuse. Néanmoins, l'étape visée a bien été réalisée pour conduire en très peu d'étapes à des composés très proches des alcaloïdes de la famille.

4.2. Synthèse de Li.

Loin de toute considération biosynthétique, la première et seule synthèse totale des drimentines A (**62**), F (**67**) et G (**68**) ainsi que celle de l'indotertine A (**69**) a été réalisée par le groupe de Li.²⁹ Le cas précis de la drimentine A (**62**) permet de faire le parallèle entre ces synthèses totales et les travaux présentés ici.

Le parti pris du biomimétisme nous éloigne, par définition, de la voie de synthèse emprunté par Li. Cependant, la démarche proposée pour installer l'*exo*-méthylène de la drimentine A (**62**) est instructive. Elle montre que dans leur cas, le recours à l'accepteur de Michael **90** a permis de contourner le problème des halogénures *homo*-allyliques tels que **70** ou **78** rencontrés dans notre synthèse (Schéma 22). Par ailleurs, on note que le même composé de départ (le (+)-sclaréolide (**72**)) a été choisi pour cette synthèse. L'iodure *homo*-allylique **78** en est également un intermédiaire synthétique. Cela pourrait suggérer que le même problème a été rencontré dans le cas de Li et que le choix de l'accepteur de Michael (**90**) représente un réel contournement.

²⁹ Y. Sun, R. Li, W. Zhang and A. Li; *Total Synthesis of Indotertine A and Drimentines A, F, and G*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 9201-9204.

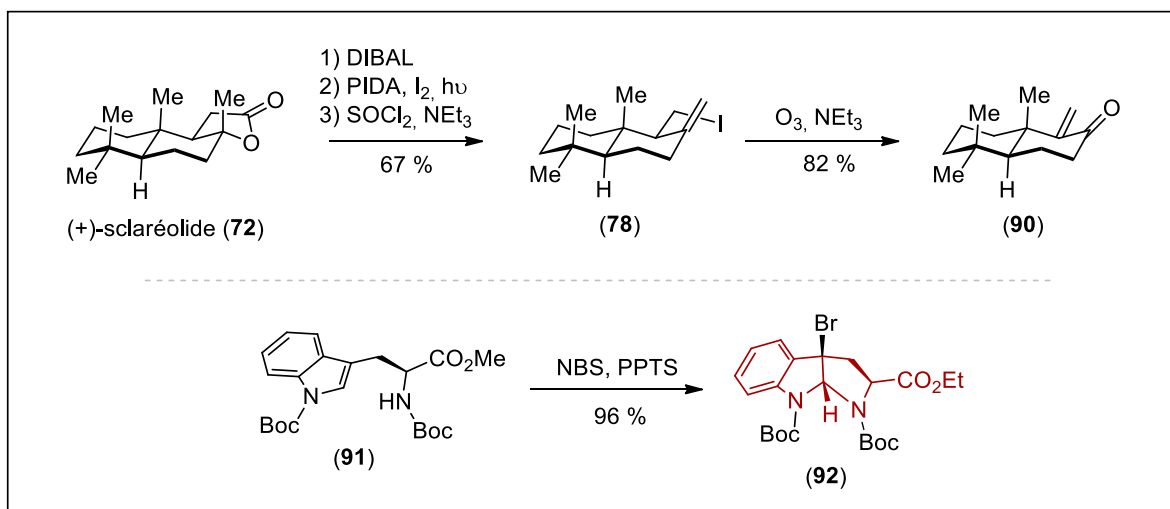


Schéma 22 : Intermédiaires clés de la synthèse de Li.

D'autre part, puisque la formation du dipeptide cyclique (**74**) n'est pas entreprise en début de séquence, la formation de la dicétopipérazine se fait alors en fin de synthèse. Outre ce détail, la construction du motif pyrrolo-indoline est faite par la bromo-cyclisation du dérivé protégé du L-tryptophane (**91**) pour donner **92**.

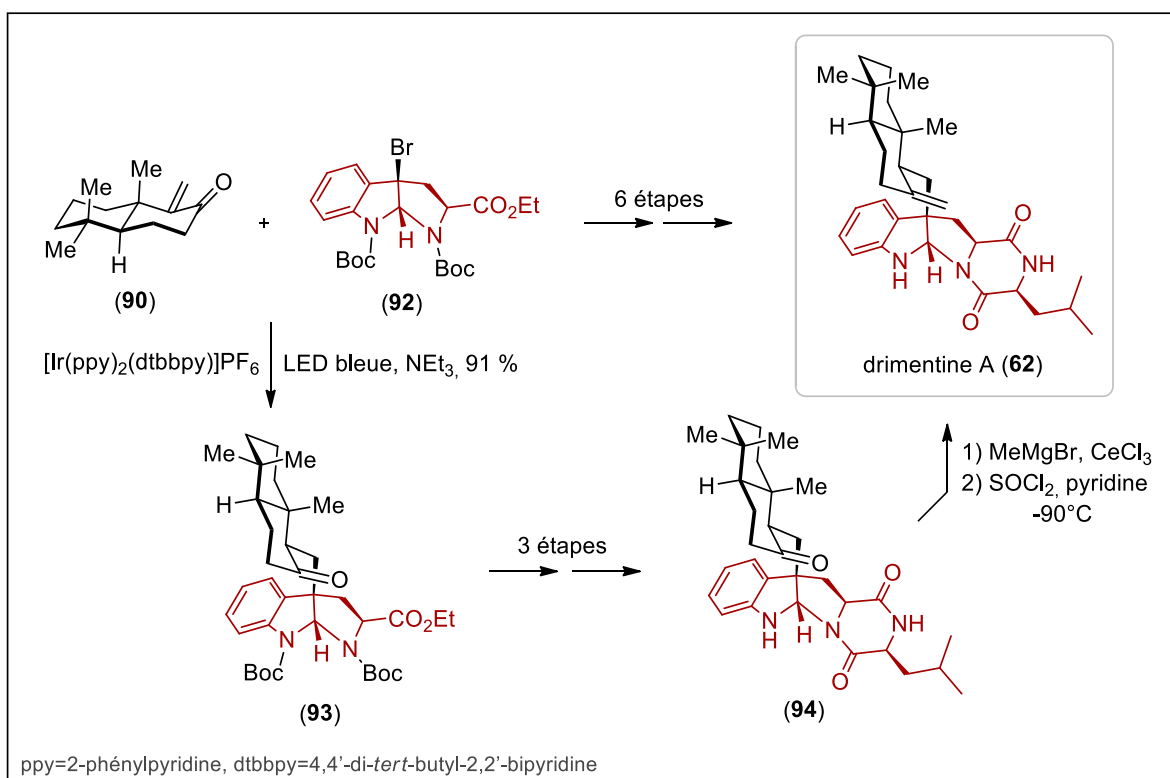


Schéma 23 : Finalisation de la synthèse de la drimentine A par Li.

De plus, c'est le couplage radicalaire (apporté par catalyse photo-redox) entre **90** et **92** qui pré-dessine le squelette des drimentines en générant **93**. Ensuite, après la fermeture de la partie dicétopipérazine (qui est quelque peu anecdotique) pour donner **94**, l'installation du groupement *exo*-méthylène est finalement réalisée (Schéma 23).

En raison de l'échec des méthodes classiques d'oléfination (comme celle de Julia, de Wittig ou encore de Tebbe par exemple), une addition de magnésien suivie d'une déshydratation (délicate là encore) a été utilisée par Li pour finaliser la synthèse de la drimentine A (**62**).

Références du chapitre 1 :

(23) A. D. Borthwick; *2,5-Diketopiperazines: Synthesis, Reactions, Medicinal Chemistry, and Bioactive Natural Products*; *Chem. Rev.* **2012**, 112, 3641-3716.

(24) E. Lacey, M. Power, Z. Wu, R. W. Rickards; Patent Int. Appl. **1998**, WO 9809968 A1, 19980312.

(25) Q. Che, T. Zhu, R. A. Keyzers, X. Liu, J. Li, Q. Gu and D. Li; *Polycyclic Hybrid Isoprenoids from a Reed Rhizosphere Soil Derived Streptomyces sp. CHQ-64*; *J. Nat. Prod.* **2013**, 76, 759-763.

(26) a) K. I. Kuchkova, Y. M. Chumakov, Y. A. Simonov, G. Bocelli, A. A. Panasenko and P. F. Vlad; *A Short Efficient Synthesis of 11-Monoacetate of Drimane-8 α ,11-diol from Norambreinolide*; *Synthesis* **1997**, 1997, 1045-1048. b) S. Poigny, T. Huor, M. Guyot and M. Samadi; *Synthesis of (-)-Hyatellaquinone and Revision of Absolute Configuration of Naturally Occurring (+)-Hyatellaquinone*; *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 9318-9320. c) J. H. George, J. E. Baldwin and R. M. Adlington; *Enantiospecific, Biosynthetically Inspired Formal Total Synthesis of (+)-Liphagal*; *Org. Lett.* **2010**, 12, 2394-2397.

(27) a) P. de Armas, R. Carrau, J. I. Concepción, C. G. Francisco, R. Hernández and E. Suárez; *Synthesis of 1,4-epimine compounds. Iodosobenzene diacetate, an efficient reagent for neutral nitrogen radical generation*; *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 2493-2496. b) A. Boto, R. Hernández, S. M. Velázquez, E. Suárez and T. Prangé; *Stereospecific Synthesis of 1,2-Dioxolanes by Alkoxy Radical β -Fragmentation of Steroidal Cyclic Peroxyhemiacetals*; *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 4697-4705.

(28) A. Lin, J. Yang and M. Hashim; *N-Indolyltriethylborate: A Useful Reagent for Synthesis of C3-Quaternary Indolenines*; *Org. Lett.* **2013**, 15, 1950-1953.

(29) Y. Sun, R. Li, W. Zhang and A. Li; *Total Synthesis of Indotertine A and Drimentines A, F, and G*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 9201-9204.

Chapitre 2 :

L'auto-assemblage de dimères :
source de diversité et complexité dans la
famille des aplysinopsines.

Chapitre 2 L'auto-assemblage de dimères : source de diversité et complexité dans la famille des aplysinopsines.

1. La dimérisation, une source de complexité dans la nature et une stratégie de synthèse biomimétique.

1.1. Substances naturelles dimériques et stratégies biomimétiques.

Certains processus à l'œuvre dans la nature agissent comme de véritables vecteurs facilitant la création de diversité et de complexité moléculaire. Parmi ceux-ci, la dimérisation de monomères semble avoir été sélectionnée comme un mécanisme évolutif pour son efficacité. En effet, on peut considérer la nature comme un système en changement permanent dans lequel la plasticité à l'échelle moléculaire est un événement élémentaire primordiale de l'évolution. Dans ce contexte, la dimérisation présente bien des avantages puisqu'elle permet de créer de nombreux métabolites complexes en exploitant uniquement des substances préexistantes. D'un point de vue biologique, cela implique un coût métabolique minime. De plus, aucune modification enzymatique ou génétique n'est nécessaire lorsque la dimérisation en question se fait avec une grande part de spontanéité, précipitée par la réactivité intrinsèque des précurseurs.

La dimérisation est une stratégie de synthèse bio-inspirée prisée.³⁰ Plusieurs cas sont détaillés ici et ont été sélectionnés en raison du haut degré de spontanéité des transformations dont ils sont issus.

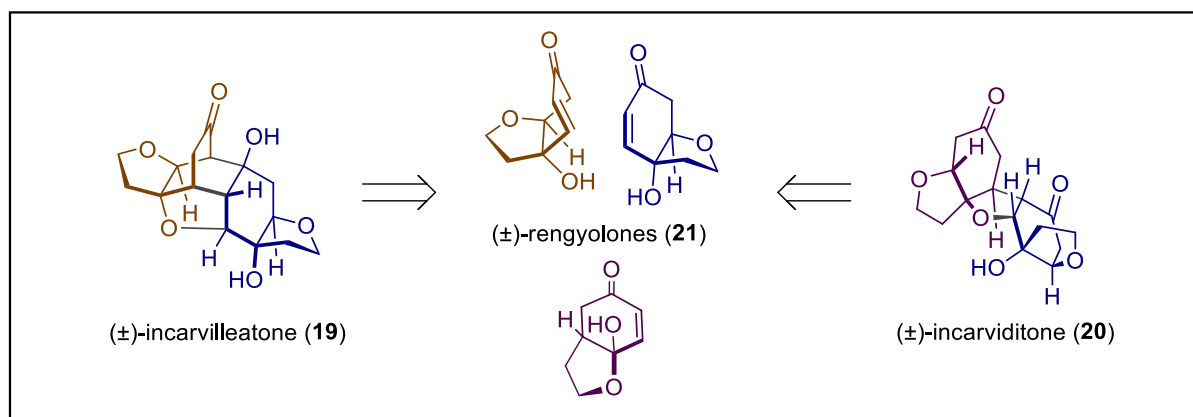


Figure 10 : Identification des unités monomériques de **19** et **20**.

Certaines substances naturelles présentées plus tôt sont également des exemples de métabolites complexes provenant de la dimérisation de précurseurs simples. On peut citer l'incarvilleatone (**19**) et l'incarviditone (**20**) qui résultent de la condensation de deux unités rengyolone (**21**) par une cascade de réaction de Michael et d'aldol (Figure 10). L'incargranine

³⁰ a) T. Wezeman, K.-S. Masters and S. Bräse; *Double Trouble-The Art of Synthesis of Chiral Dimeric Natural Products*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 4524-4526. b) A. S. Paul, S. Christian, C. M. Jonathan, S. B. Andrew, S. Pallavi and E. M. John; *Biomimetic Approaches Towards The Synthesis of Complex Dimeric Natural Products*; *Curr. Pharm. Des.* **2016**, 22.

B (**28**), la psylloborine A (**41**) et la lomaïvitine B (**42**) font également parties de ce groupe des dimères (Figure 11).

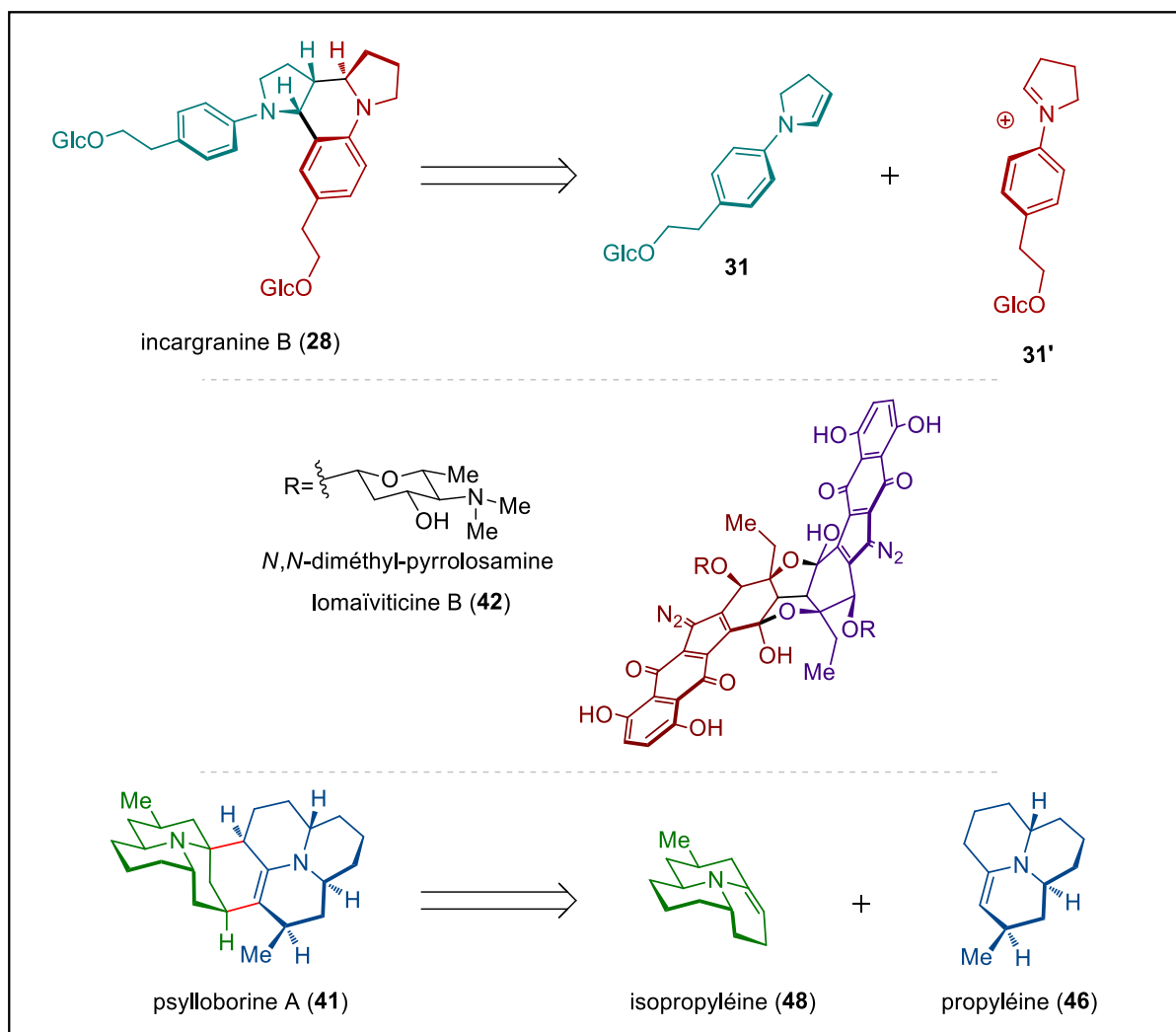


Figure 11 : Structures dimériques évoquées dans l'introduction.

Pour montrer à quel point la complexité peut émerger spontanément de composés simples, seuls les cas d'homodimérisations biomimétiques ont été retenus ici lorsqu'ils occasionnent l'auto-construction de congénères de second ordre. De plus, la génération de dimères achiraux, racémiques ou encore scalémiques témoigne du faible contrôle enzymatique exercé sur leurs biosynthèses. Celles-ci reposeraient alors quasi-exclusivement sur la réactivité chimique des précurseurs supposés.

Tous ces critères se retrouvent chez la dibéfurine (**95**). Ce métabolite fongique présente en effet un centre de symétrie qui le rend achiral par essence. Alors même que l'architecture pentacyclique de ce dimère est dense, elle résulterait de l'assemblage de deux unités épilococcine (**96**) très simples de type pyrrogallol. L'oxydation du motif *ortho*-diphénol présent sur **96** conduirait à l'*ortho*-quinone **97**. Le groupe de Trauner montra qu'une double réaction d'aldol vinylogue intermoléculaire entre deux molécules identiques était ensuite envisageable. Ils parvinrent d'ailleurs à réaliser cette synthèse biomimétique sans aucun

contrôle extérieur en utilisant du rouge de Prusse (l'hexacyanoferrate (III) de potassium) comme oxydant (Schéma 24). La dibéfurine (**95**) et son centre de symétrie ont permis de montrer que toute l'information chimique nécessaire à sa formation était contenue dans l'épicoccine (**96**). Cette substance rappelle la réactivité des polyphénols qui sont bien connus pour les couplages oxydants qu'ils peuvent engendrer.

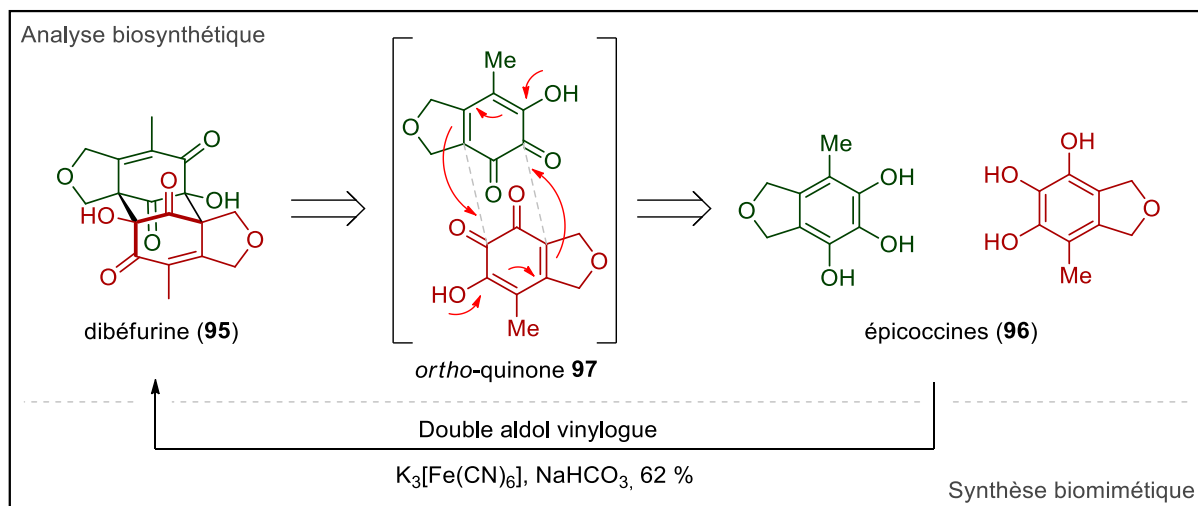


Schéma 24 : Analyse biosynthétique et synthèse biomimétique de la dibéfurine (**95**).

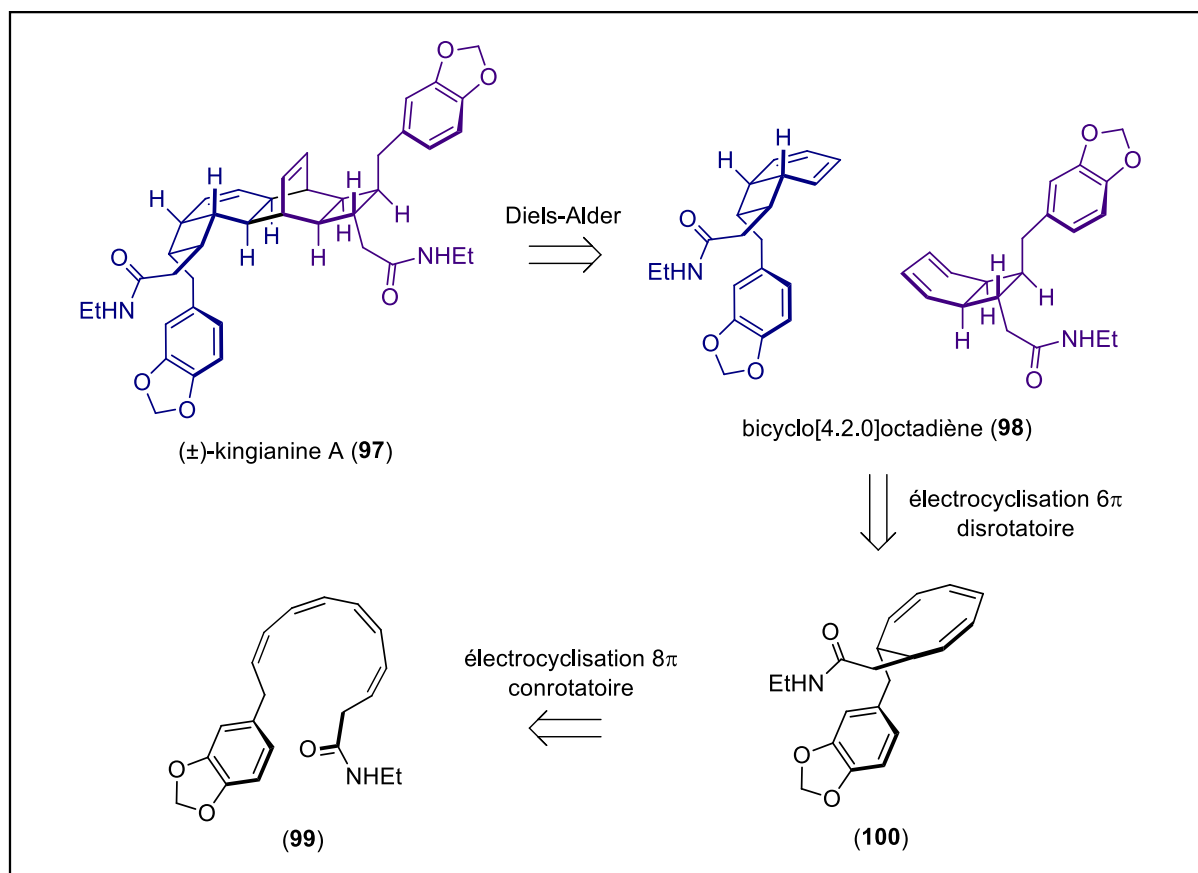


Schéma 25 : Hypothèse de biogenèse de la kingianine A (**97**).

Les kingianines ont été isolées de l'écorce d'*Endiandra kingiana* par le groupe de Litaudon en 2010.³¹ Parmi ces substances naturelles racémiques, la kingianine A (**97**) a été la première décrite. Là encore, l'assemblage de deux unités identiques semble être à l'origine de sa biogenèse. Dans ce cas précis, c'est le couplage homochiral du précurseur bicyclo[4.2.0]octadiène **98** sur lui-même par une réaction de Diels-Alder qui explique sa génération (Schéma 25). Enfin, le composé tétraénique déployé **99** pourrait conduire à **98** par une double électrocyclisation. D'abord, 8 π conrotatoire donnant **100** puis, 6 π disrotatoire.

C'est précisément en raison de ce postulat biosynthétique que Sherburn et Lawrence se lancèrent dans la synthèse de la kingianine A (**97**).³² Après avoir obtenu le tétrayne **101**, ils ont cherché à observer la cascade biogénétique exposée ci-avant. Et effectivement, après la réduction du tétrayne **101** en **102**, le tétraène correspondant : les produits d'électrocyclisation espérés (**103**) et (**104**) ont été obtenus par simple chauffage suivi de la déprotection de l'alcool primaire (Schéma 26). Au cours d'une séquence permettant d'installer l'amide final, l'étape-clé de dimérisation

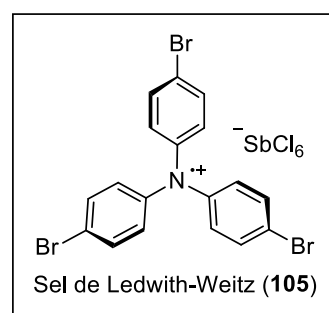


Figure 12 : Représentation du sel de Ledwith-Weitz.

a ensuite été réalisée *via* une réaction de Diels-Alder. Cette réaction est médiée par des cations radicalaires et c'est le recours au sel de Ledwith-Weitz (**105**) qui a permis de générer ces intermédiaires (Figure 12). L'hypothèse formulée a permis d'obtenir la kingianine A (**97**) désirée par l'appariement homochiral de **103**. La même réactivité, dépourvue de tout contrôle, et c'est cette simplicité qui fait la sophistication de ces synthèses, a également conduit à la kingianine D (**106**) par appariement hétérochiral de **103** ainsi qu'à la kingianine F (**107**) par couplage homochiral de **104**.

La force de ce type de stratégie ne réside donc pas dans la sélectivité des processus. Au contraire, elles miment au mieux la création de diversité observée dans la nature dans des cas bien particuliers de libre expression de réactivité chimique. Alors, les synthèses biomimétiques peuvent fournir des groupes entiers de substances naturelles et démontrent la pertinence des hypothèses biosynthétiques proposées, bien que celles-ci ne fasse pas intervenir des voies enzymatiques classiques.

³¹ a) A. Leverrier, M. E. T. H. Dau, P. Retailleau, K. Awang, F. Guéritte and M. Litaudon; *Kingianin A: A New Natural Pentacyclic Compound from Endiandra kingiana*; *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3638-3641. b) A. Leverrier, K. Awang, F. Guéritte and M. Litaudon; *Pentacyclic polyketides from Endiandra kingiana as inhibitors of the Bcl-xL/Bak interaction*; *Phytochemistry* **2011**, *72*, 1443-1452.

³² S. L. Drew, A. L. Lawrence and M. S. Sherburn; *Total Synthesis of Kingianins A, D, and F*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 4221-4224.

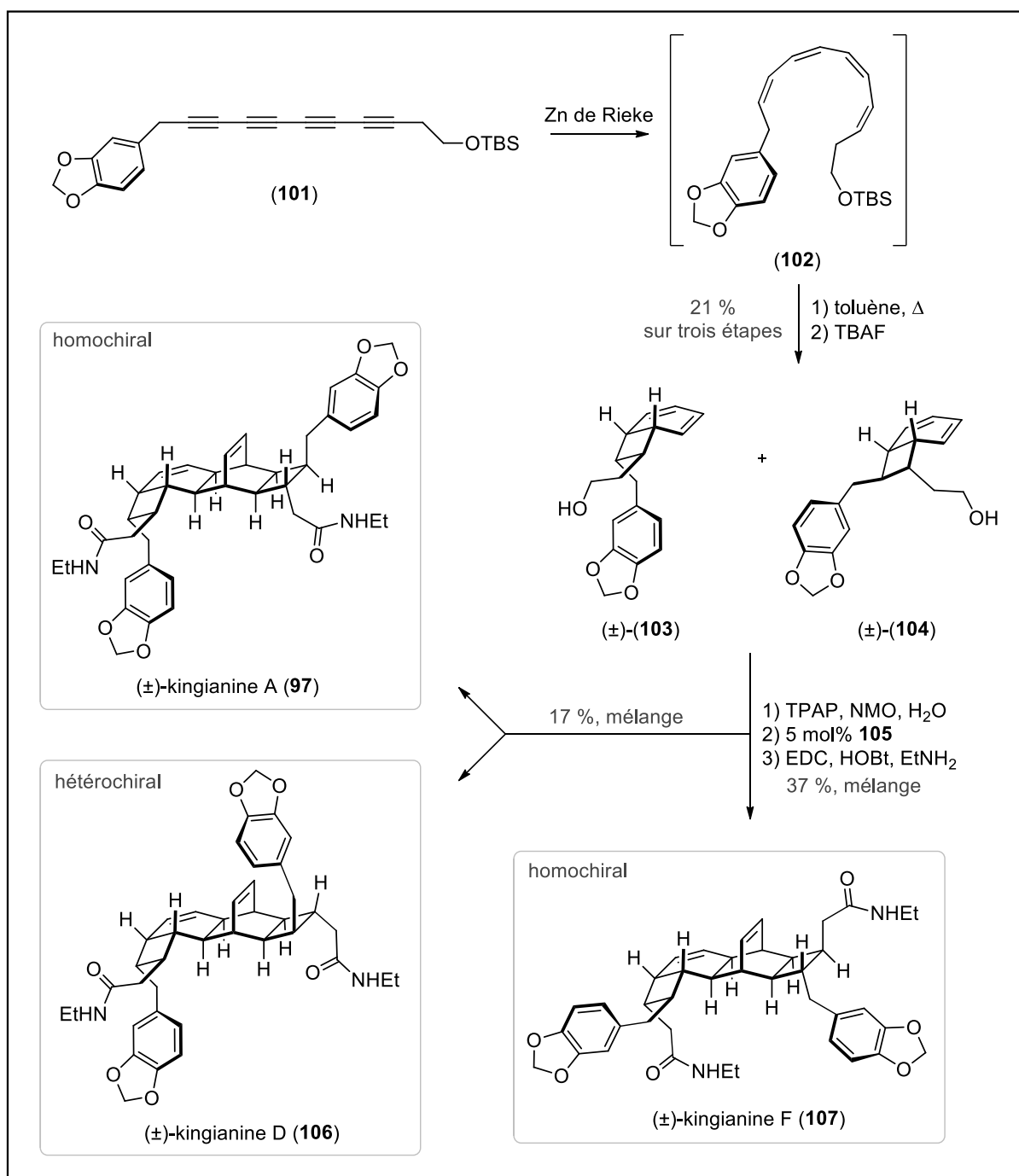


Schéma 26 : Synthèse biomimétique des kingianines A, D et F par Sherburn et Lawrence.

Le dernier exemple choisi est celui des ramonanines A à D (**108-111**). Ces substances ont été isolées du bois de cœur de *Guaicum officinale* par le groupe de Schroeder en 2011.³³ Les espèces *Guaicum officinale* et *Guaicum sanctum* sont connues pour donner un bois très dense et très dur nommé communément gaïac ou *lignum vitae*. La résine issue de ce "bois de vie" est traditionnellement utilisée depuis plusieurs siècles pour différentes applications médicales. D'autre part, historiquement utilisée comme test colorimétrique de

³³ K. J. Chavez, X. Feng, J. A. Flanders, E. Rodriguez and F. C. Schroeder; *Spirocyclic Lignans from Guaicum (Zygophyllaceae) Induce Apoptosis in Human Breast Cancer Cell Lines*; *J. Nat. Prod.* **2011**, 74, 1293-1297.

présence d'oxydases ou de peroxydases,³⁴ cette résine contient l'acide gaïaconique (**112**) qui s'oxyde en bleu de gaïac (**113**) en conditions oxydantes (Figure 13).³⁵ Ces espèces, victimes de leur succès, sont désormais protégées par la convention CITES (Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction).

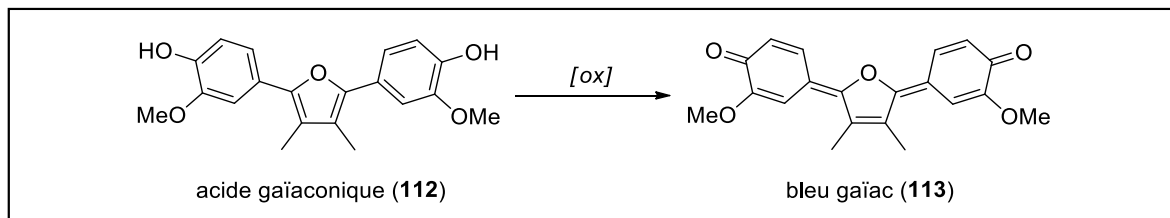


Figure 13 : Structures des monomères emblématiques du genre *Guaiacum*.

Les ramonanines A à D (**108-111**) (Figure 14) sont des dimères formels de l'acide gaïaconique (**112**) et peuvent également être considérées comme des tétramères d'unités phénylpropane (C_6C_3) telles que l'alcool coniférylique (**114**).

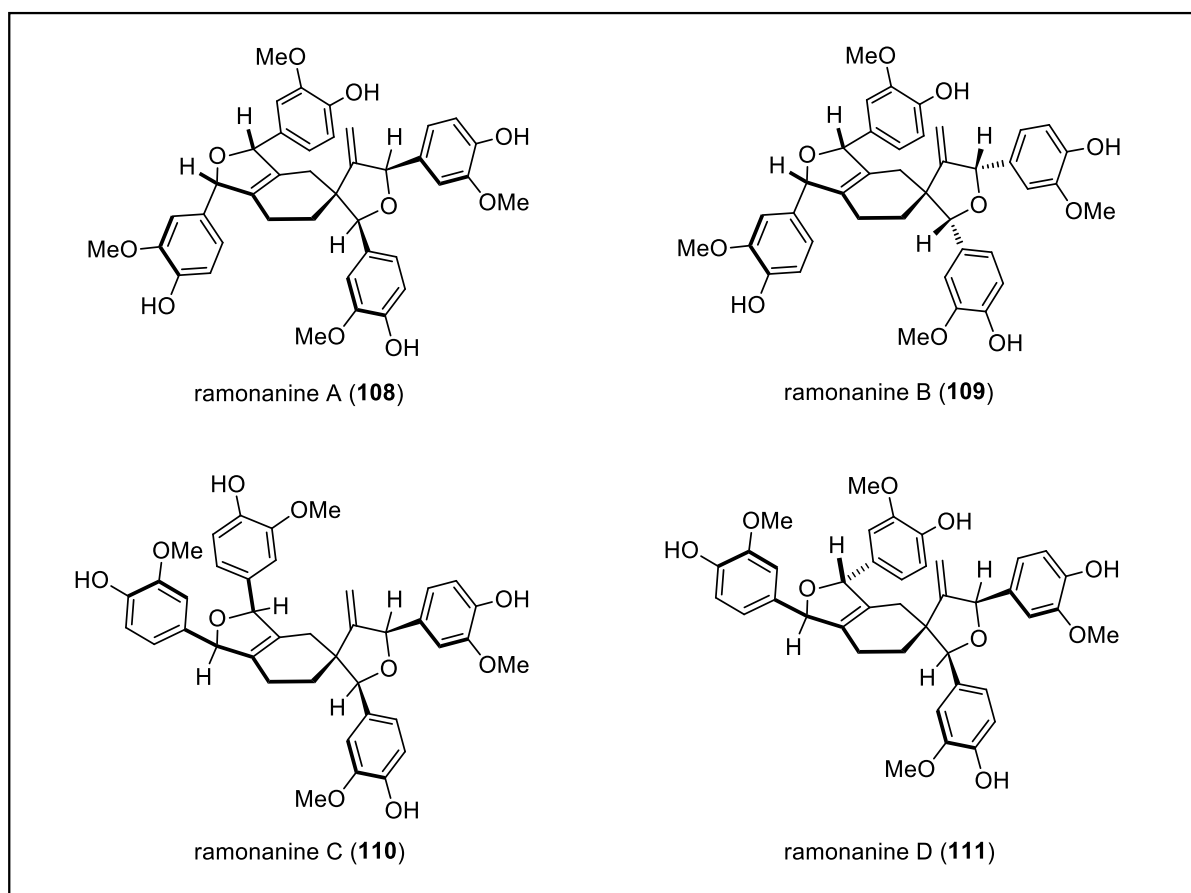


Figure 14 : Structures des ramonanines A à D.

³⁴ M. K. Nobles; *A rapid test for extracellular oxydase in cultures of wood-inhabiting Hymenomycetes*; *Can. J. Bot.* **1958**, 36, 91-99.

³⁵ Tel que rapporté dans : J. F. Kratochvil, R. H. Burris, M. K. Seikel and J. M. Harkin; *Isolation and characterization of α -guaiaconic acid and the nature of guaiacum blue*; *Phytochemistry* **1971**, 10, 2529-2531.

C'est ce statut biosynthétique qui en fait des cibles synthétiques de choix. De plus, leur squelette spiranique singulier serait formé par auto-condensation du lignane **115** via une réaction de Diels-Alder (Schéma 27).

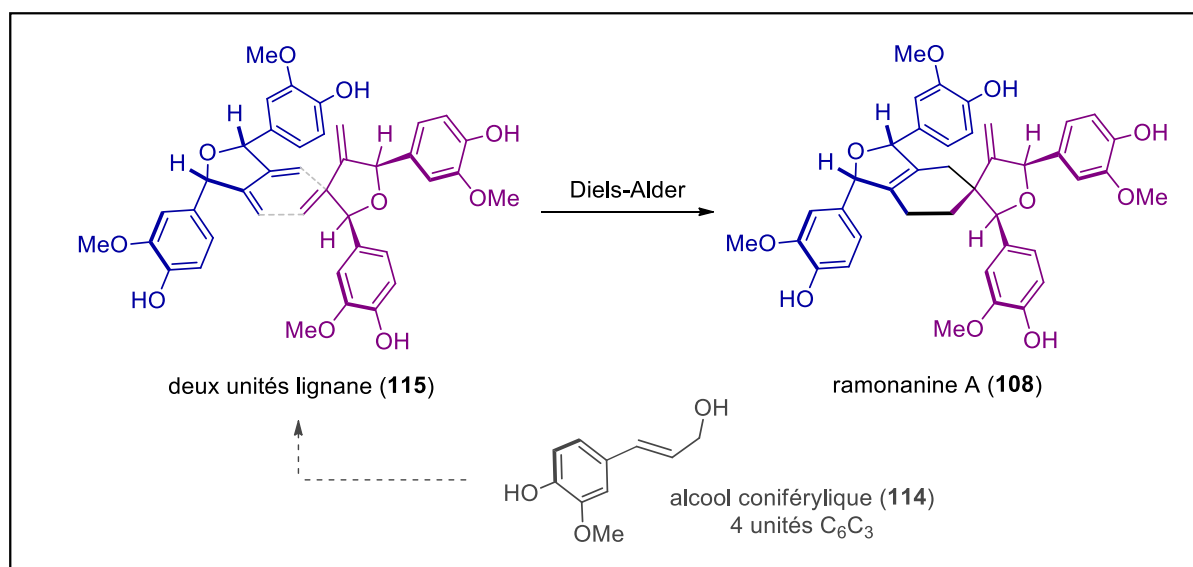


Schéma 27 : Postulat biosynthétiques [4+2].

L'analyse biosynthétique montre encore une fois qu'une dimérisation est responsable de la formation de ces composés. De plus, si on observe avec attention les structures des ramonanines, on se rend compte qu'il s'agit de diastéréoisomères. Cela a de nouveau justifié la stratégie biomimétique de Sherburn et Lawrence. Ils réalisèrent la synthèse du monomère requis **115** à partir de la vanilline (**116**) en six étapes. La forme *cis* de ce composé **115**, prédisposé pour subir des Diels-Alder en conditions thermiques, évolue vers un mélange 54:9:37 des ramonanines A (**108**), B (**109**) et C (**110**) respectivement par simple chauffage à 50°C dans le DMF (Schéma 28). Le précurseur **115** est achiral. Cette hypothèse biogénétique, couplée à la ré-investigation des échantillons naturels, a donc permis de montrer que les ramonanines étaient racémiques, comme attendu. Enfin, la mise en présence des deux forme *cis* et *trans* de **115** mène à la ramonanine D (**111**), la dernière de la série.

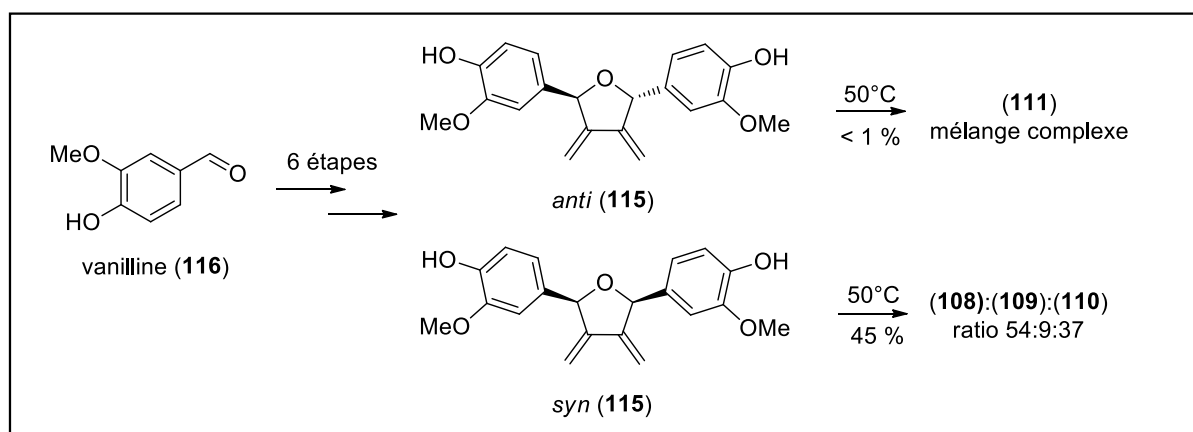


Schéma 28 : Résumé de la synthèse biomimétique des ramonanines.

Cette série introductive sur la dimérisation de métabolites secondaires permet de montrer l'importance que peut prendre ce processus dans la biogenèse de certains groupes de substances naturelles et donc dans les synthèses biomimétiques de ces mêmes molécules.

1.2. Présentation de la famille des aplysinopsines.

Les alcaloïdes indoliques marins qui constituent la famille des aplysinopsines ont été isolés de diverses éponges, de coraux à exosquelette ainsi que d'une anémone de mer. Les éponges considérées appartiennent aux genres *Thorecta* et *Smenospongia*. Pour ce qui est des coraux, ce sont les genres *Tubastrea* et *Dendrophylla* qui sont impliqués. Enfin, l'anémone qui produit certains de ces alcaloïdes appartient au genre *Heteractis*.

Squelette I : Plus d'une vingtaine de composés dérivés de l'aplysinopsine (**117**) sont connus à ce jour. Au sein des organismes dont ils sont issus, ils sont les métabolites spécialisés largement majoritaires. Parmi les variations structurales mineures de la série, on peut citer la présence ou non d'un atome de brome, le nombre de méthyles portés par le noyau créatinine ou encore la présence d'un motif hydantoïne à la place de la créatinine précitée. Pour illustrer ces propos, la bromo-aplysinopsine (**118**), la 2'-déméthylaplysinopsine (**119**) et la 3'-déimino-3'-oxoaplysinopsine (**120**) sont représentés (Figure 15).

Squelettes II et III : Au-delà de ce premier groupe de molécules, deux autres squelettes bien plus complexes coexistent au sein de la famille des aplysinopsines. Le premier est celui des cycloaplysinopsines A à C (**121-123**), des dictazolines A à E (**124-128**) et des tubastrindoles A à H (**129-136**). Ce dernier est construit autour d'un noyau tétrahydrocarbazole et présente deux carbones spiraniques. Le second ne réunit que deux alcaloïdes : les dictazoles A (**137**) et B (**138**).³⁶ Ceux-ci sont des cyclobutanes *bis*-spiraniques, *bis*-indoliques densément fonctionnalisés. La présence de deux indoles et de deux carbones "spiros" ne sont pas les seuls points communs entre ces deux sous-groupes d'alcaloïdes polycycliques. En effet, ces caractéristiques structurales ne sont en fait que la conséquence d'une parenté biogénétique évidente.

³⁶ a) Première description de l'aplysinopsine (**117**) : R. Kazlauskas, P. T. Murphy, R. J. Quinn and R. J. Wells *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 61-64. b) Description des cycloaplysinopsines A (**121**) et B (**122**) : I. Mancini, G. Guella, H. Zibrowius, F. Pietra, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8757–8762. c) Description de la cycloaplysinopsine C (**123**) : M. Meyer, F. Delberghe, F. Liron, M. Guillaume, A. Valentin, M. Guyot, *Nat. Prod. Res.* **2009**, *23*, 178–182. d) Description des tubastrindoles A-C (**129-131**) : T. Isagawa, M. Miyazaki, H. Okamura, M. Nakatani, M. Doe, K. Takemura, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2533–2535. e) Description des tubastrindoles D-H (**132-136**) : T. Isagawa, M. Miyazaki, Y. Yokogawa, H. Okamura, M. Nakatani, M. Doe, Y. Morimoto, K. Takemura, *Heterocycles* **2008**, *75*, 2023–2028. f) Pour le tubastrindole B (**130**), voir aussi: W. Balansa, R. Islam, D. F. Gilbert, F. Fontaine, X. Xiao, H. Zhang, A. M. Piggott, J. W. Lynch, R. J. Capon, *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 4420–4425. g) Description des dictazolines A (**124**) and B (**125**) : J. Dai, J. I. Jiménez, M. Kelly, S. Barnes, P. Lorenzo, P. G. Williams, *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 1287–1290. h) Description des dictazolines C-E (**126-128**) ainsi que les dictazoles A (**137**) et B (**138**) : J. Dai, J. I. Jiménez, M. Kelly, P. G. Williams, *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 2399–2402.

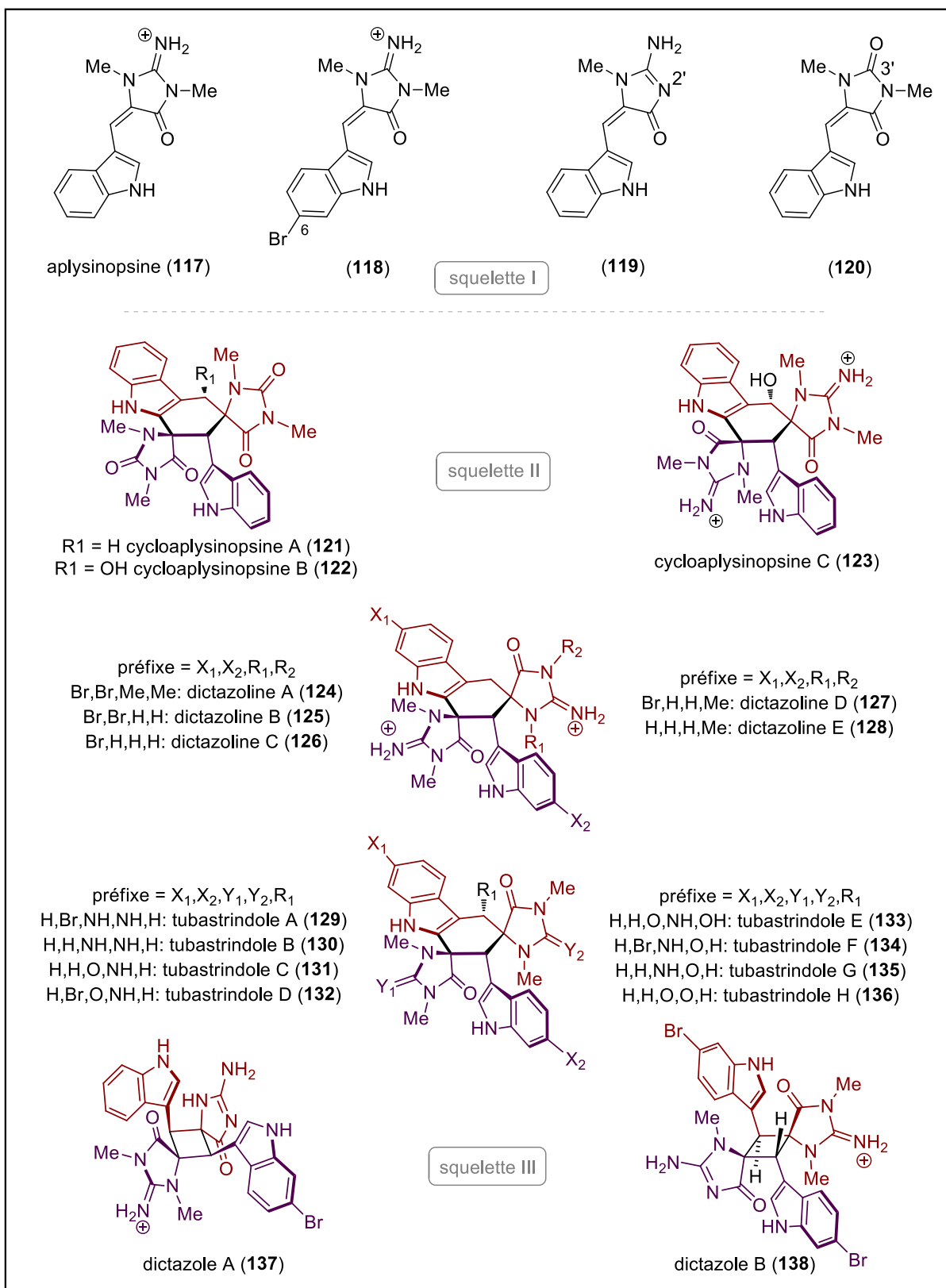


Figure 15 : Présentation des alcaloïdes de la famille des aplysinopsines.

Toutes ces substances résulteraient de la dimérisation de deux unités de type aplysinopsine à un moment de leur biosynthèse respective. Ces vestiges de monomères

apparaissent par un jeu de couleur sur la figure 15 qui représente cette collection d'alcaloïdes marins.

À partir de ce constat simple et au regard des différents exemples de synthèses biomimétiques présentées jusque-là, l'adoption d'une stratégie de dimérisation biomimétique s'imposa afin de réaliser les premières synthèses totales de ces alcaloïdes marins.

2. Synthèse biomimétique du (±)-dictazole B.

2.1. Deux scénarios biosynthétiques possibles.

Avant tout travail synthétique, une réflexion approfondie autour des hypothèses de biogenèse possibles était requise. La nature de l'étape de dimérisation restait en effet à définir à ce stade de la réflexion.

Deux scénarios distincts ont été avancés pour expliquer la formation de ces métabolites spécialisés. Le premier se justifie d'un point de vue chronologique, par l'isolement préalable des cycloaplysinopsines en 2000, bien avant les dictazoles en 2010. L'hypothèse initiale de Mancini était donc logiquement fondée sur l'émergence du squelette II (des cycloaplysinopsines) par une réaction de Diels-Alder formelle entre des monomères dérivés de l'aplysinopsine (**117**). Suivant une logique semblable, la découverte du squelette III avec l'isolement des dictazoles suggéra une cycloaddition [2+2] comme source du cyclobutane central de ces substances. Ce scénario "divergent" reste néanmoins purement empirique et relève d'un raisonnement presque rétrosynthétique. Si on prend plus de recul sur les données structurales brutes, un second scénario, plus économe encore d'un point de vue biologique, vient à l'esprit. Une dimérisation est certes nécessaire à un moment donné pour générer ces métabolites de second ordre. Cependant, l'un de ces deux squelettes (II ou III) pourrait très bien être à l'origine (en tant que précurseur) de la dernière architecture de la famille *via* une "cascade biosynthétique" (Figure 16). D'autre part, tous ces composés proviennent d'éponges ou de coraux ayant été isolés en eaux très peu profondes. Cela, en complément d'une possible [2+2] cycloaddition, incite à considérer la lumière solaire, et donc la photochimie, comme des éléments potentiellement clés de leur biogenèse.

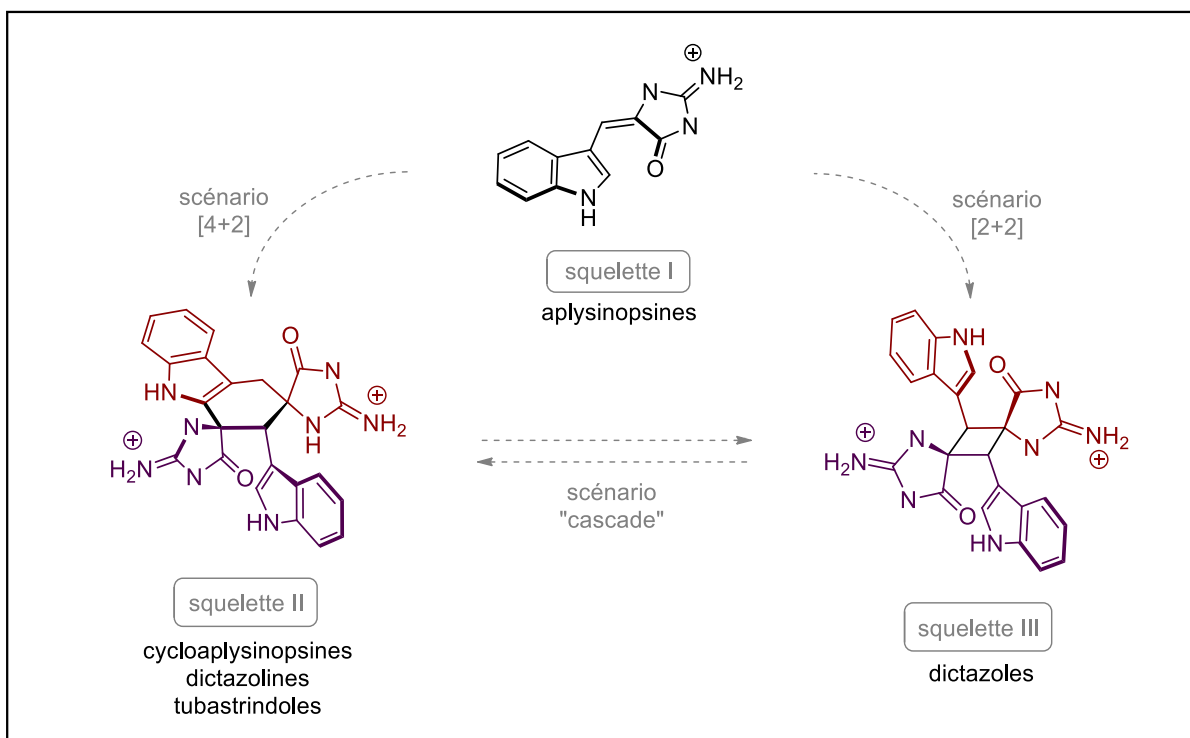


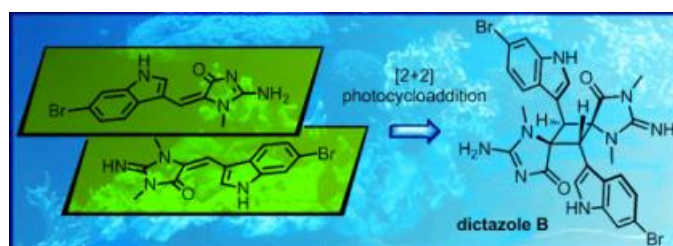
Figure 16 : Le cas de la famille des aplysinopsines : deux scénarios biosynthétiques probables.

Quoi qu'il en soit, l'objet initial de ce travail était, dans un premier temps, d'étudier la dimérisation des précurseurs monomériques identifiés. Alors, d'une façon ou d'une autre (par cycloaddition de type [4+2] ou [2+2]), le but affiché était de réaliser la première synthèse totale de ces alcaloïdes marins singuliers.



Spontaneous Biomimetic Formation of (\pm)-Dictazole B under Irradiation with Artificial Sunlight**

Adam Skiredj, Mehdi A. Beniddir, Delphine Joseph, Karine Leblanc, Guillaume Bernadat, Laurent Evanno,* and Erwan Poupon*



Abstract:

Guided by biosynthetic considerations, the total synthesis of dictazole B is reported for the first time. Experimental evidence for an easy access to challenging cyclobutane alkaloids of marine origin, which are often postulated to be biosynthetic precursors of more complex structures, is provided.

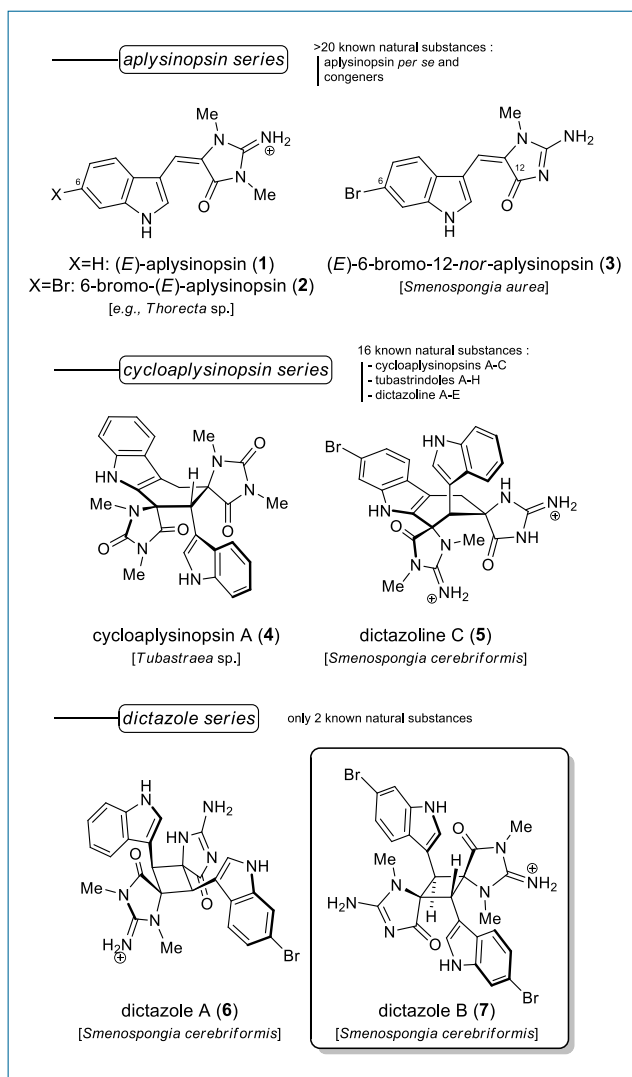
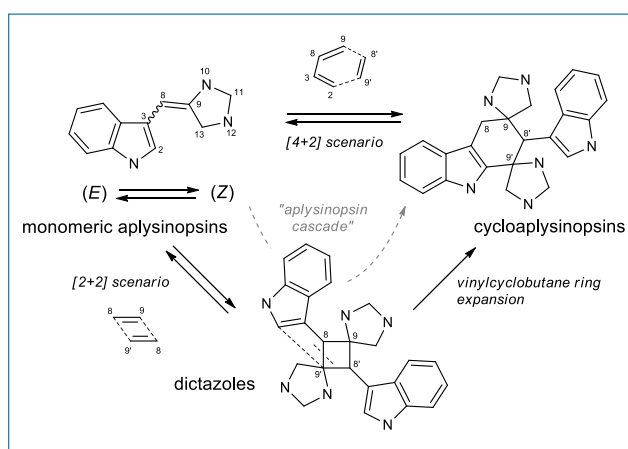


Figure 1 : Overview of the structural diversity of the aplysinopsin family.

The aplysinopsins, a family of indolic marine natural products with a common biosynthetic origin, were isolated from several sponges and stony corals.^[1] Three types of skeletons are encountered in nature (Figure 1): 1) aplysinopsin-type monomeric structures (see the structures of aplysinopsin (1) and its brominated analogues 2 and 3 in Figure 1),^[2] 2) cycloaplysinopsins, which are tetrahydrocarbazole-type dimeric compounds (see cycloaplysinopsin A (4) and dictazoline C (5)),^[3, 4] and 3) intriguing spiro-fused cyclobutanes (dictazoles A (6) and B (7)).^[5] These compounds mainly differ in the bromination state of the indole moiety and the Nmethylation patterns of the creatinine heterocycle. A stereochemical analysis also revealed interesting facts, as variable *E/Z* ratios were observed for the monomeric aplysinopsins.^[6] Furthermore, the cycloaplysinopsins were found to be of low enantiopurity, and the substituents in the polycyclic structures displayed various spatial arrangements.^[7] Interestingly, most of these compounds were isolated from samples that were collected in shallow waters (see below).^[8]

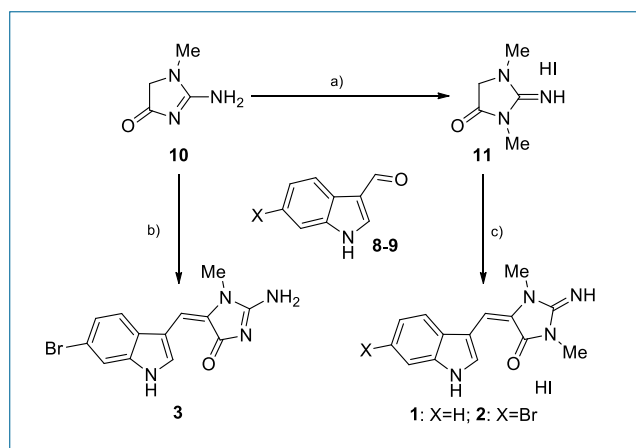
Despite being highly appealing at first sight, the previously postulated Diels–Alder cycloaddition^[9] was questioned when dictazoles, which may arise from an initial [2+2] reaction, were isolated and presented as plausible intermediates towards their tetrahydrocarbazole counterparts by ring expansion with piecemeal experimental evidence (Scheme 1).^[10] Recently, the key [2+2] photocycloaddition step was thoroughly discussed by Baran and co-workers.^[11] Such processes have



Scheme 1 : Biosynthetic hypothesis.

remained a challenge in total synthesis, in particular, when the resulting cyclobutane structures have been postulated as biosynthetic intermediates on the way to even more complex rearranged structures.^[10]

Our interest in biomimetic strategies has led us to investigate particular cases of “molecular” self-assembly,^[12] which allowed us to observe the spontaneous formation of natural substances from simple reactive intermediates.^[13] Hence, the “aplysinopsin cascade” process also attracted our attention.



Scheme 2 : Synthesis of monomeric aplysinopsin derivatives. Reaction conditions: a) MeI, EtOH (>95%); b) Bunsen flame, neat (59%); c) piperidine, reflux (41%).

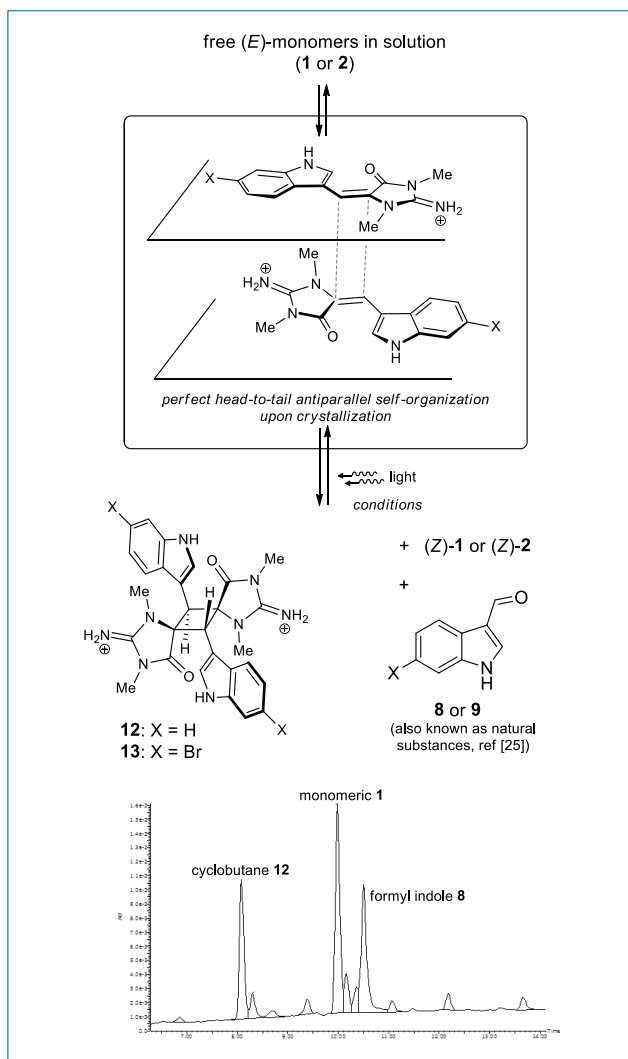
Therefore, the three monomeric aplysinopsins **1-3** were prepared in a single step from 3-formylindole derivatives (**8** or **9**) and the suitable creatinine (**10** or **11**)^[14] to set the stage for the dimerization studies (Scheme 2). At first, the abovementioned Diels-Alder cycloaddition was investigated with monomer **1** under different conditions, including heating for several days in DMF, use of SbCl₃^[15] and the Ledwith–Weitz aminium salt (SbCl₆N(*p*-BrPh)₃)^[16] or ultra-high pressures, but the desired transformation was not observed.^[17, 18]

Despite several words of warning from the literature, we embarked on studying the alternative [2+2] photocycloaddition reaction. We rapidly confirmed the results of previous investigations,^[4c, 6] as *E/Z* isomerization was observed when a solution of **1** was exposed to irradiation. Taken together, these results could have appeared discouraging, but a subtle detail markedly influenced the outcome of this project.

In fact, when running a routine LC/MS analysis of a solid sample of **1** (that had stood for several weeks under sunlight in the laboratory), we observed for the first time a small peak in the chromatogram that is related to both a doubly charged [M+2H]²⁺ ion and a monocharged [M+H]⁺ ion, excluding the possibility of a mass-source dimer (In situ generated MS ions corresponding to [2M+H]⁺ not related to real dimers).^[19]

This peak could correspond to a new dimeric entity, but was barely isolable at this stage. Several months were needed to clarify and finally propose suitable conditions to obtain a small amount of conversion in the solid state and identify the new compound, even though the substrate/product ratio was hardly reproducible, especially upon scale-up.^[20] Gratifyingly, the structure appeared to be cyclobutane **12**, which was confirmed by NMR spectroscopy (see below), and the best conditions entailed the use of artificial light that recreates the irradiation with intense sunlight.^[21] Many experimental details had to be resolved to provide a reliable

procedure towards **12** and, as anticipated, its congeners, including dictazole B (**7**). Another fortuitous observation rapidly turned into a crucial discovery. Highly concentrated solutions of **1**, which mimic the high concentrations that may arise when precursors are sequestered in confined compartments or enzyme active sites in living cells, were studied. Monomeric **1** was dissolved in DMF (5 mM), placed in a crystallizing dish as a thin film, and irradiated with the artificial light for one night. To our delight, one day later, the solution had evaporated to dryness, and analysis of the solid residue revealed a reproducible 20% conversion into **12**.^[22] Solvents, concentrations, additives, and illumination time were among the parameters that had to be optimized. DMF appeared to be the only suitable solvent for the dimerization.^[23] Among many additives, copper(I) triflate^[24] satisfyingly improved the dimerization up to 40% conversion. The most intriguing experimental aspect resides in the fact that as long as **1** is in solution in DMF very little dimerization occurs, whereas it immediately takes place in the solid state, which suggests a crucial self-organization step upon crystallization. A finely tuned and reproducible method was devised that also avoids the degradation of **12** by retro-dimerization when it is irradiated in the solid state for longer periods of time. The process was then extended to the synthesis of brominated analogue **13**, for which a similar ratio of dimerization was observed. Formylindoles **8** and **9** were also formed in the course of both reactions: Interestingly, they are also known as natural products and have already been co-isolated with aplysinopsins from sponges^[25] (see LC/MS chromatogram in Scheme 3).

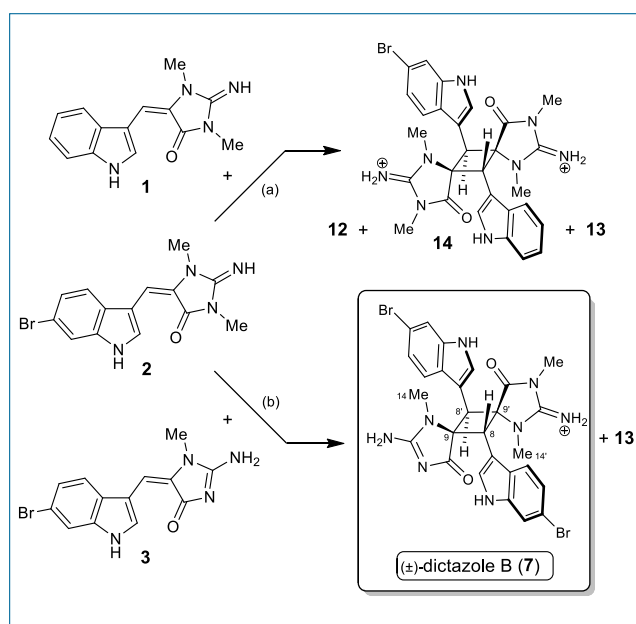


Scheme 3: Solid-state dimerization under irradiation with artificial sunlight. Reaction conditions: A solution of the starting material in DMF (5mM) was allowed to concentrate, CuOTf toluene complex (0.5 equiv), 14 h (**12**:40%; **13**: 35%).

One of the expected drawbacks of a [2+2] photocyclization^[26] is the lack of selectivity, which has been extensively discussed in the literature, for example, by Baran and coworkers.^[11] Templated processes, including topochemical, supramolecular, and biocatalytic approaches, to overcome this major issue therefore constitute a currently appealing topic of research.^[27] In our case, the photochemical [2+2] cycloaddition of the *N*-methylcreatinine

containing *E* monomers **1** and **2** stereoselectively yielded the *anti* head-to-tail photodimers **12** and **13**, respectively, when high local concentrations were achieved by sunlamp-assisted solvent evaporation. The predominant formation of *anti* head-to-tail diastereomers is in accordance with the hypothesis that topochemical control of the photodimerization occurs through the stacking of a centrosymmetric pair of neighboring monomers.

An investigation of the effects of the Lewis acid complexation upon photodimerization showed that irradiation of a 2:1 monomer CuOTf complex significantly enhanced the efficiency of the [2+2] cycloaddition without modifying the regio- and stereoselectivities. In fact, complexation with CuOTf may move the head-to-tail stacked pair of monomers closer together, thereby shortening the distance between the reactive double bonds. Finally, close analysis of a previous crystallographic study of two synthetic aplysinopsin analogues not only mirrored our findings, but also opened the way to an improved understanding of the process.^[28] In short, first, crystals were obtained from crystallization in DMF with a molecule of DMF incorporated into the lattice; second, a perfect head-to-tail *anti* arrangement between two adjacent sheets imposes a geometry that is highly favorable for the light-induced [2+2] reaction.



Scheme 4: Heterodimerization reactions. Reaction conditions: a) DMF, $h\nu$, **1** (1 equiv), **2** (1 equiv), CuOTf toluene complex (1 equiv), 14 h; **14**:19%; **12**:11%; **13** co-eluted with **8**. b) DMF, $h\nu$, **2** (1 equiv), **3** (1 equiv), Bi(OTf)₃ (1 equiv), 14 h; dictazole B (**7**): 14%; **13**:19%.

The total synthesis of dictazole B (**7**) was the next challenge. Because of its pseudodimeric structure ([2+2] cycloaddition between **2** and **3**), statistical couplings will be observed, and unfavorable self-organization could be feared. The heterodimerization process was first evaluated with the fully methylated derivatives **1** and **2** with CuOTf as the additive and gave the expected statistical distribution in favor of **14** over **12** and **13** (Scheme 4). The relative *anti* configuration of the indole moieties that are appended to the cyclobutane framework was clearly demonstrated in the course of the structure determination of **14**. Subsequent exposure of a 1:1 mixture of **2** (*N,N*-dimethylated) and **3** (*N*-monomethylated) to light led to new challenges. At first sight, CuOTf was found to only allow the dimerization of

fully methylated aplysinopsins, as the conversion of **2** and **3** into **7** was minute (in fact not better than for the same reaction without CuOTf). Therefore, new reaction conditions had to be established. An understanding of the inherent topology and innate reactivity of **3** was needed. The pseudo-aromatic character of the α,β -unsaturated creatinine moiety may explain the failure of the photodimerization of **3**. In fact, a particular mesomeric form of the imidazoline

moiety illustrates that for the [2+2] cycloaddition, **3** is the least reactive precursor of the series because of deconjugation of the C8/C9 double bond and facile *E/Z* photoisomerization.^[29]

Hence, some other Lewis acids were evaluated, and the weak Lewis acid bismuth(III) triflate significantly enhanced the conversion into **7** and was thus selected as the best additive to initiate the regio- and stereoselective cross-dimerization.^[30, 31] With these conditions in hand, condensation of **2** and **3** was finally possible and delivered dictazole B with 14% conversion along with **13**. Analysis of the ROESY NMR spectrum clearly established the relative configurations of the C8, C8', C9, and C9' positions based on correlations between the H8' and H14' hydrogen atoms and between the H8 and H14 hydrogen atoms. No correlation was observed between the H8 and H8' hydrogen atoms. The ROESY spectrum therefore confirmed the *trans* configuration, which is the same as for natural dictazole B (**7**).^[32]

In an attempt to rationalize our results and to understand the difference in reactivity between monomers **1**, **2**, and **3** in terms of their *N*-methylation patterns, we first calculated their π/π^* orbital energies and corresponding atomic coefficients.^[33] HOMO and LUMO energies of the *N,N*-dimethylated monomers **1** and **2** are drastically lower than those of the *N*-monomethylated **3**.

The atomic orbital coefficients of the HOMO for **1** and **2** revealed an “allyl-like” nonbonding orbital, which might be detrimental for the π orbital overlap that is required for the direct formation of the six-membered ring of the cycloaplysinopsin framework (Figure 2). This fact may explain the failure of all of our experiments that targeted a thermal Diels–Alder reaction.

Concerning the [2+2] photocyclization reaction, both singlet and triplet states can be involved in the process. Nevertheless, in the presence of triplet photosensitizers, significant dimer formation was not observed.^[34] This finding could indicate that the reaction occurs under solid-state conditions and involves short-lived singlet states because of the high proximity of the monomers.^[35] Furthermore, according to Schmidt’s topochemical postulate, the precise packing of molecules (*i.e.*, with properly placed reactive centers) also controls the outcome of [2+2] photodimerization reactions in the solid state.^[36] In line with this hypothesis, the aforementioned crystallographic structures^[28] gave us valuable indications concerning both the spatial arrangement of structures such as **3** in the solid state and the electronic structure of the creatinine moiety, which may preclude their direct dimerization.^[37]

The effectiveness of Bi(OTf)₃ to enhance the stereoselective cross-photodimerization between **2** and **3**, which is needed for the synthesis of dictazole B (**7**), may thus be attributed to an increase in electrophilicity and singlet-state lifetimes combined with lowered orbital energies for complexed **3**, which restores the properties of the *N,N*-dimethylated monomers **1**

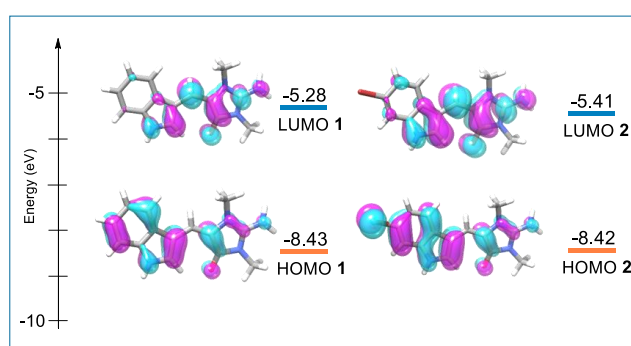


Figure 2 : HOMO and LUMO energies and “isodensity surfaces” of **1** and **2**. Not shown: HOMO of **3**: -5.18 eV; LUMO of **3**: -1.47 eV.

and **2** to a certain extent.^[38] The higher propensity of dimethylated aplysinopsin derivatives to dimerize is corroborated by the fact that all dictazole- or cycloaplysinopsin-type natural products contain at least one such dimethylated imidazolidinone. It is thus proposed that during biosynthesis, demethylation reactions may occur after the cycloaddition step.

To understand and synthetically reproduce the whole metabolism from formylindoles to cycloaplysinopsins, the next step, which is currently under investigation, will be to provide a reliable procedure for the conversion of dictazoles into the corresponding cycloaplysinopsins. Meanwhile, the herein described first total synthesis of dictazole B once again highlights the long-lasting value of biosynthetic considerations in the design of synthetic routes to natural substances, especially when they exhibit densely functionalized structures.

References

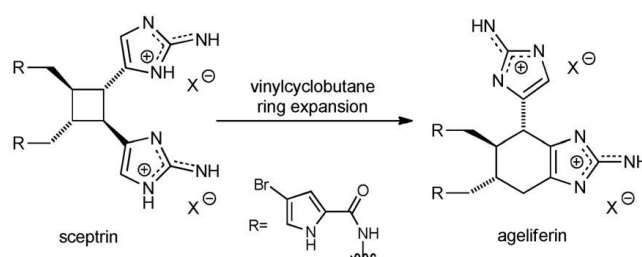
- [1] For reviews, see: a) D. Bialonska, J. K. Zjawiony, *Mar. Drugs* **2009**, *7*, 166–183; b) E. M. Boyd, J. Sperry, *Chem. N.Z.* **2010**, *74*, 109–112.
- [2] For the first isolation and description of aplysinopsin (**1**), see: R. Kazlauskas, P. T. Murphy, R. J. Quinn, R. J. Wells, *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 61–64. For the isolation of its congeners, see ref. [1]; for a recent example, see: N. Cachet, L. Loffredo, O. O. Vicente, O. P. Thomas, *Phytochemistry Lett.* **2013**, *6*, 205–208.
- [3] For a description of cycloaplysinopsins A and B, see: a): I. Mancini, G. Guella, H. Zibrowius, F. Pietra, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8757–8762; for a description of cycloaplysinopsin C, see: b): M. Meyer, F. Delberghe, F. Liron, M. Guillaume, A. Valentin, M. Guyot, *Nat. Prod. Res.* **2009**, *23*, 178–182.
- [4] For a description of tubastrindoles A–C, see: a) T. Isagawa, M. Miyazaki, H. Okamura, M. Nakatani, M. Doe, K. Takemura, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2533–2535; b) tubastrindoles D–H: T. Isagawa, M. Miyazaki, Y. Yokogawa, H. Okamura, M. Nakatani, M. Doe, Y. Morimoto, K. Takemura, *Heterocycles* **2008**, *75*, 2023–2028; c) for tubastrindole B, see also: W. Balansa, R. Islam, D. F. Gilbert, F. Fontaine, X. Xiao, H. Zhang, A. M. Piggott, J. W. Lynch, R. J. Capon, *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 4420–4425.
- [5] For a description of dictazolines A and B, see: a) J. Dai, J. I. Jiménez, M. Kelly, S. Barnes, P. Lorenzo, P. G. Williams, *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 1287–1290; for a description of dictazolines C–E and dictazoles A and B, see: b) J. Dai, J. I. Jiménez, M. Kelly, P. G. Williams, *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 2399–2402.
- [6] Mancini et al. studied the changing *E/Z* ratio of aplysinopsins especially when they are exposed to light; see: a) G. Guella, I. Mancini, H. Zibrowius, F. Pietra, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 773–782; b) G. Guella, I. Mancini, H. Zibrowius, F. Pietra, *Helv. Chim. Acta* **1989**, *72*, 1444–1450. See also ref [4c] for sunlight *E/Z* interconversion.

[7] The enantiomeric excess of cycloaplysinopsin A (**4**) was found to be poor by using the chiral shift reagent $\text{Eu}(\text{tfc})_3$; the relevant signals in the NMR spectrum were split in a ratio of approximately 65:35 (see ref. [3a]).

[8] The sponge *S. cerebriformis* was collected at the northwest coast of Panama from a depth of 2 - 3 m (ref. [5a, b]); stony-coral *Tubastraea* sp. samples were collected in a reef environment from a depth of 3 m at Comoro Islands (ref. [3a]), from a depth of ca. 3 m at Capsalon Island, Philippines (ref. [6a] and [3a]), and from a depth of 12 m depth in the Hanish Islands archipelago, Yemen (ref. [3b]). The depth was not mentioned in the description of the collection of *Tubastraea* sp. in the Odomari area, Kagoshima prefecture, Japan (ref. [3a] and [4b]) and for the sponge *Lanthella* cf. *flabelliformis*, which was collected at Lonsdale wall, Port Phillip, Australia (38°17'55"S,144°37'76"E). For the penetration of light into (tropical) sea water, see for example: R. P. Dunne, B. E. Brown, *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **1996**, *144*, 109–118; E. M. Fleishmann, *Limnol. Oceanogr.* **1989**, *34*, 1623–1629.

[9] The putative Diels–Alder cycloaddition was particularly investigated and discussed by Mancini *et al.* (see ref. [3a]): Spontaneous formation during the extraction was rapidly set aside, and the existence of a putative Diels–Alderase was discussed.

[10] Indeed, preliminary results (LC/MS traces, see ref. [5b]) indicated a conversion of dictazole A into dictazoline C under microwave activation in water, following the seminal and beautiful conversion of sceptrin into ageliferin under such conditions; see: B. H. Northrop, D. P. O'Malley, A. L. Zografos, P. S. Baran, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4126–4130, and references therein. In the particular case of pyrrole aminoimidazole alkaloids, Molinski and co-workers recently disclosed a crucial step forward in understanding the biosynthesis of this highly diverse family of natural substances; see: E. P. Stout, Y.-G. Wang, D. Romo, T. Molinski, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 4877–4881 and E. P. Stout, B. I. Morinaka, Y.-G. Wang, D. Romo, T. F. Molinski, *J. Nat. Prod.* **2012**, *75*, 527–530.



[11] a) W. R. Gutekunst, P. S. Baran, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 2430–2452. This paper also features a synthetic approach towards dictazole A (**6**). The special [2+2] photochemical origin of sceptrin has also been discussed, but attempts to realize this [2+2] dimerization have previously been unsuccessful; see: R. P. Walker, D. J. Faulkner, D. Van Engen, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 6772–6773.

[12] a) E. J. Sorensen, *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 3225–3228; b) E. Poupon, E. Gravel, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008*, 27–42.

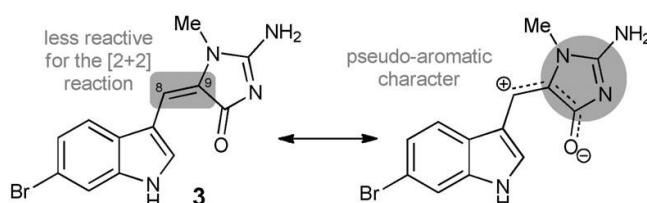
- [13] See, for examples: a) E. Gravel, A. Harfouche, R. Salame, K. Leblanc, A. Maciuk, E. Poupon, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 14515–14519, and references therein; b) F. Senejoux, L. Evanno, E. Poupon, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 453–455.
- [14] Procedures adapted from ref. [6a] and Ref. [4c], for example. For alternative strategies, see: L. Ermolenko, H. Zhaoyu, C. Lejeune, C. Vergne, C. Ratinaud, T. B. Nguyen, A. Al-Mourabit, *Org. Lett.* **2014**, *15*, 872–875.
- [15] G. Maiti, P. Kundu, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 5733–5736.
- [16] a) S. L. Drew, A. L. Lawrence, M. S. Sherburn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 4221–4224; b) H. N. Lim, K. A. Parker, *Org. Lett.* **2012**, *15*, 398–401.
- [17] W. G. Dauben, C. R. Kessel, K. H. Takemura, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 6893–6894.
- [18] Diels–Alder reaction with **1**: 1) heating in DMF for 5 days; 2) DMF, RT, 24 h; 3) SbCl₆N(*p*-BrPh)₃ (10 mol%), CH₂Cl₂ (low solubility) or DMF, RT, 12 h; 4) DMF/THF (1:1), 1.2 GPa, RT, 15 h. Reaction conditions 1–3 resulted in no reaction, conditions 4 mainly afforded a retro-aldol reaction..
- [19] See the Supporting Information for an analysis of the mass spectrum of **12** (*R*_T=8.08 min), which shows the [M+2H]²⁺ ion at *m/z*=255.1194 along with the [M+H]⁺ ion at *m/z*=509.2409..
- [20] The reaction, which takes place at the surface of powdered **1**, necessitated daily fine grinding for the renewal of the surface.
- [21] Artificial sunlight restitutes high UV-B quanta; see the Supporting Information for details.
- [22] See the Supporting Information for details concerning the expression of the results in terms of conversion percentages.
- [23] DMF was chosen because it appeared to be the best solvent to solubilize **1** and **2**. DMSO afforded a small dimer peak in the HPLC chromatogram but mainly provided the retro-aldol products **8** and **9**.
- [24] For the use of copper triflate, see: a) R. G. Salomon, *Tetrahedron* **1983**, *39*, 485–575; b) R. G. Salomon, K. Folting, W. E. Streib, J. K. Kochi, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 1145–1152.
- [25] For the isolation of formylindoles **8** and **9**, see, for example (isolation from a *Smenospongia* sponge): M. J. McKay, A. R. Carroll, R. J. Quinn, J. N. A. Hooper, *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 595–597.

[26] a) T. Bach, J. P. Hehn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 1000–1045; b) J. Iriondo-Alberdi, M. F. Greaney, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *2007*, 4801–4815.

[27] a) K. M. Hutchins, J. C. Sumrak, L. R. MacGillivray, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 1052–1055; b) G. K. Kole, T. Kojima, M. Kawano, J. J. Vittal, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *126*, 2175–2178; c) R. Medishetty, R. Tandiana, L. L. Koh, J. J. Vittal, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 1231–1236.

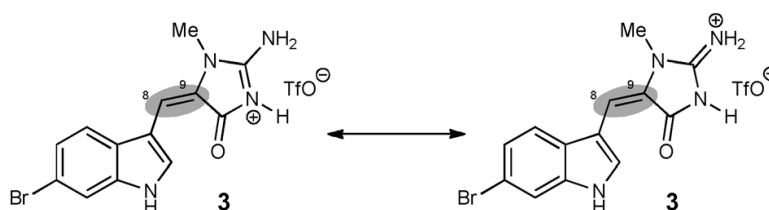
[28] See the Supporting Information of: J. E. Johnson, D. C. Canseco, D. D. Dolliver, J. A. Schetz, F. R. Fronczek, *J. Chem. Crystallogr.* **2009**, *39*, 329–336.

[29] The existence of particular *pseudo*-aromatic mesomeric forms may explain the following:



[30] Lewis acids evaluated include $\text{La}(\text{OTf})_3$, $\text{Sc}(\text{OTf})_3$, $\text{Y}(\text{OTf})_3$, $\text{Yb}(\text{OTf})_3$, MgCl_2 and ZnCl_2 which mainly provided *retro*-aldol products, that is, formylindoles **8** and **9**. $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ was selected. For the use of $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ in organic synthesis, see: J. M. Bothwell, S. W. Krabbe, R. S. Mohan, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 4649–4707.

[31] Activation by a mild oxophilic Lewis acid in conjunction with activation by protonation, which arises from the catalytic liberation of triflic acid, may explain the outcome of the reaction. Protonation of the creatinine moiety of **3** indeed enables the loss of its *pseudo*-aromatic character, which renders the C8/C9 double bond more reactive for the [2+2] photocycloaddition.



[32] See the Supporting Information for in-depth analysis of 2D NMR data.

[33] See the Supporting Information, p. 21 for the calculation method and a Figure showing orbital energies and atomic coefficients of **1**, **2**, and **3**.

[34] Evaluated photosensitizers include benzophenone and salcomine, which fully or partially inhibited the dimerization reaction.

[35] H. Gonçalves, G. Robinet, M. Barthelat, A. Lattes, *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 1279–1287.

[36] a) M. D. Cohen, G. M. J. Schmidt, *J. Chem. Soc.* **1964**, 1996–2000; b) M. D. Cohen, G. M. J. Schmidt, F. I. Sonntag, *J. Chem. Soc.* **1964**, 2000–2013; c) G. M. J. Schmidt, *J. Chem. Soc.* **1964**, 2014–2021.

[37] Whereas a 3'-exocyclic imine and a perfect stacking between the indole and the imidazolinone heterocycle was observed with superposed *N*-1,*N*-10'-dimethylated monomers A (see ref. [28]), an endocyclic imine and different stacking may explain the differences in reactivity.

[38] a) F. D. Lewis, S. L. Quillen, P. D. Hale, J. D. Oxman, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 1261–1267; b) F. D. Lewis, J. E. Elbert, A. L. Upthagrove, P. D. Hale, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 553–561.

2.3. Partie expérimentale.

General experimental procedures

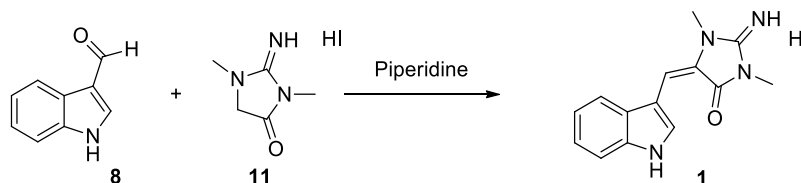
IR spectra were recorded with a Vector 22 Bruker spectrometer. The NMR spectra were recorded on Bruker AM-300 (300 MHz), AM-400 (400 MHz) and AV-600 (600 MHz) apparatus using CD₃OD-*d*₄ and DMSO-*d*₆ as solvents. The solvent signals were used as references. Multiplicities are described by the following abbreviations: s = singlet, d = doublet, t = triplet, td = triplet of doublet, m = multiplet, b = broad. HRESIMS and LC/MS were run on a Thermoquest TLM LCQ Deca ion-trap spectrometer with a XBridge analytical C₁₈ column (150 × 2.1 mm; 3.5 μm, Waters). Sunfire preparative C₁₈ columns (150 × 30 mm; i.d. 5 μm, Waters) was used for preparative HPLC separations using a Waters Delta Prep equipped with a binary pump (Waters 2525), a UV-visible diode array detector (190-600 nm, Waters 2996). All other chemicals and solvents were purchased from Aldrich and SDS (France).

Synthesis of 1,3-dimethyl-2-imino-4-imidazolidinone hydroiodide (11)

This compound was synthesized and structurally characterized as reported by Kenyon and Rowley.^[1]

Experimental procedures for the preparation of monomers 1-3

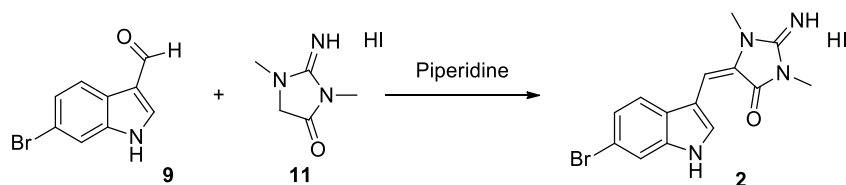
■ (*E*)-5-((1*H*-indol-3-yl)methylidene)-2-imino-1,3-dimethylimidazolidin-4-one hydroiodide (1)



1,3-Dimethyl-2-imino-4-imidazolidinone hydroiodide (5.80 g, 22.7 mmol, 1.0 equiv.) and indole-3-carboxaldehyde (3.30 g, 22.7 mmol, 1.0 equiv.) were refluxed in piperidine (30 mL) for 4 hours. After cooling, the reaction mixture is poured into 180 mL of water. After stirring for 30 minutes the precipitate is filtered off, washed with water and dried. The product 1 crystallizes from methanol/water (1:1) as fine, yellow needles (3.63 g, 9.5 mmol, 42%).

1: ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.46 (bs, 1H), 8.70 (s, 1H), 7.86 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.42 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.15 (td, *J* = 7.5, 1.4 Hz, 1H), 7.10 (td, *J* = 7.4, 1.4 Hz, 1H), 6.43 (s, 1H), 3.25 (s, 3H), 3.06 (s, 3H); ¹³C-NMR (75 MHz DMSO-*d*₆) δ 162.2, 150.5, 135.4, 127.6, 127.2, 126.4, 121.6, 119.3, 118.0, 111.6, 108.7, 102.6, 26.8, 24.8; IR (neat) ν = 3281, 1707, 1630, 1640, 1420, 1388 cm⁻¹; HRMS (ESI-TOF) *m/z* calcd for C₁₄H₁₅N₄O [M+H]⁺ 255.1246; found 255.1290.

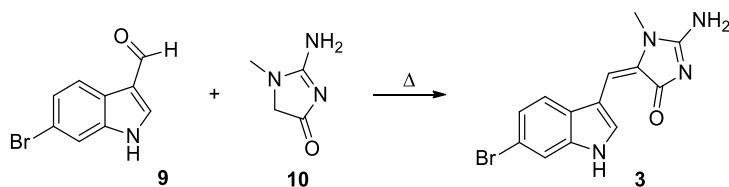
■ (*E*)-5-((6-Bromo-1*H*-indol-3-yl)methylidene)-2-imino-1,3-dimethylimidazolidin-4-one hydroiodide (**2**)



1,3-Dimethyl-2-imino-4-imidazolidinone hydroiodide (2.25 g, 8.82 mmol) and 6-bromoindole-3-carboxaldehyde (1.97 g, 8.82 mmol, 1.0 equiv) were refluxed in piperidine (30 mL) for 4 hours. After cooling, the reaction mixture is poured into 180 mL of water. After stirring for 30 minutes the precipitate is filtered off, washed with water and dried to yield compound **2** (1.70 g, 3.7 mmol, 42%) as fine, yellow needles.

2: $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 11.54 (bs, 1H), 8.67 (s, 1H), 7.86 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.22 (dd, $J = 8.5, 1.8$ Hz, 1H), 6.38 (s, 1H), 3.25 (s, 3H), 3.06 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz $\text{DMSO-}d_6$) δ 158.1, 150.5, 136.3, 128.0, 127.1, 126.7, 122.1, 120.0, 114.4, 114.2, 109.0, 101.8, 27.0, 24.7; IR (neat) $\nu = 3281, 1707, 1630, 1640, 1420, 1388$ cm^{-1} ; HRMS (ESI-TOF) m/z calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{OBr}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 333.0351; found 333.0351.

■ (*E*)-2-Amino-5-[(6-bromo-1*H*-indol-3-yl)methylidene]-1-methyl-1*H*-imidazol-4(5*H*)-one (**3**)



The procedure for this reaction was originally reported by Djura and Faulkner.^[2] Creatinine (2.25 g, 8.82 mmol, 1.0 equiv.) and 6-bromoindole-3-carboxaldehyde (1.97 g, 8.82 mmol, 1.0 equiv.) were placed in a 100 mL three neck round bottomed flask fitted with a nitrogen gas inlet. The flask was then heated cautiously with a Bunsen burner. Considerable frothing of the mixture took place during the course of the reaction. The reaction mixture was allowed to cool to room temperature and was then extracted with methanol (2 \times 50 mL). The remaining solid was recrystallized from DMF-water to give compound **3** (1.70 g, 3.7 mmol, 59%) as fine, red needles.

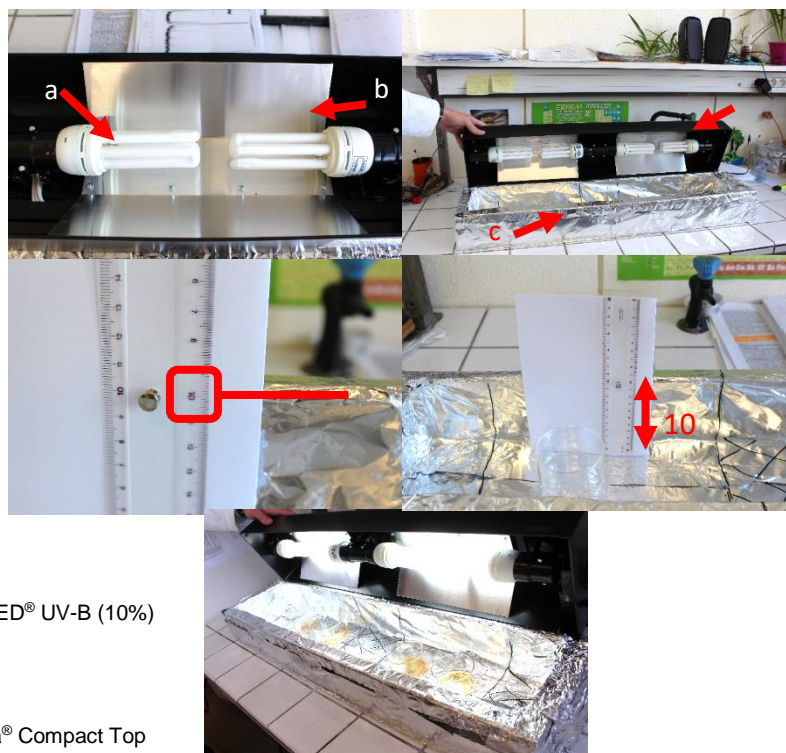
3: $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 11.52 (bs, 1H), 9.07 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.22 (dd, $J = 8.5, 1.8$ Hz, 1H), 6.48 (s, 1H), 3.25 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz $\text{DMSO-}d_6$) δ 175.4, 165.2, 136.3, 131.4, 129.2, 126.7, 122.1, 119.9, 116.2, 114.2, 109.2, 103.7, 27.7; IR (neat) $\nu = 3281, 1707, 1630, 1640, 1420, 1388$ cm^{-1} ; HRMS (ESI-TOF) m/z calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{OBr}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 319.0194; found 319.0195.

General procedure for the irradiation experiments in solution

Monomers (0.025 mmol or 0.0125 mmol of each monomer in the case of heterodimerization) were solubilized in DMF (5 mL) into an open crystallizing dish (8 cm diameter) in order to provide a thin film (1 mm thick) of solution (5 mM). Solution was allowed to concentrate to dryness with a homogeneous exposure to light (see description of the device below). The solution was exposed to light during 14 h at room temperature under normal air atmosphere and the dried residue obtained was controlled by LC/MS analysis (mobile phase MeCN/H₂O (5/95 to 100/0 + 0.1 % HCOOH) over 20 min). Numerous experiments were carried out simultaneously covering all the available surface of the photochemical device. The batches coming from multiple irradiating runs were then pooled, centrifugated and purified by reverse-phase HPLC. The centrifugation step is required due to the low solubility of the products prior to purification. Results are therefore expressed as “%Conversion” and representative HPLC/MS chromatograms are provided. Isolated yields are also given for information purposes.

Photochemical device description

All photochemical experiments were carried out using the system described thereafter. The lighting was assured by two UV-B enriched lamps (“a”: ReptiSun 10.0 ZOOMED® UV-B (10%) 26W lamps) per irradiating area topped by an aluminum reflector “b” and charged in an adapted lamp holder “d” placed at exactly 10 cm from the samples. For a better light reflection all surfaces of the box are covered by aluminum foil “c”.



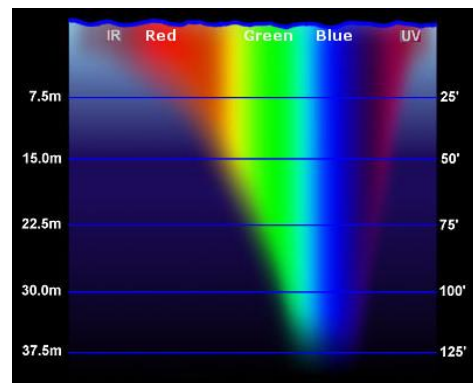
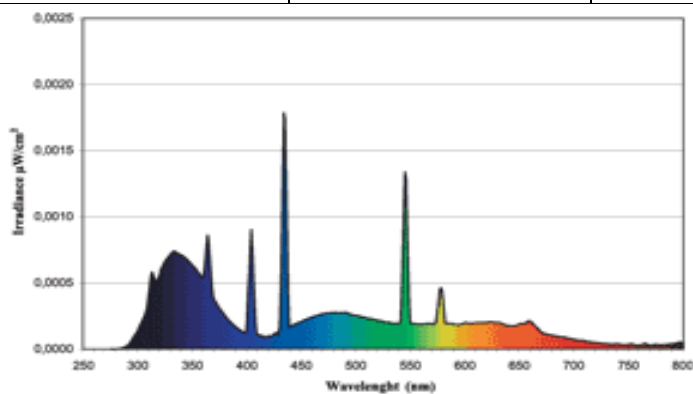
- a- ReptiSun 10.0 ZOOMED® UV-B (10%) 26W lamps
- b- aluminum reflector
- c- aluminum foil
- d- lamp holder Exo Terra® Compact Top

Choice of the lamp

The choice of UV-B enriched lamps has been made to mimic a natural sunlight exposure in shallow water and arises from two complementary arguments. On the one hand, the natural sunlight should be sufficient to catalyze the reaction according to our biogenetic hypothesis. On the other hand, UV-B are not only very energetic, they are also the more penetrating radiations of sunlight in water (ref [3]). Several commercial lamps could be suitable for this purpose as they restore a light not previously absorbed by atmosphere or water. A typical emission spectrum showing the broad and intense irradiation starting at 280 nm is furnished.

UV-B enriched lamp

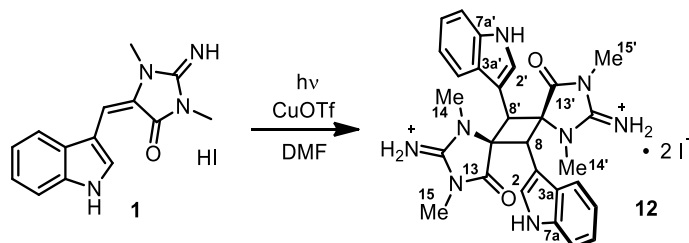
Brand	Model	UV-B % :	Other info
ZOOMED®	ReptiSun® 10.0	10.0	26W



a: Lamp emission spectrum; b: Penetration of sunlight in water.

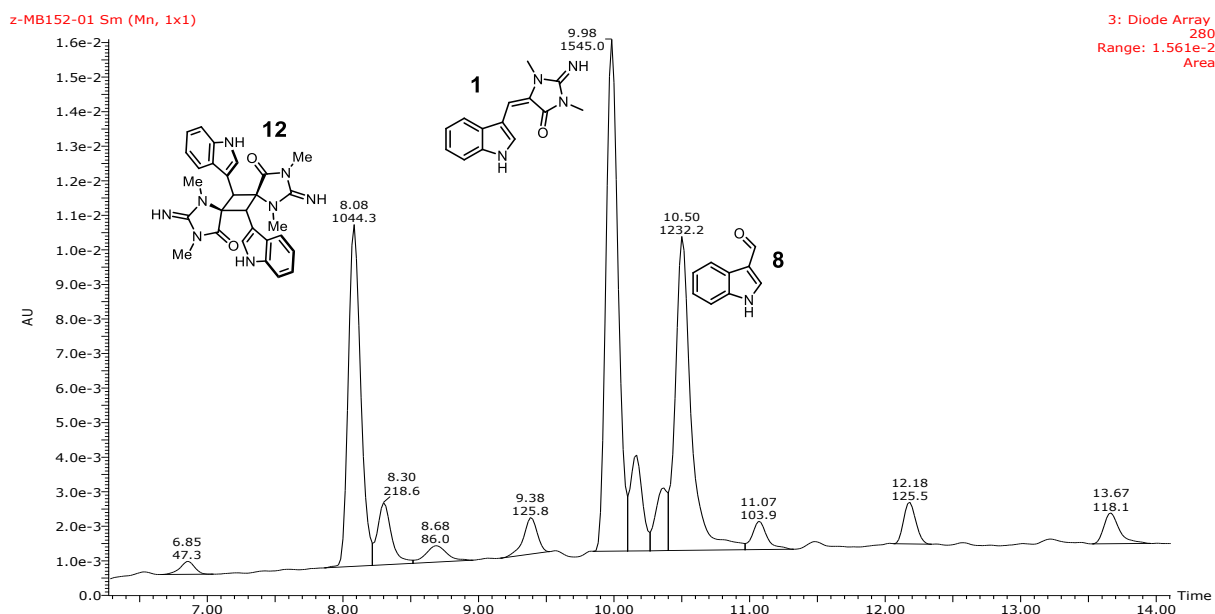
Experimental procedure for the preparation of dimers

■ 5*R**,6*R**,7*R**,12*R**-6,12-bis-(indol-3-yl)-2,9-diimino-1,3,8,10-tetramethyl-1,3,8,10-tetraaza-bispiro[4.1.4.1]dodecane-4,11-dione dihydroiodide (**12**)

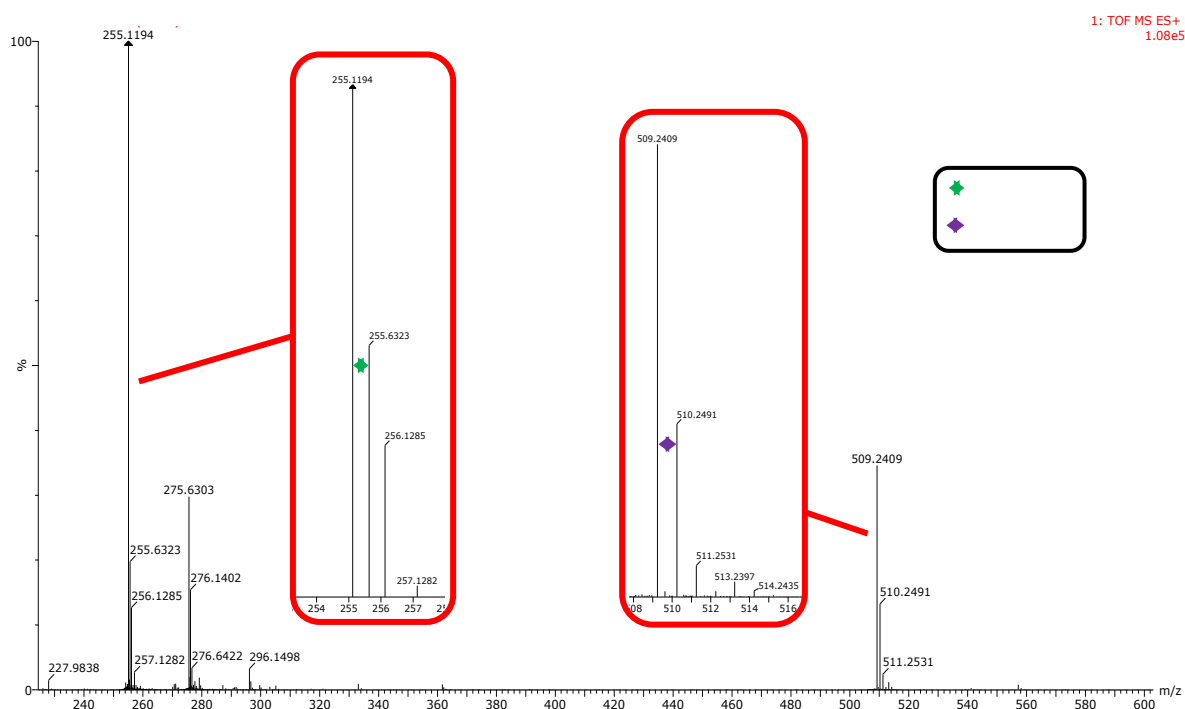


To a solution of **1** (9.5 mg, 0.025 mmol) in DMF (5 mL) was added CuOTf-toluene complex (6.5 mg, 0.0125 mmol). The mixture was then exposed to light at room temperature in an open crystallizing dish for 14 h. The dry residue obtained was then solubilized in methanol (2 mL) and pooled with 13 similar experiments (one run with the above described photochemical device) and evaporated under reduced pressure. A representative LC/MS analysis (Erreur ! ource du renvoi introuvable.) of the batches shows a 40% conversion of **1** into **12**. Compound **12** was purified, after centrifugation by preparative HPLC (2% to 30% MeCN in H₂O (0.2% HCOOH) over 10 min at 42 mL/min, R_T = 5.7 min) providing a yellow amorphous solid (19 mg, 14.2 % isolated yield).

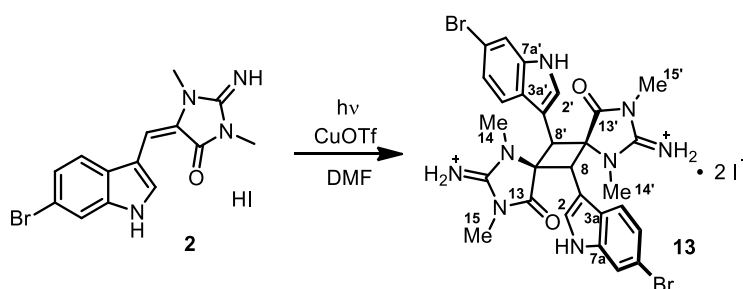
12: ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD-*d*₄) δ 7.43 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.37 (bs, 2H), 7.17 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.04 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 6.94 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 5.50 (s, 2H), 3.35 (s, 6H), 3.33 (s, 6H); ¹³C-NMR (100 MHz CD₃OD-*d*₄) δ 174.9, 159.2, 137.6, 127.9, 125.0, 123.8, 121.2, 117.3, 113.3, 104.7, 70.1, 48.4, 30.4, 27.4; IR (neat) ν = 3142, 1707, 1659, 1589, 1460, 1388 cm⁻¹; HRMS (ESI-TOF) *m/z* calcd for C₂₈H₂₉N₈O₂ [M+H]⁺ 509.2413; found 509.2419.



Mass spectrum (ESI +) of the dimer (**12**):



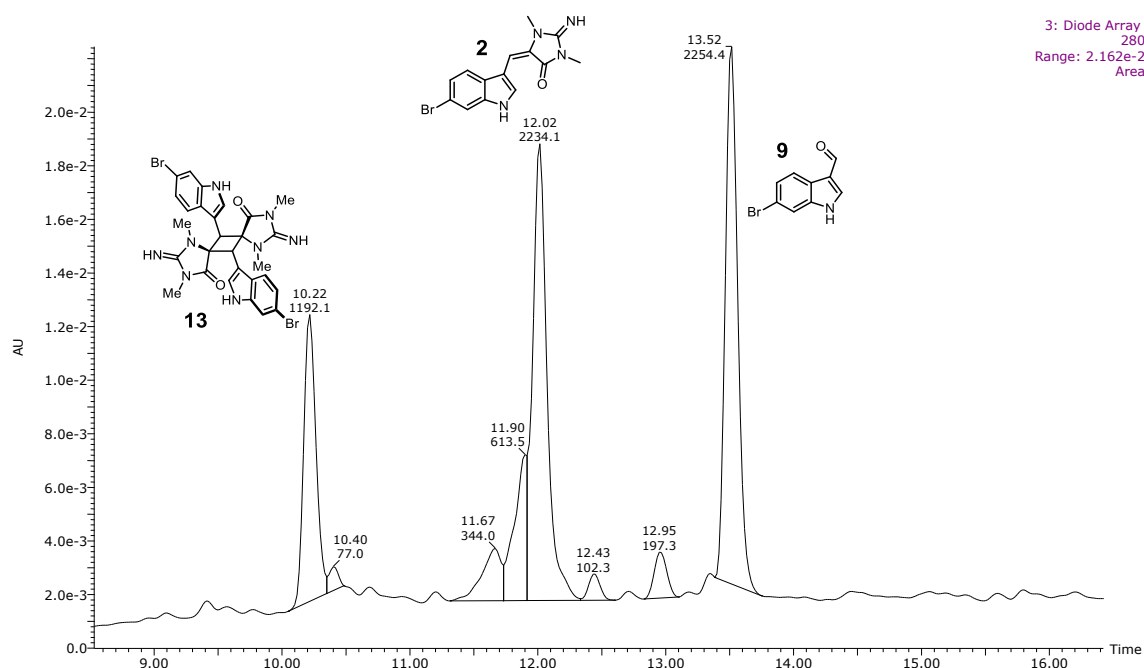
■ 5*R**,6*R**,7*R**,12*R**-bis-(6-bromoindol-3-yl)-2,9-diimino-1,3,8,10-tetramethyl-1,3,8,10-tetraaza-bispiro[4.1.4.1]dodecane-4,11-dione dihydroiodide (**13**)



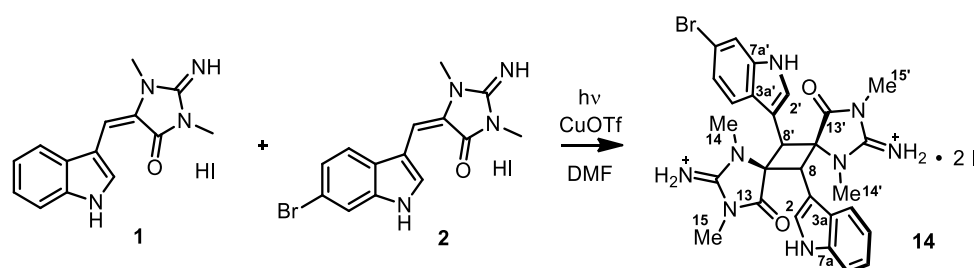
To a solution of **2** (11.5 mg, 0.025 mmol) in DMF (5 mL) was added CuOTf-toluene complex (6.5 mg, 0.0125 mmol). The mixture was then exposed to light at room temperature in an open crystallizing dish for 14 h. The dry residue obtained was then solubilized in methanol (2 mL) and pooled with 13 similar experiments (one run with the above described photochemical device) and evaporated under reduced pressure. A representative LC/MS analysis of the batch shows a 35% conversion of **2** into **13**. Compound **13** was purified, after centrifugation by preparative HPLC (5% to 30% MeCN in H₂O (0.2% HCOOH) over 15 min at 42 mL/min, $R_T = 9.3$ min) to yield an amorphous solid (18.7 mg, 11.6 % isolated yield).

13: ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD-*d*₄) δ 7.58 (d, $J = 1.4$ Hz, 2H), 7.34 (bs, 2H), 7.15 (dd, $J = 8.4, 1.4$ Hz, 2H), 6.84 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 5.41 (s, 2H), 3.32 (s, 6H), 3.27 (s, 6H); ¹³C-NMR (75 MHz

CD₃OD-*d*₄) δ 175.0, 158.9, 138.4, 127.1, 125.7, 124.2, 119.2, 117.0, 116.0, 105.9, 69.7, 48.3, 30.0, 27.0; IR (neat) ν = 3142, 1707, 1659, 1589, 1460, 1388 cm⁻¹; HRMS (ESI-TOF) *m/z* calcd for C₂₈H₂₇N₈O₂Br₂ [M+H]⁺ 665.0624; found 665.0622.



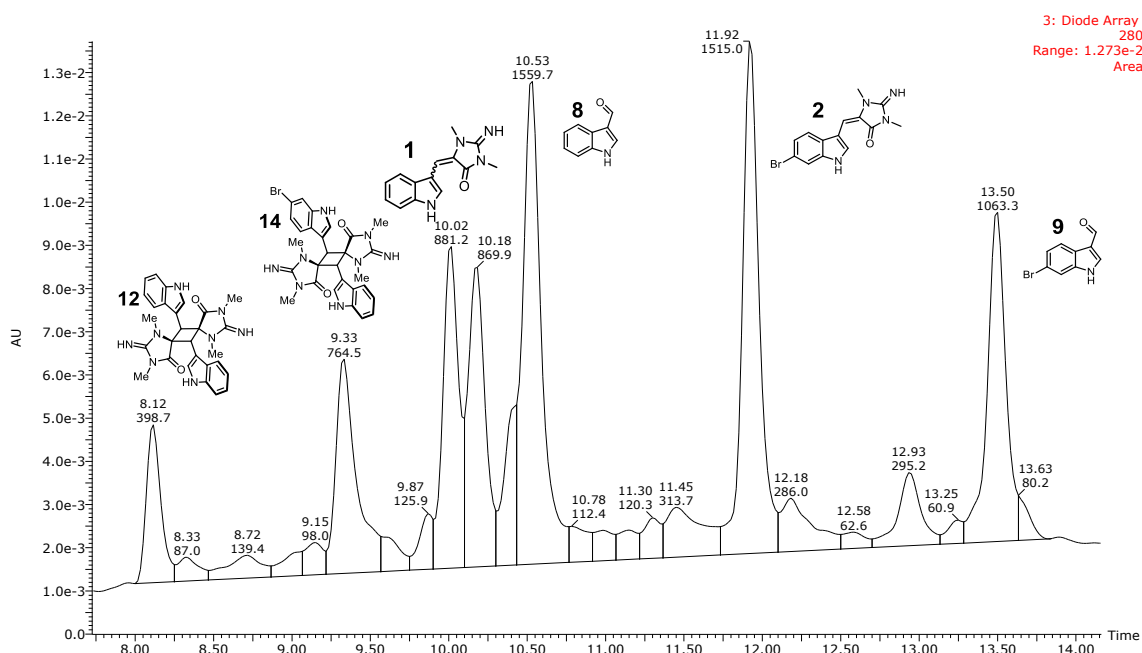
■ *rac*-5*R**,6*R**,7*R**,12*R**-6-indol-3-yl-12-(6-bromoindol-3-yl)-2,9-diimino-1,3,8,10-tetramethyl-1,3,8,10-tetraaza-bispiro[4.1.4.1]dodecane-4,11-dione dihydroiodide (**14**)



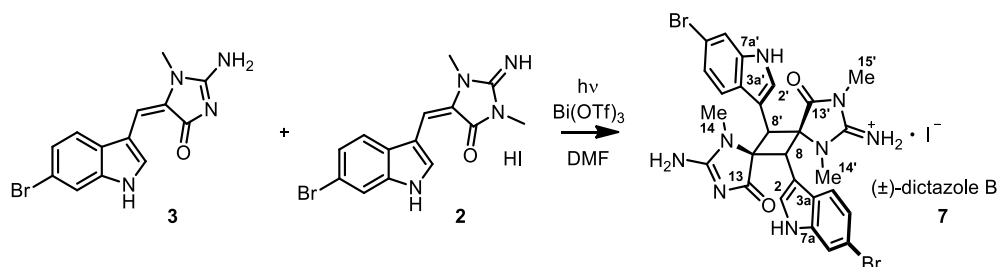
To a solution of **1** (5 mg, 0.0125 mmol) and **2** (6 mg, 0.0125 mmol, 1 equiv.) in DMF (5 mL) was added CuOTf-toluene complex (6.5 mg, 0.0125 mmol). The mixture was then exposed to light at room temperature in an open crystallizing dish for 14h. The dry residue obtained was then solubilized in methanol (2 mL) and pooled with 13 similar experiments (one run with the above described photochemical device) and evaporated under reduced pressure. A representative HPLC-MS analysis of the batch shows a 19% conversion of **1** and **2** into **14** and 11% conversion into **12** (as **13** is not separable from **1** and **2**). Compound **14** was purified after centrifugation by preparative HPLC (2% to 30% MeCN in H₂O (0.2% HCOOH) over 15 min at 42 mL/min, R_T = 8.9 min) to yield **14** (11.2 mg, 7.6 %) as an amorphous solid. Homodimer **12**

was also purified during the process (5.5 mg, 4.1 % isolated yield) but **13** was co-eluted with the monomers **1** and **2**.

14: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD-}d_4$) δ 7.59 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.41 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.36 (bs, 1H), 7.34 (bs, 1H), 7.13-7.17 (m, 2H), 7.03 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.93 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 5.46 (s, 1H), 5.44 (s, 1H), 3.33 (s, 6H), 3.28 (s, 6H); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz $\text{CD}_3\text{OD-}d_4$) δ 175.2, 158.9, 138.4, 137.6, 128.1, 127.1, 125.7, 124.7, 124.2, 123.6, 121.0, 119.2, 117.6, 116.9, 116.0, 113.2, 106.0, 105.4, 69.8, 48.1, 30.04, 30.00, 27.0; IR (neat) $\nu = 3010, 1653, 1587, 1458, 1397$ cm^{-1} ; HRMS (ESI-TOF) m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{N}_8\text{O}_2\text{Br}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 587.1519; found 587.1514.



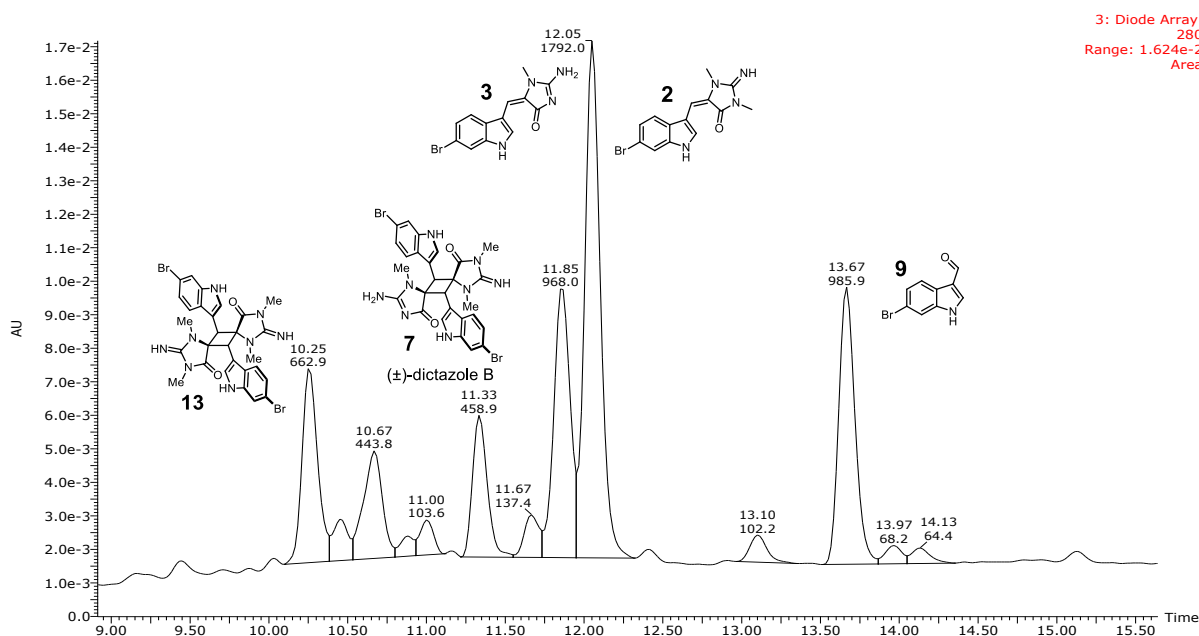
■ (\pm)-dictazole B (**7**) *rac-5R,6R,7R,12R-6,12-bis-(6-bromoindol-3-yl)-9-amino-2-imino-1,3,8-trimethyl-1,3,8,10-tetraaza-bispiro[4.1.4.1]dodecan-9-ene-4,11-dione*



To a solution of **2** (6 mg, 0.0125 mmol) and **3** (4 mg, 0.0125 mmol, 1 equiv.) in DMF (5 mL) was added $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ (8.2 mg, 0.0125 mmol). The mixture was then exposed to light at room temperature in an open crystallizing dish for 14 h. The dry residue obtained was then

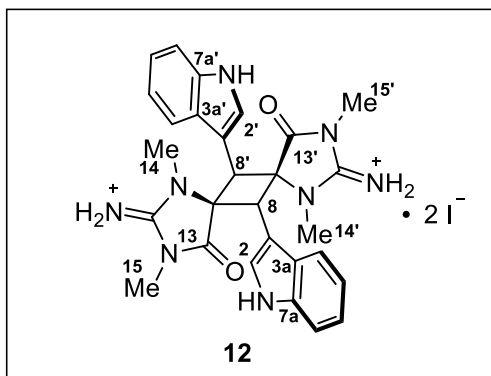
solubilized in methanol (2 mL) and pooled with 27 similar experiments (two runs with the above described photochemical device) and evaporated under reduced pressure. A representative HPLC-MS analysis of the batch shows a 14% conversion of **2** and **3** into (\pm)-dictazole B (**7**) (and **13**). Compound **7** was purified after centrifugation on preparative HPLC (15% to 35% MeCN in H₂O (0.2% HCOOH) over 30 min at 42 mL/min, R_T = 11.4 min) to yield (\pm)-dictazole B (**7**) (9.2 mg, 3.4 % isolated yield) as an amorphous solid.

7 (dictazole B): ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.34 (bs, 1H), 11.26 (bs, 1H), 7.62 (bs, 1H), 7.58 (bs, 1H), 7.50 (bs, 1H), 7.18 (bs, 1H), 7.15 (bd, *J* = 8.5, 1H), 7.07 (bd, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.96 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 6.78 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 5.24 (s, 1H), 5.04 (s, 1H), 3.31 (s, 3H), 3.27 (s, 3H), 2.97 (s, 3H); ¹³C-NMR (150 MHz DMSO-*d*₆) δ 187.7, 173.6, 170.0, 156.7, 136.5, 136.4, 125.8, 125.2, 124.0, 122.3, 121.9, 119.2, 118.2, 114.6, 114.5, 114.4, 105.7, 105.2, 68.3, 68.1, 45.6, 45.4, 29.6, 28.3, 27.0; IR (neat) ν = 3010, 1653, 1587, 1458, 1397 cm⁻¹; HRMS (ESI-TOF) *m/z* calcd for C₂₇H₂₅N₈O₂Br₂ [M+H]⁺ 651.0467; found 651.0464.



Compound 12

5*R ,6*R** ,7*R** ,12*R** -6,12-bis-(indol-3-yl)-2,9-diimino-1,3,8,10-tetramethyl-1,3,8,10-tetraaza-bispiro[4.1.4.1]dodecane-4,11-dione dihydroiodide**

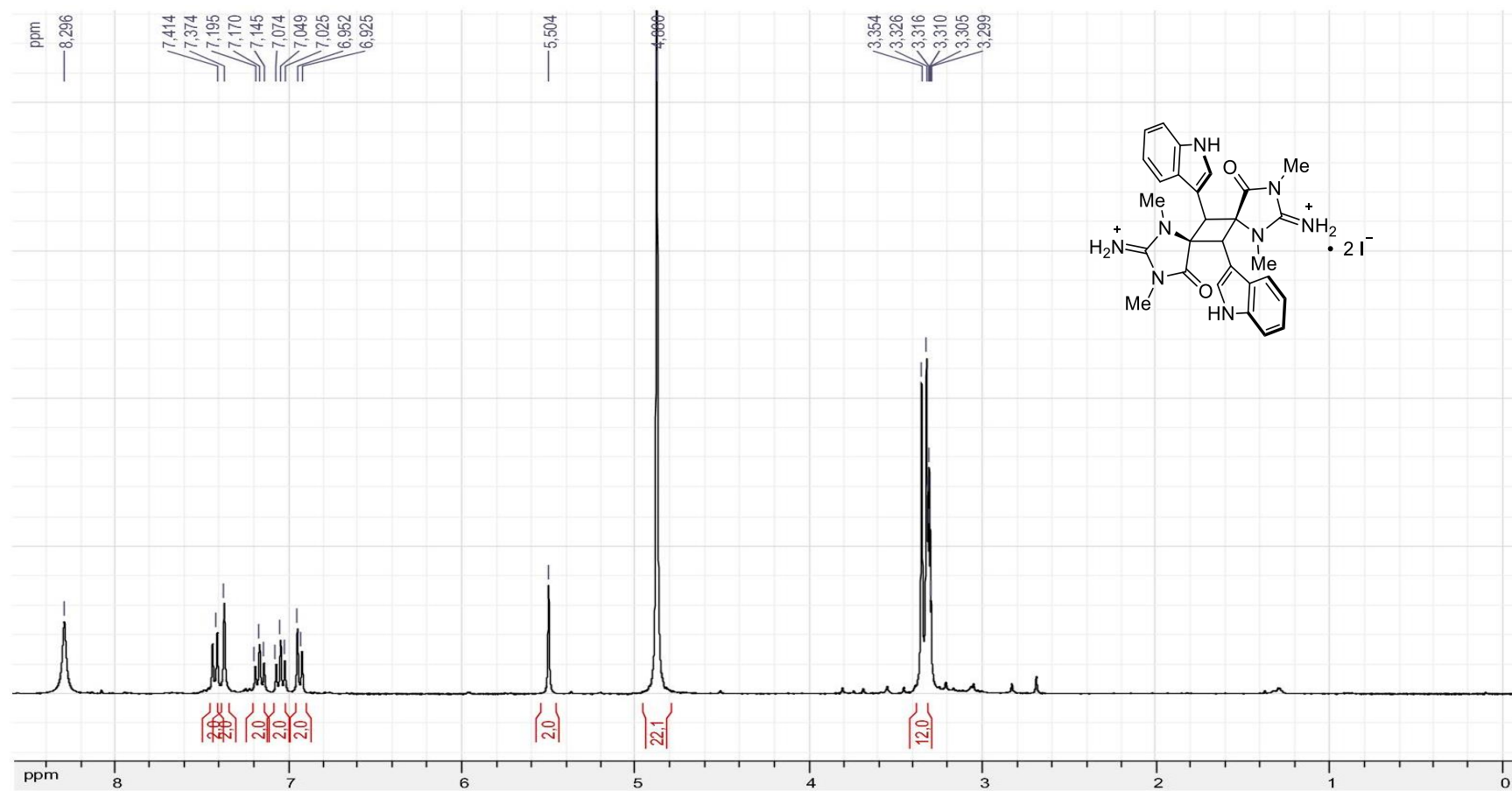


- Yellow amorphous solid
- HRMS (ESI-TOF) m/z $[M+H]^+$ 509.2419
- IR $\nu = 3142, 1707, 1659, 1589, 1460, 1388 \text{ cm}^{-1}$

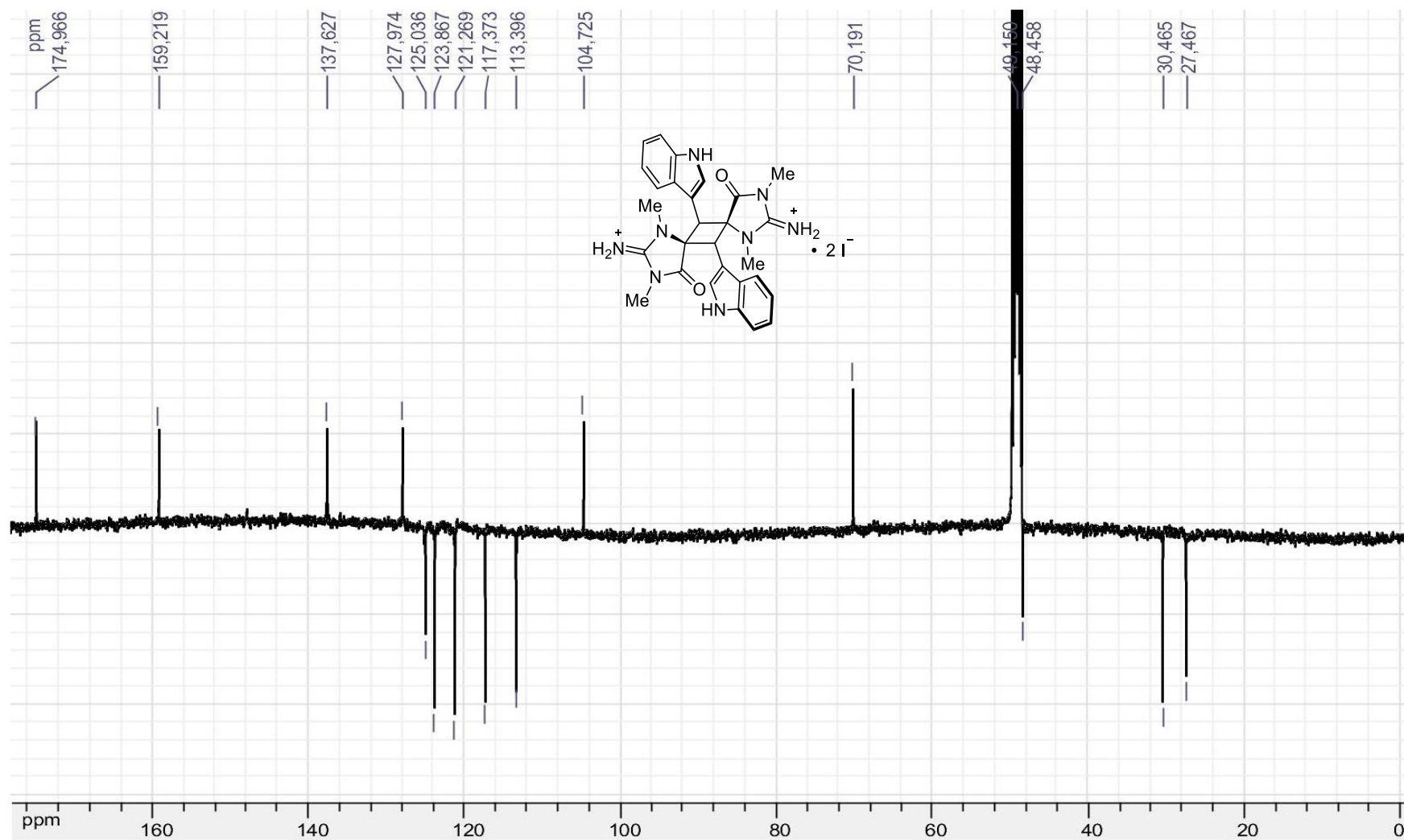
- $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD-}d_4$) and $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz $\text{CD}_3\text{OD-}d_4$)

Position	δ ^1H (ppm)	multiplicity	$J = \text{Hz}$	integration	δ ^{13}C (ppm)
2/2'	7.37	bs		2	125.0
3/3'					104.7
3a/3a'					127.9
4/4'	6.94	d	7.5	2	113.3
5/5'	7.04	t	7.5	2	121.7
6/6'	7.17	t	7.5	2	123.8
7/7'	7.43	d	7.5	2	113.3
7a/7a'					137.6
8/8'	5.50	s		2	48.4
9/9'					70.1
11/11'					159.2
13/13'					174.9
NCH ₃ -14/14'	3.35	s		6	30.4
NCH ₃ -15/15'	3.33	s		6	27.4

^1H NMR Spectrum (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}-d_4$) of **12**

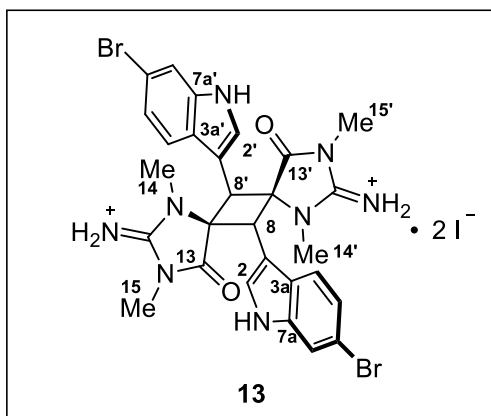


^{13}C NMR Spectrum (100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}-d_4$) of **12**



Compound 13

5*R,6*R**,7*R**,12*R**-bis-(6-bromoindol-3-yl)-2,9-diimino-1,3,8,10-tetramethyl-1,3,8,10-tetraaza-bispiro[4.1.4.1]dodecane-4,11-dione dihydroiodide**

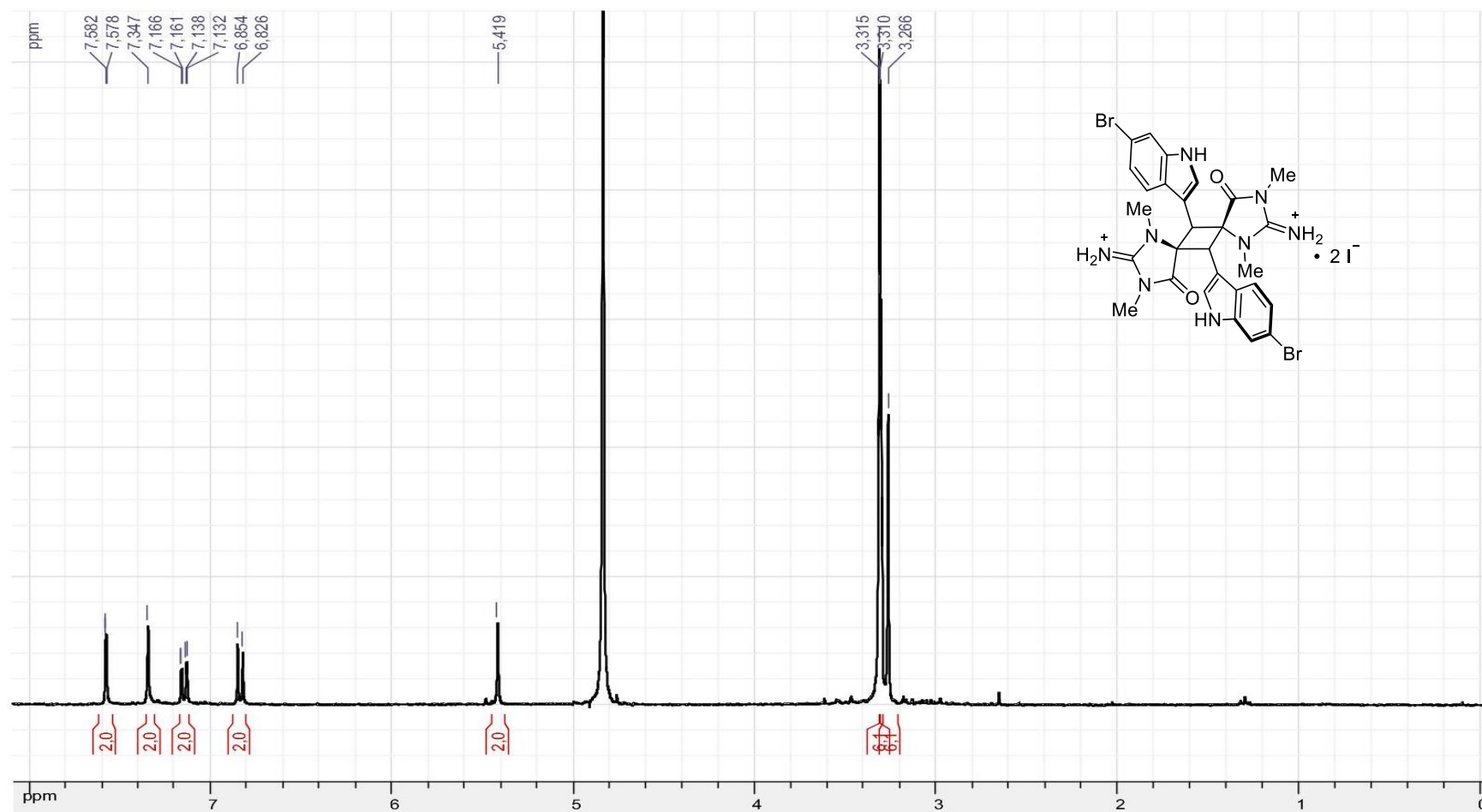


- Amorphous solid
- HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺ 665.0622
- IR ν = 3142, 1707, 1659, 1589, 1460, 1388 cm⁻¹

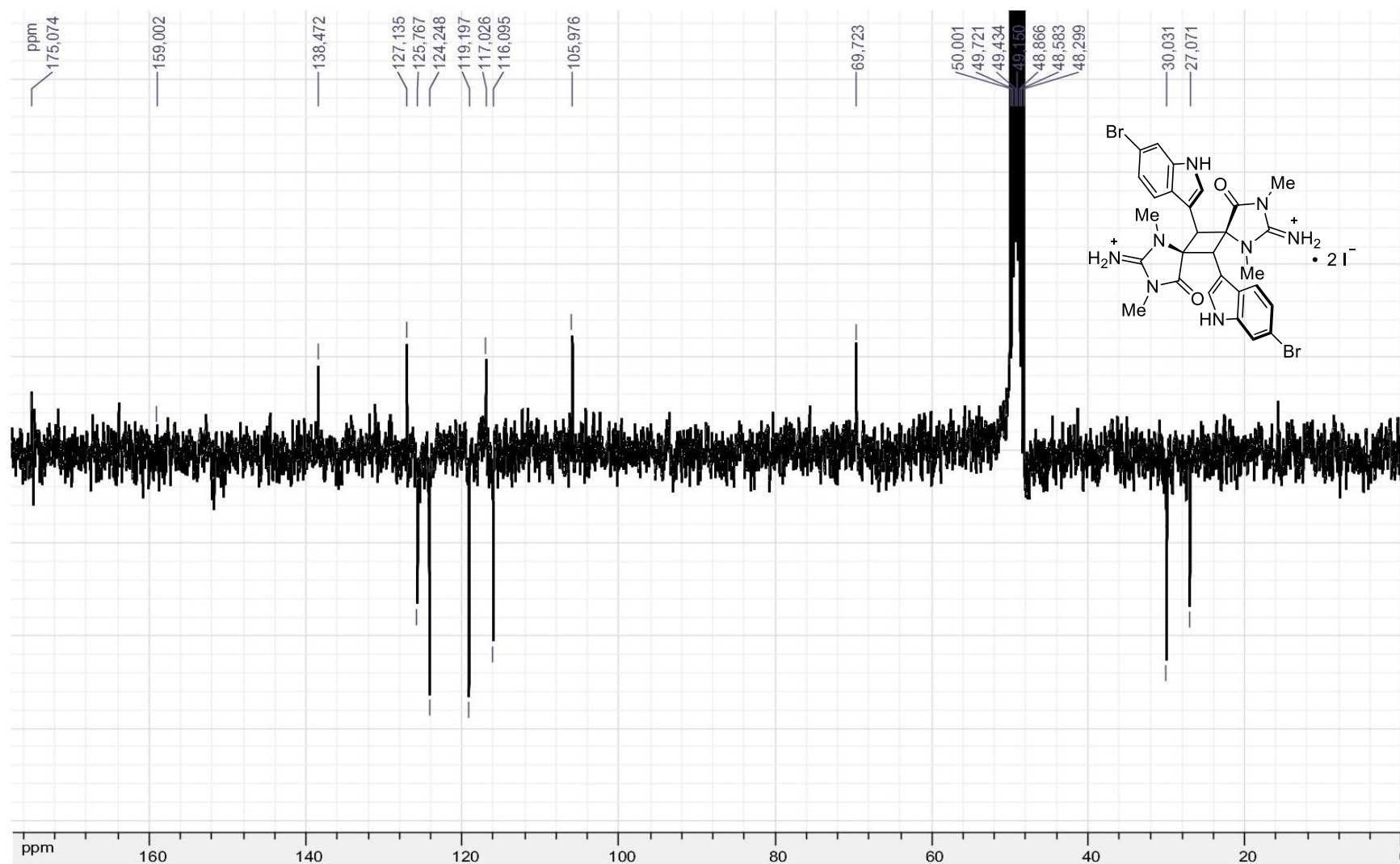
- ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD-*d*₄) and ¹³C-NMR (75 MHz CD₃OD-*d*₄)

Position	δ ¹ H (ppm)	multiplicity	J = Hz	integration	δ ¹³ C (ppm)
2/2'	7.34	bs		2	125.7
3/3'					105.9
3a/3a'					127.1
4/4'	6.84	d	8.4	2	119.1
5/5'	7.15	dd	8.4, 1.4	2	124.2
6/6'					117.0
7/7'	7.58	d	1.4	2	116.0
7a/7a'					138.4
8/8'	5.41	s		2	48.3
9/9'					69.7
11/11'					158.9
13/13'					175.0
NCH ₃ -14/14'	3.32	s		6	30.0
NCH ₃ -15/15'	3.27	s		6	27.0

^1H NMR Spectrum (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}-d_4$) of **13**

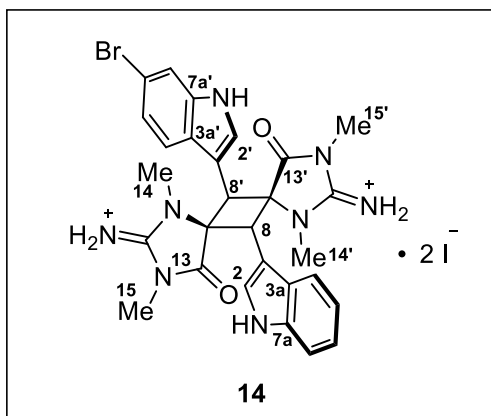


^{13}C NMR Spectrum (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}-d_4$) of **13**



Compound 14

rac-5*R**,6*R**,7*R**,12*R**-6-indol-3-yl-12-(6-bromoindol-3-yl)-2,9-diimino-1,3,8,10-tetramethyl-1,3,8,10-tetraaza-bispiro[4.1.4.1]dodecane-4,11-dione dihydroiodide



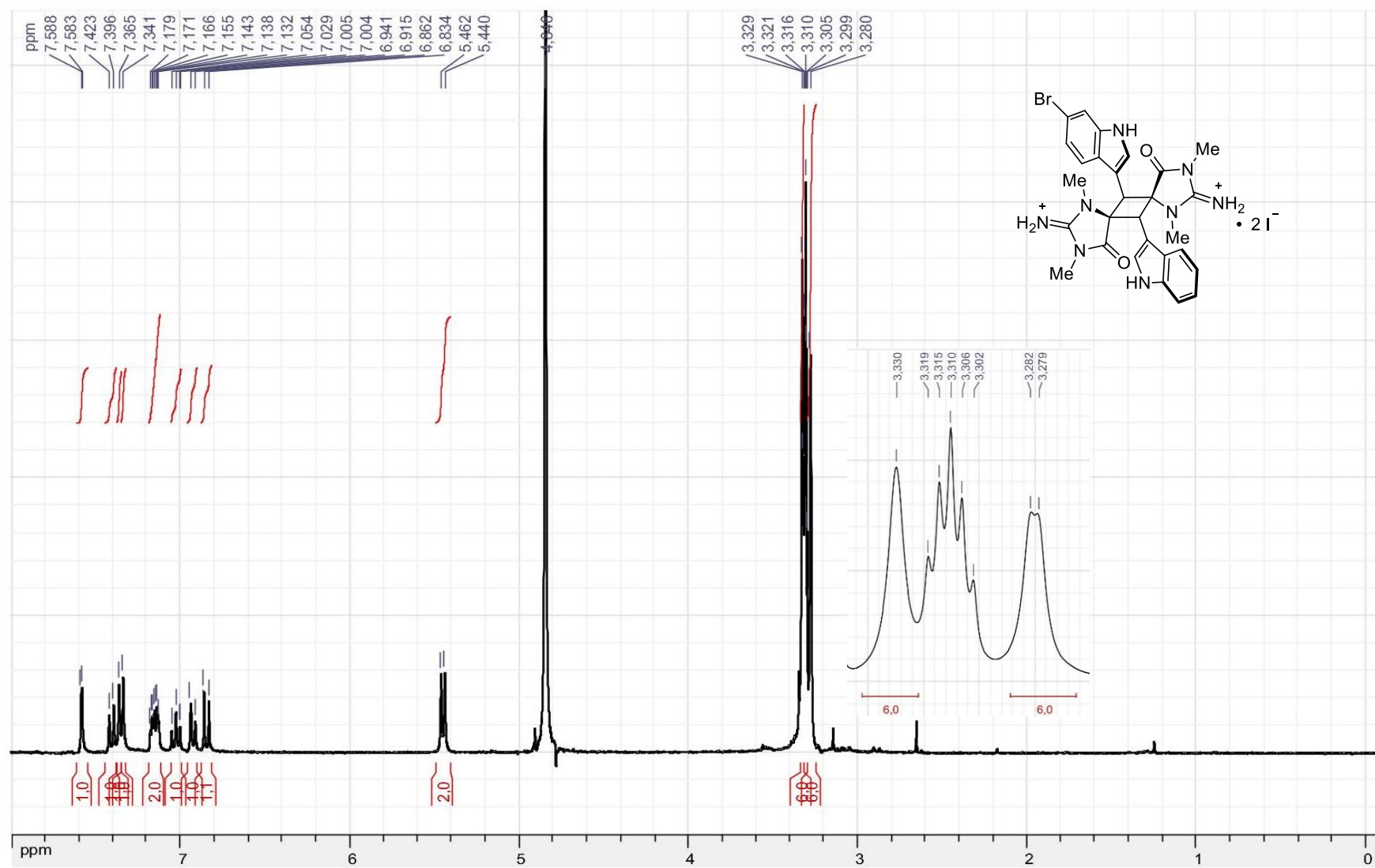
- Amorphous solid
- HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺ 587.1514
- IR ν = 3010, 1653, 1587, 1458, 1397 cm⁻¹

- ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD-*d*₄) and ¹³C-NMR (100 MHz CD₃OD-*d*₄)

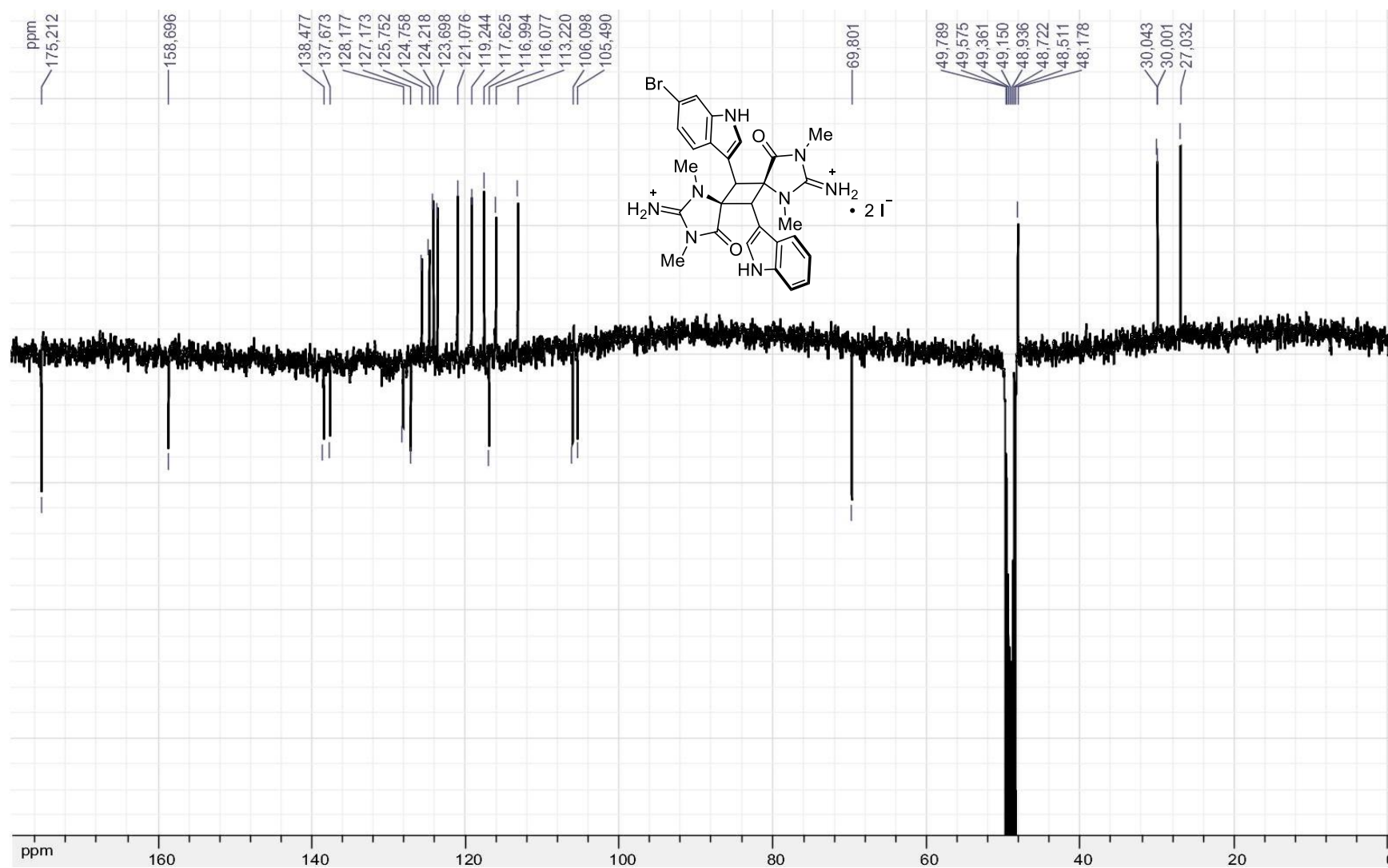
Position	δ ¹ H (ppm)	multiplicity	J = Hz	integration	δ ¹³ C (ppm)
2	7.34	bs		1	124.7
3					105.4
3a					128.1
4	6.93	d	8.4	1	117.6
5	7.03	t	7.6	1	121.0
6	7.15	t	7.6	1	123.6
7	7.41	d	8.4	1	113.2
7a					137.6
8	5.46	s		1	48.1
9/9'					69.8
11/11'					158.9
13/13'					175.2
NCH ₃ -14/14'	3.33	s		6	30.0
NCH ₃ -15/15'	3.28	s		6	27.0
2'	7.36	bs		1	125.7
3'					106.0
3a'					127.1

4'	6.84	d	8.4	1	119.2
5'	7.15	dd	8.4, 1.4	1	124.2
6'					116.9
7'	7.59	d	1.4	1	116.0
7a'					138.4
8'	5.44	s		1	48.1

¹H NMR Spectrum (300 MHz, CD₃OD-*d*₄) of **14**

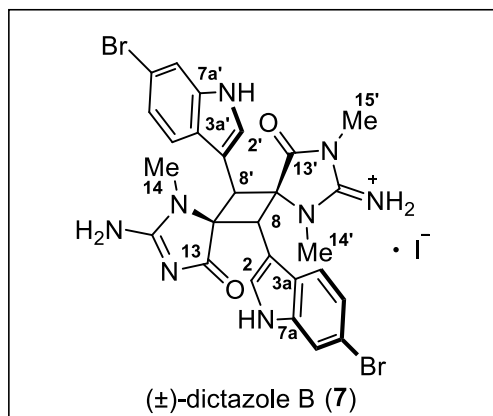


¹³C NMR Spectrum (100 MHz, CD₃OD-*d*₄) of **14**



(±)-dictazole B (7)

rac-5*R*,6*R*,7*R*,12*R*-6,12-bis-(6-bromoindol-3-yl)-9-amino-2-imino-1,3,8-trimethyl-1,3,8,10-tetraaza-bispiro[4.1.4.1]dodecan-9-ene-4,11-dione



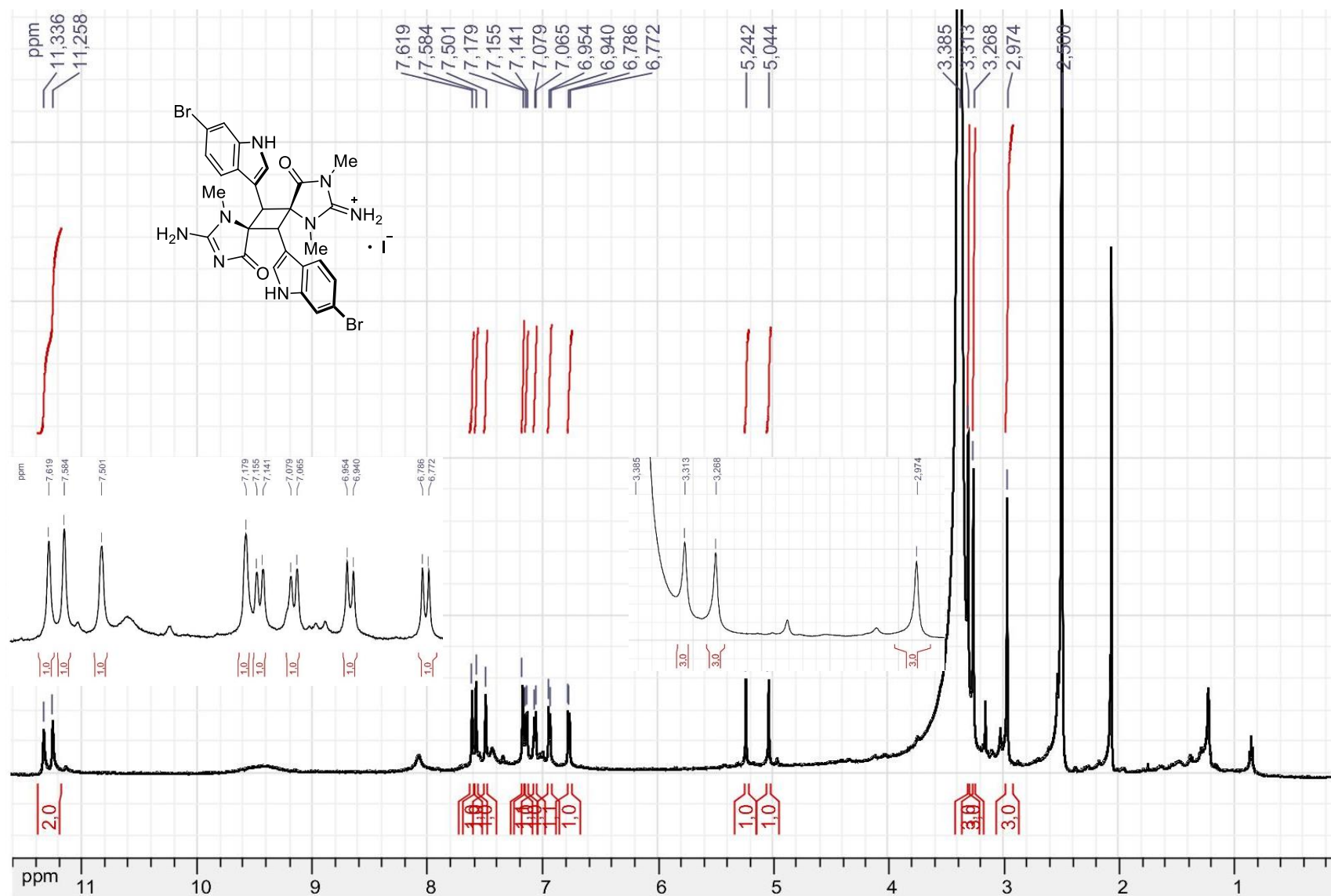
- Amorphous solid
- HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺ 651.0464
- IR ν = 3010, 1653, 1587, 1458, 1397 cm⁻¹

- ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) and ¹³C-NMR (150 MHz DMSO-*d*₆)

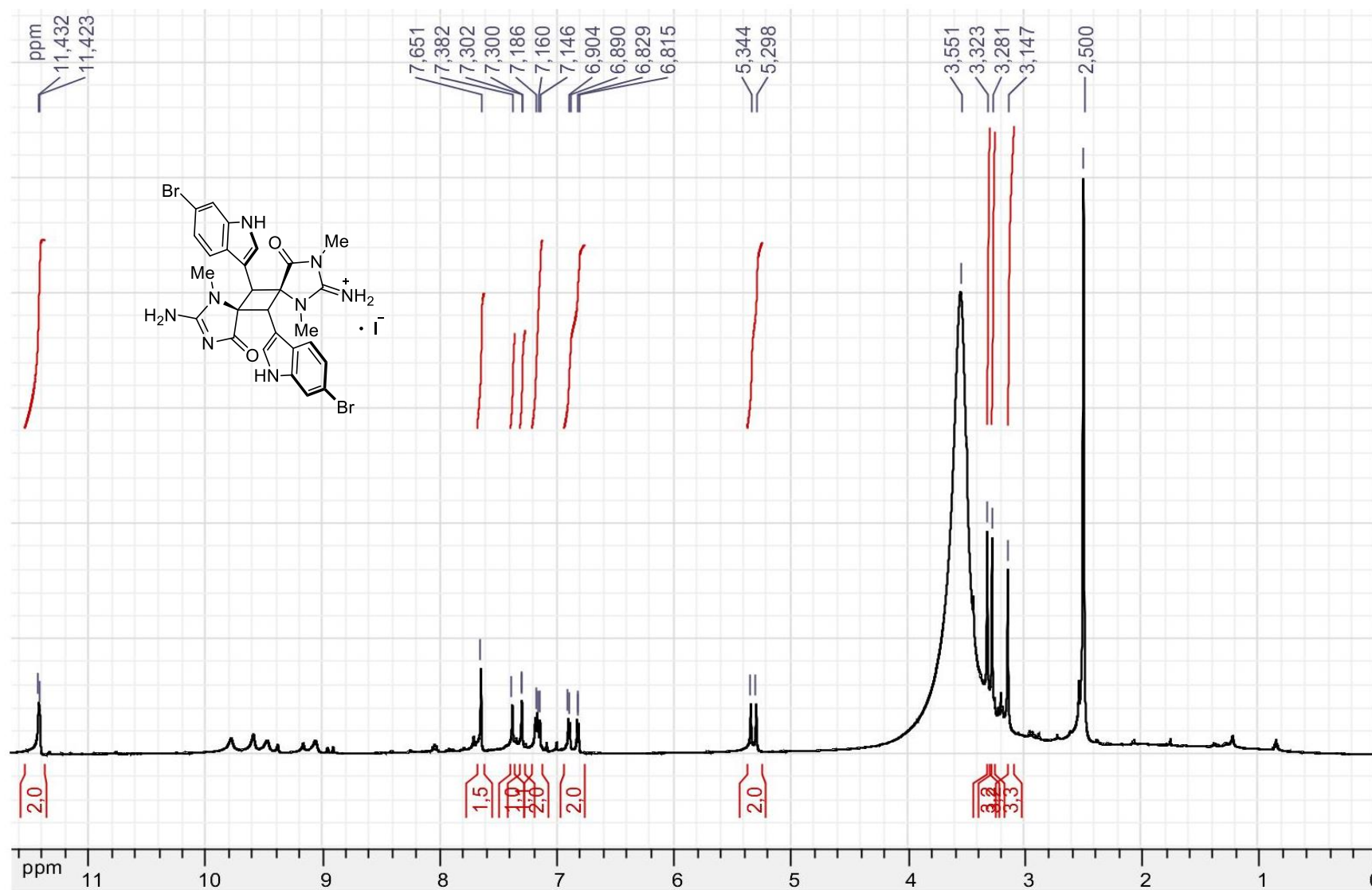
Position	δ ¹ H (ppm)	multiplicity	J = Hz	integration	δ ¹³ C (ppm)
NH-1	11.34	bs		1	
2	7.50	bs		1	125.3
3					105.2
3a/3a'					125.8
4	6.78	d	8.6	1	118.2
5	7.15	bd	8.5	1	122.3
6/6'					114.5
7	7.62	bs		1	114.6
7a					136.4
8	5.04	s		1	45.4
9					68.3
11					170.0
13					187.7
NCH ₃ -14	2.97	s		3	28.3
NH-1'	11.26	bs		1	
2'	7.18	bs		1	124.0
3'					105.7

4'	6.95	d	8.5	1	119.2
5'	7.07	bd	8.4	1	121.9
7'	7.58	bs		1	114.4
7a'					136.5
8'	5.24	s		1	45.6
9'					68.1
11'					156.7
13'					173.6
NCH ₃ -14'	3.31	s		3	29.6
NCH ₃ -15'	3.27	s		3	27.0

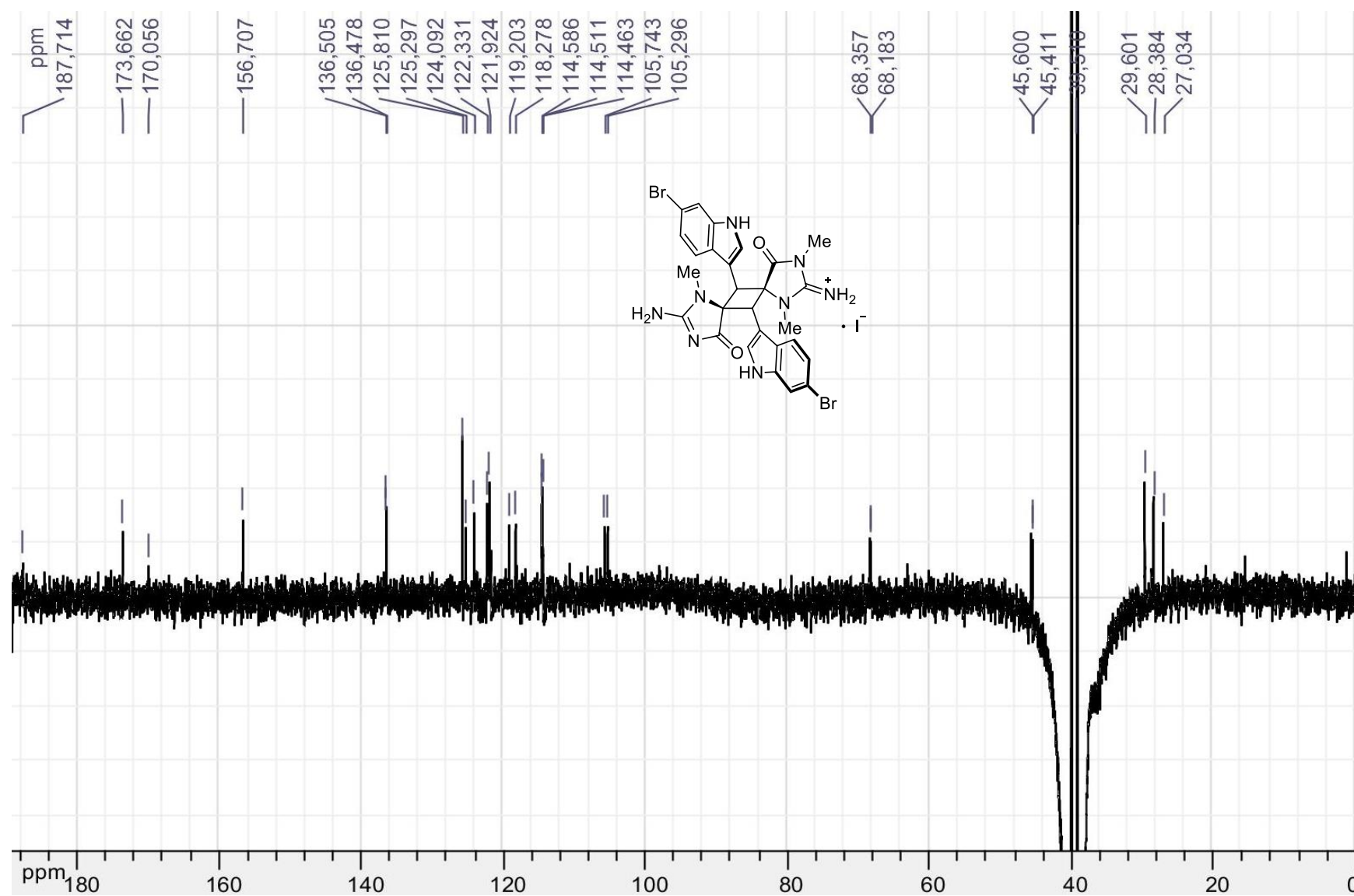
¹H NMR Spectrum (600 MHz, DMSO-*d*₆) of synthetic dictazole B (7)



¹H NMR Spectrum (600 MHz, DMSO-*d*₆) of synthetic dictazole B (7) (after acidification)



¹³C NMR Spectrum (150 MHz, DMSO-*d*₆) of synthetic dictazole B (**7**)



2.4. Conclusions synthétiques et perspectives biogénétiques.

Au cours de ce travail, aucune réaction de type Diels-Alder n'a été observée malgré les différentes options envisagées et le recours au sel de Ledwith-Weitz (**105**) notamment. En revanche, la photocycloaddition [2+2] a été réalisée avec succès à plusieurs reprises.

L'héritage photochimique de Ciamician³⁷ est colossal puisque cette branche de la chimie s'est considérablement développée au cours du siècle dernier et la synthèse totale n'est pas en reste à ce sujet.³⁸ L'adoption de l'approche photochimique nous a ici mené à la première synthèse totale du (\pm)-dictazole B (**138**) (Schéma 29). En effet, cet alcaloïde *pseudo*-symétrique se forme spontanément lorsque la 6-bromo-aplysinopsine (**118**) et la 2'-déméthyl-6-bromo-aplysinopsine (**139**) sont irradiés par de la lumière enrichie en UVB.^{39,40}

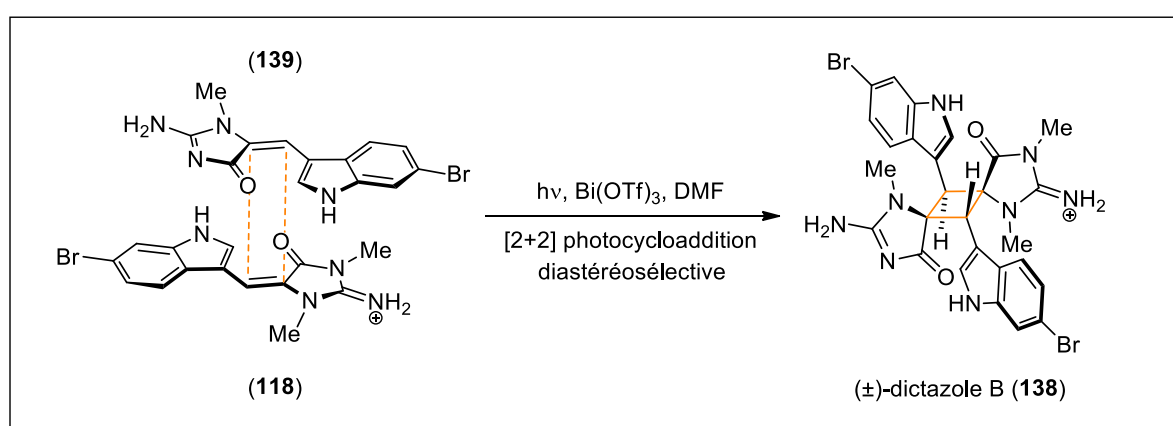


Schéma 29 : Synthèse biomimétique du (\pm)-dictazole B (**138**).

Reposant sur la seule réactivité des précurseurs monomériques précités, le biomimétisme de cette synthèse montre que les monomères portent toute l'information chimique requise pour générer leurs congénères dimériques. La diastéréosélectivité du processus ne fait que renforcer ces idées ainsi que la spontanéité probable de leur biogénèse.

La solubilité de ces molécules dans les solvants organiques classiques est très mauvaise en raison du grand nombre d'azotes libres ou salifiés qu'ils comprennent. On note ici la cohérence avec leur origine marine. Par conséquent, le DMF s'est avéré être un solvant idéal pour solubiliser ces substances. De plus, d'ajout de Bi(OTf)₃ a permis de restaurer la réactivité du composé **139**, bien moins réactif que ses analogues diméthylés tels que **117** ou **118** ayant servis à développer la méthodologie de synthèse.

Enfin, en dehors du dictazole B (**138**), une collection de cyclobutanes similaires a été obtenue au cours de l'étude. Certains homodimères tels que **140** ou **141** présentent un centre

³⁷ G. Ciamician; *THE PHOTOCHEMISTRY OF THE FUTURE*; *Science* **1912**, 36, 385-394.

³⁸ T. Bach and J. P. Hehn; *Photochemical Reactions as Key Steps in Natural Product Synthesis*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 1000-1045.

³⁹ S. A. Snyder; *Organic chemistry: Symmetrizing the unsymmetrical*; *Nature* **2010**, 465, 560-561.

⁴⁰ A. Skiredj, M. A. Beniddir, D. Joseph, K. Leblanc, G. Bernadat, L. Evanno and E. Poupon; *Spontaneous Biomimetic Formation of (\pm)-Dictazole B under Irradiation with Artificial Sunlight*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 6419-6424.

de symétrie alors que d'autres sont des hétérodimères *pseudo*-symétriques (comme **142** par exemple) (Figure 17).

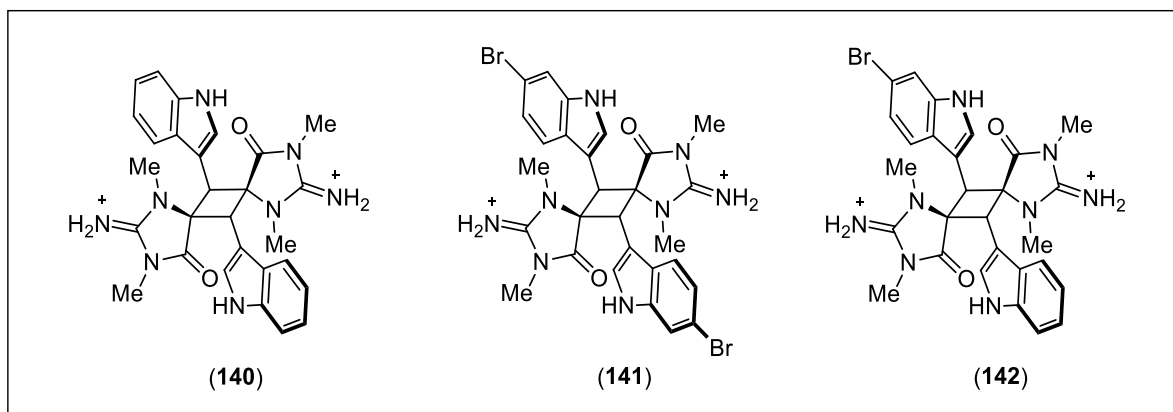


Figure 17 : Structures d'analogues synthétiques de dictazoles non naturels.

L'aisance avec laquelle ceux-ci sont obtenus pose la question de l'existence d'un espace chimique plus vaste, au sein duquel d'autres dictazoles naturels resteraient à découvrir.

3. Synthèse bio-inspirée du (\pm)-tubastrindole B, vers une cascade des aplysinopsines ?

3.1. L'hypothèse d'une expansion de cycle.

Outre le succès de la synthèse biomimétique du dictazole B (**138**), c'est l'échec de toutes les tentatives de Diels-Alder sur la série aplysinopsine qui a conduit à remettre en cause le scénario divergent initial. Tout du moins, la faisabilité synthétique de cette approche nous sembla alors hors de portée.

Ainsi, le scénario dit de la "cascade des aplysinopsines" gagnait en pertinence à ce stade. Le squelette II du groupe des dictazoles pouvait alors être considéré comme un précurseur du squelette III des cycloaplysinopsines (Figure 18).

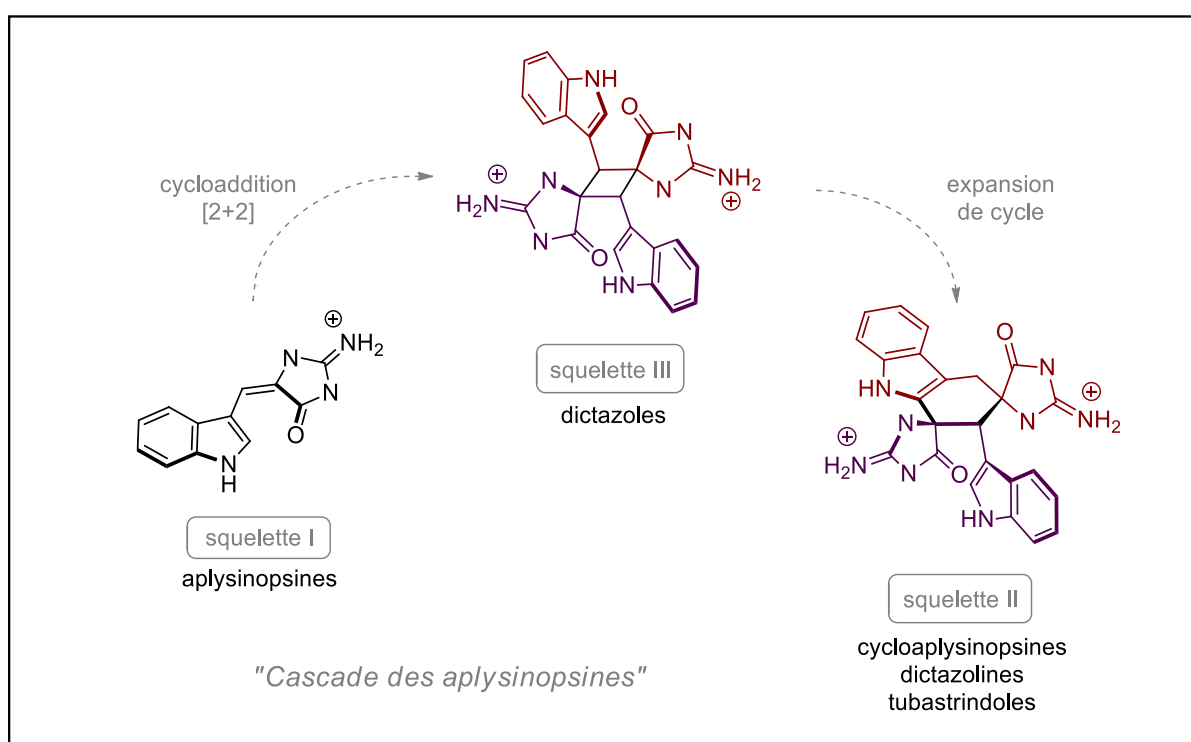


Figure 18 : Hypothèse biosynthétique de la "Cascade des aplysinopsines".

Si un tel parti pris était discutable d'un point de vue biosynthétique, des travaux antérieurs incitaient à poursuivre en ce sens. En effet, le groupe de Baran a réalisé en 2004 la conversion de la sceptrine (**143**) en agéliférine (**144**) (Figure 19).⁴¹ Ces deux composés appartiennent à la famille des alcaloïdes de type pyrrole-imidazole qui regroupe un grand nombre de substances apparentées.⁴² Ceux-ci peuvent être comparés aux dictazoles et aux cycloaplysinopsines en bien des points.

⁴¹ a) P. S. Baran, D. P. O'Malley and A. L. Zografos; *Sceptrin as a Potential Biosynthetic Precursor to Complex Pyrrole-Imidazole Alkaloids: The Total Synthesis of Ageliferin*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2674-2677. b) B. H. Northrop, D. P. O'Malley, A. L. Zografos, P. S. Baran and K. N. Houk; *Mechanism of the Vinylcyclobutane Rearrangement of Sceptrin to Ageliferin and Nagelamide E*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4126-4130.

⁴² a) A. Al Mourabit and P. Potier; *Sponge's Molecular Diversity Through the Ambivalent Reactivity of 2-Aminoimidazole: A Universal Chemical Pathway to the Oroidin-Based Pyrrole-Imidazole Alkaloids and Their*

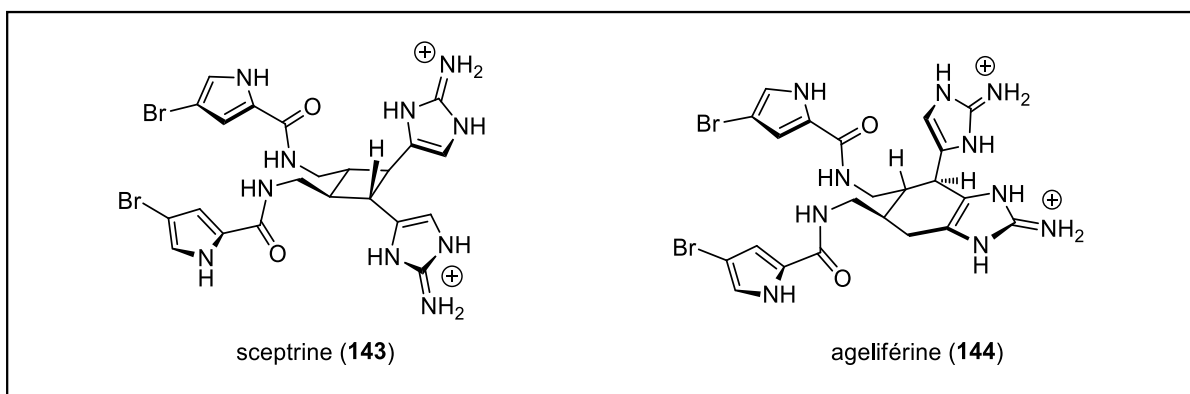


Figure 19 : Structures de la sceptrine (143) et de l'ageliférine (144).

Tout d'abord, ce sont toutes des substances alcaloïdiques d'origine marine présentant des groupements guanidine. Les problèmes de solubilités posés par ces métabolites très hydrophiles sont donc semblables. Par ailleurs, la sceptrine (143) est construite autour d'un cyclobutane central vraisemblablement formé par la dimérisation de deux unités hyménidine (145) (Schéma 30).

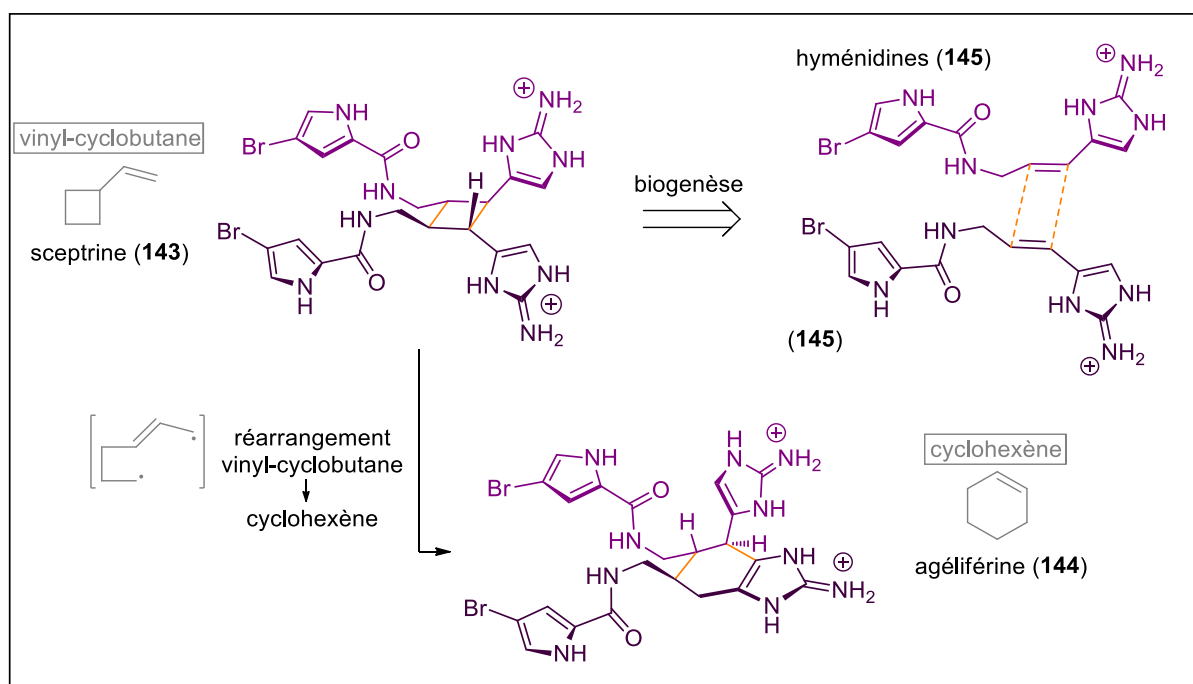


Schéma 30 : Origine et réarrangement de la sceptrine (143).

La transformation de la sceptrine (143) en ageliférine (144) repose enfin sur le réarrangement intramolécule du motif vinyl-cyclobutane en cyclohexène correspondant. Une expansion de cycle similaire permettrait de former le noyau tétrahydrocarbazole du squelette II des cycloaplysinsines à partir d'intermédiaires de type dictazoles.

Palau'amine Congeners; Eur. J. Org. Chem. **2001**, 2001, 237-243. b) A. Al-Mourabit, M. A. Zancanella, S. Tilvi and D. Romo; *Biosynthesis, asymmetric synthesis, and pharmacology, including cellular targets, of the pyrrole-2-aminoimidazole marine alkaloids; Nat. Prod. Rep.* **2011**, 28, 1229-1260.

Inspirés par ces travaux et une hypothèse de cascade biogénétique, l'objectif du travail était désormais de réaliser la première synthèse totale des alcaloïdes du sous-groupe des cycloaplysinopsines (squelette II). La stratégie bio-inspirée choisie consistait à réaliser l'expansion cyclique d'un composé de type dictazole (squelette III), alors réduit au statut d'intermédiaire biosynthétique. L'intérêt dépasse ici le cadre de la synthèse totale puisqu'un succès serait synonyme de complétion de la "cascade des aplysinopsines". La portée biosynthétique de l'ensemble de l'étude serait alors significative.

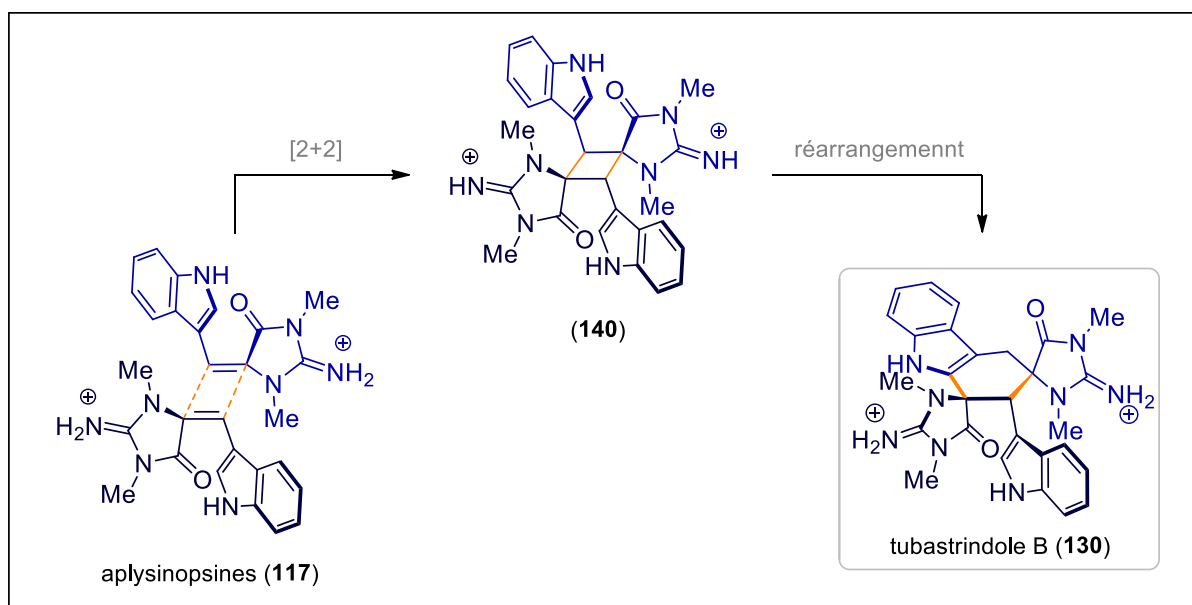
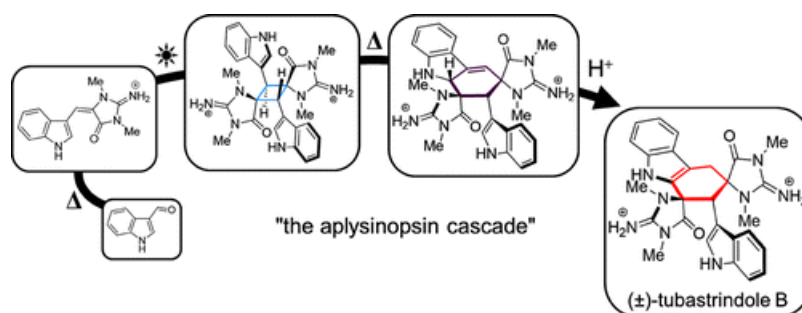


Schéma 31 : Stratégie de synthèse du tubastrindole B (130).

Afin de simplifier la synthèse, la cible choisie est le tubastrindole B (130). En principe, cet homodimère apparent d'aplysinopsine (117) serait obtenu par le biais du cyclobutane centrosymétrique (140) (Schéma 31).

A Unified Bioinspired "Aplysinopsin Cascade": Total Synthesis of (\pm)-Tubastrindole B and Related Biosynthetic Congeners

Adam Skiredj,^{†,§} Mehdi A. Beniddir,^{†,§} Delphine Joseph,[†] Karine Leblanc,[†] Guillaume Bernadat,[‡] Laurent Evanno,^{*,†} and Erwan Poupon^{*,†}



Abstract :

Applying a biomimetic approach, the first total synthesis of (\pm)-tubastrindole B is reported herein. This work features a ring-expansion cascade of a dictazole-type precursor into cycloaplysinopsin-type congeners. Moreover, the isolation of a transient biogenetic intermediate represents a milestone in the biosynthetic understanding of this family of marine alkaloids.

A structurally diverse set of marine natural products isolated from several sponges and stony corals has been described in recent decades and collectively defined as the “aplysinopsins alkaloid family”.¹ Three types of natural skeletons, with clearly distinct levels of complexity, make up this broad family of unique indole and creatinine containing marine natural products: (i) aplysinopsin-type monomeric structures (e.g. aplysinopsin (**1**) and brominated analogs **2** and **3** - Figure 1);² (ii) tetrahydrocarbazole-type dimeric compounds, i.e. cycloaplysinopsins (e.g. tubastrindole C (**4**), tubastrindole E (**5**), dictazoline C (**6**) and tubastrindole B (**7**))^{3,4} and (iii) the latest discovered skeleton of intriguing spiranic cyclobutanes (dictazole A (**8**) – for which the relative configuration is not fully assigned - and dictazole B (**9**)).⁵

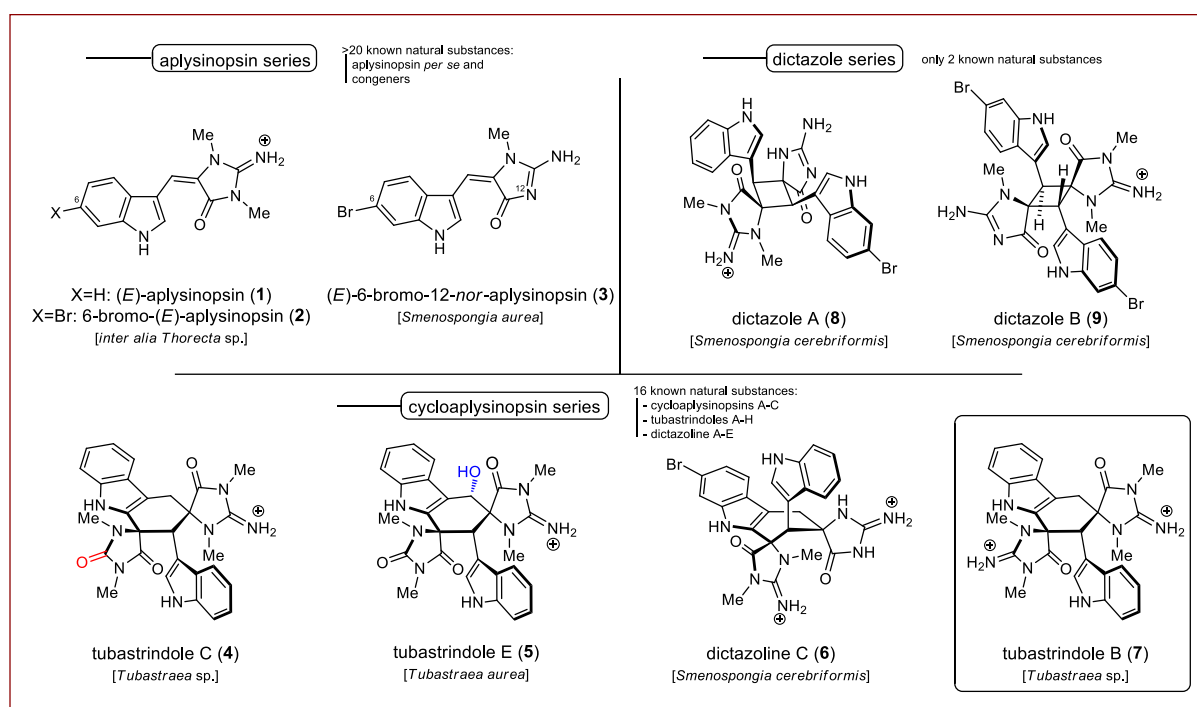
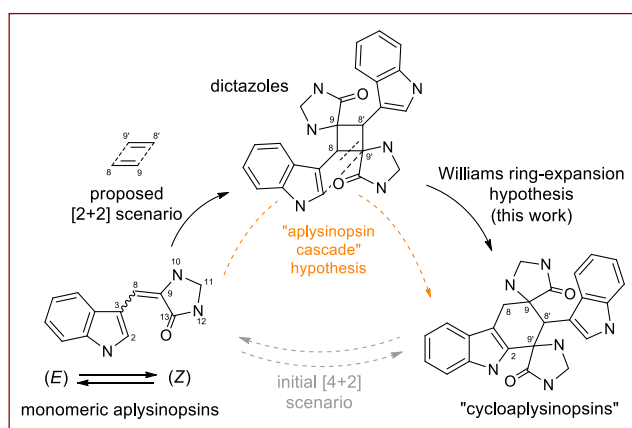


Figure 1 : Overview of the existing aplysinopsin skeletons with selected examples.

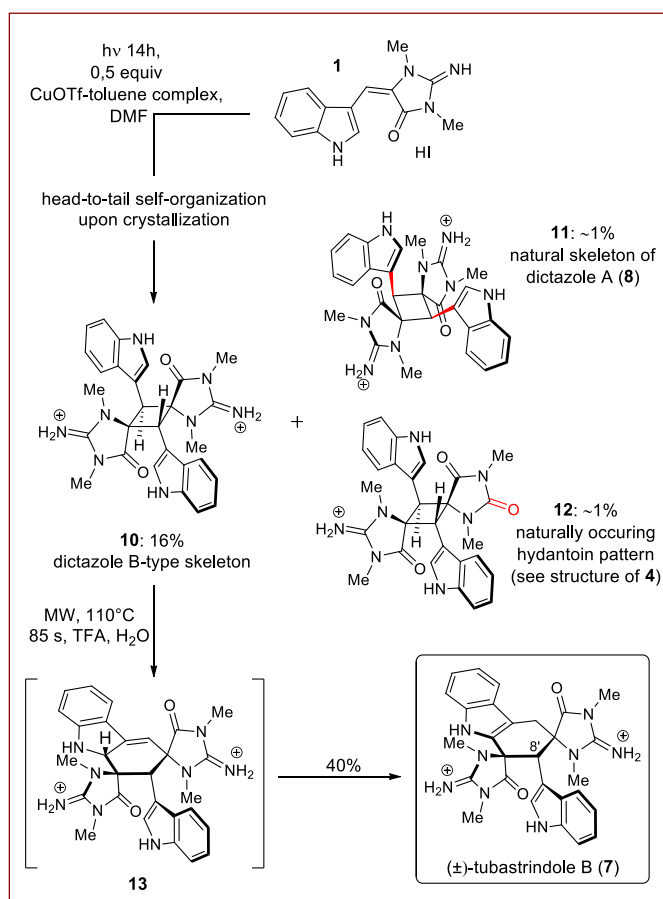


Scheme 1: Biosynthetic Hypothesis of the “Aplysinopsins Cascade”.

Since the very first isolation of aplysinopsin (**1**) in 1977 by Wells *et al.*,^{2a} the discovery of their tetrahydrocarbazole-type congeners in 2003^{3a,4a} suggested an obvious Diels-Alder biosynthetic scenario, a possibility discussed by Mancini *et al.*^{3a} However, the recent isolation (in 2010) of dictazole cyclobutanes by Williams *et al.*⁵ identified a crucial puzzle piece that led to the proposed biosynthetic scenario being reformulated (Scheme 1). Indeed, rather reminiscent of the epic story of pyrrole-imidazole

alkaloids,⁶ and the beautiful conversion of sceptrin into ageliferin reported by Baran *et al.*,⁷ dictazoles may be presented as plausible intermediates towards their tetrahydrocarbazole counterparts by ring-expansion but with, up to now, piecemeal experimental evidence due to an obvious lack of natural dictazoles.^{5,8} In this paper, we report for the first time the total synthesis of a representative of the cycloaplysinopsin-type natural products namely tubastrindole B (**7**). We also disclose the total synthesis of a key biosynthetic intermediate and its spontaneous transformation which provide strong clues for a unified biosynthetic scenario.

In order to undertake the envisioned ring-expansion step, more than 1 g of cyclobutane **10** was produced by photochemical [2+2] homodimerization of aplysinopsin (**1**) under similar conditions to those previously reported for the biomimetic synthesis of (\pm)-dictazole B (**9**).^{9,10} Taking advantage of this large-scale process, two minor compounds (**11**, **12**) of biosynthetic interest have also been accumulated, isolated, and characterized in addition to **10**, isolated by preparative HPLC in 16% yield (Scheme 2). Interestingly, resulting from a slight erosion of diastereoselectivity of the [2+2] process in the presence of CuOTf, compound **11**, isolated in variable but low ratios, appeared to be a diastereomer of **10** with a *syn* configuration for both indoles. This *syn* configuration is comparable to the one observed in dictazole A (**8**) and could suggest that such alkaloids are formed more or less spontaneously in confined compartments of living cells. This point has been further strengthened since compound **12** possesses a hydantoin in place of one of the creatinine moieties (such as found in tubastrindole C (**4**)) as the result of a spontaneous hydrolysis.



Scheme 2 : Expedient Synthesis of (\pm)-tubastrindole B via Biosynthetically Relevant Precursors.

Starting from **10**, we then embarked on evaluating the missing biosynthetic link by considering dictazole-type cyclobutanic skeletons as penultimate precursors of tetrahydrocarbazole-containing cycloaplysinopsins. In that way, compound **10** indeed constituted an ideal precursor for studying such a ring-expansion and could permit an easy access to tubastrindole B (**7**).¹¹ Screening of temperature, duration, and additives including both Lewis and Brønsted acids were necessary to overcome initial disappointing results.¹²

Ultimately, total conversion of cyclobutane **10** has been reached in water with TFA heated at 110 °C for 85 s under microwave irradiation (Scheme 2).

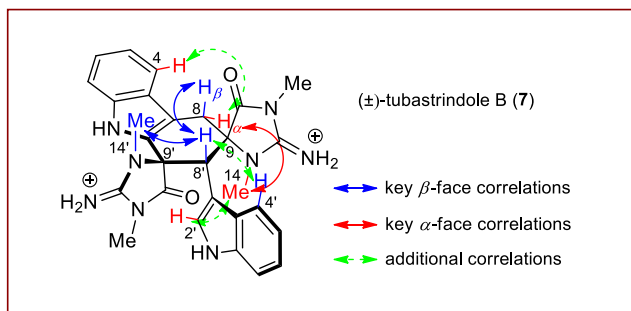
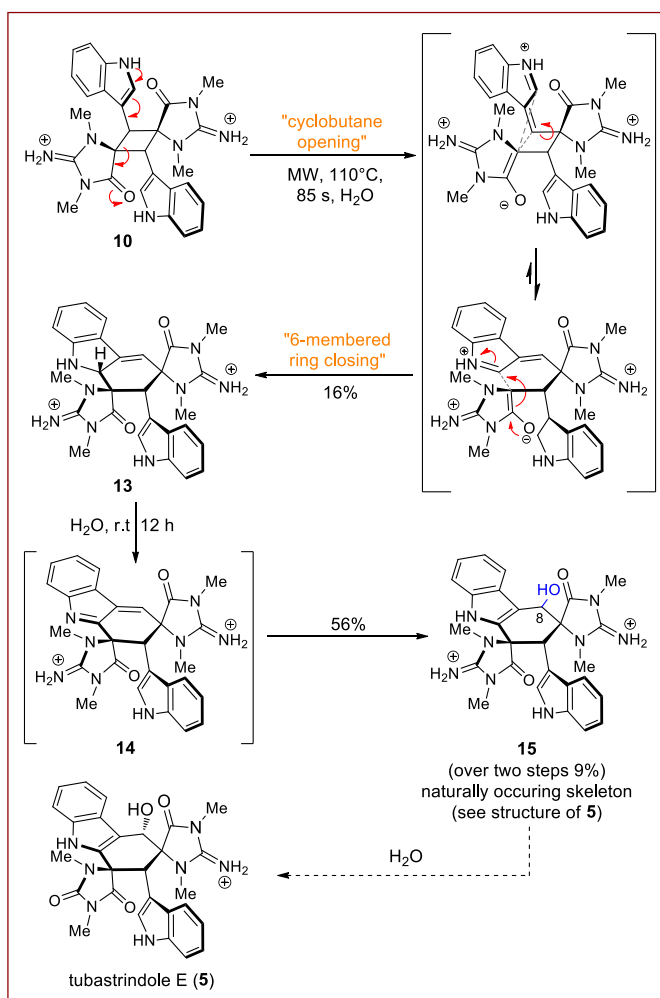


Figure 2 : Key NOESY correlations of **7**.

Satisfyingly, tubastrindole B (**7**) has been isolated in 40% yield along with cycloreversed monomeric **1**. Key NOESY correlations between H-8'/H-8 β , H-14' and H-8 α /H-14 hydrogen atoms clearly established the relative configurations of C-9', C-8' and C-9 positions as awaited for **7** (Figure 2) confirming the first total synthesis of (\pm)-tubastrindole B (**7**) in only two steps

(from aplysinopsin **1**) and also the first total synthesis of such natural products.¹³ To our delight, the ring-expansion cascade also occurs with full retention of configuration as no other stereoisomer is formed during the process. Given that this cascade only leads to one pair of enantiomers and in light of the experimental conditions, mechanistic hypotheses can be put forward and an ionic general mechanism appears plausible to us.¹⁴ For this singular intramolecular rearrangement, two underlying selective processes are needed to reach that level of selectivity. The precise outcome of the ring-opening step, in terms of regio- and stereoselectivity, seems to be driven by the *anti* relative 1,2-position of the indole heterocycle and the carboxamide group at each side of the bond undergoing the cleavage. Hence, no C-8' epimer is formed during the ring expansion.¹⁵ In a second event, the free methylcreatinine moiety is reacting with complete retention of configuration: the *anti* relative configuration of the creatinine nuclei is preserved and no *syn* isomer is observed. This final Mannich-type C–C bond formation could lead to the 1,2,3,9a-tetrahydro-9*H*-carbazole intermediate (**13**) signaling the entry into the



Scheme 3 : Synthesis of the Postulated Biosynthetic Intermediate **13** and Its Spontaneous Conversion into **15**, Access to Another Naturally Occurring Skeleton.

1,2,3,9a-tetrahydro-9*H*-carbazole intermediate (**13**) signaling the entry into the

cycloaplysinopsins subgroup. A final tautomerism restores the integrity of the indole nucleus of tubastrindole B (**7**).

The importance of TFA may be rationalized assuming at least two distinct roles: (i) it could activate the indole/carbonyl system in cyclobutane **10**, consequently lowering the activation energy of the bond-breaking step, and (ii) it could provide a proton source for the final isomerization of the double bond in intermediate **13** to **7**.¹⁶ This last point was particularly important and had practical applications. Indeed, when the same reaction was performed under microwave conditions in water but without any addition of TFA, the postulated biosynthetic intermediate **13** was isolated and fully characterized (Scheme 3).¹⁷

The formation of this biosynthetic intermediate **13** further led to a crucial discovery that widened the scope of comprehension of the biosynthetic links between the different representatives. Indeed, performing HPLC/MS analysis of the reaction mixture of **13** (without TFA) after 12 h at room temperature revealed new outcomes. Whereas biosynthetic intermediate **13** mostly disappeared, its spontaneous conversion in water led to a new compound **15** which has been isolated and characterized.¹⁸

Structural determination revealed the formation of compound **15**, which displays a site-specific hydroxylation at position 8. Spontaneous oxidation of **13** into **14**, which now contains a suitable Michael acceptor motif for the straightforward addition of a water molecule, can be postulated for such an outcome. The formation of hydroxylated analogue **15** provides clear and tangible clues as to the biosynthetic pathway by which tubastrindole E (**5**) (for which synthetic access would consist in a selective hydrolysis of one guanidine subunit of **15** into the corresponding urea) and related 8-hydroxylated cycloaplysinopsins are formed. Noteworthy, intermediate **13** does not spontaneously evolve into tubastrindole B (**7**) without proton assistance.

In conclusion, the present work demonstrates, for the first time, by bioinspired total synthesis, the interlinkages in the aplysinopsin group of marine natural products. Under simple reaction conditions that may have all their biosynthetic pendants, we were able to chemically point out all types of skeletons in the metabolomic map of marine organisms displaying the "aplysinopsin cascade".¹⁹ In terms of total synthesis, we have succeeded with a highly atom-economic strategy in the first total synthesis of (\pm)-tubastrindole B (**7**) as well as a direct precursor of tubastrindole E (**5**).

References

- (1) (a) Bialonska, D.; Zjawiony, J. *Mar. Drugs* **2009**, *7*, 166-183. (b) Boyd, E. M.; Sperry, J. J. *Chem. N. Z.* **2010**, *74*, 109-112.
- (2) (a) Kazlauskas, R.; Murphy, P. T.; Quinn, R. J.; Wells, R. J. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 61-64. (b) Cachet, N.; Loffredo, L.; Vicente, O. O.; Thomas, O. P. *Phytochem. Lett.* **2013**, *6*, 205-208.

(3) (a) Mancini, I.; Guella, G.; Zibrowius, H.; Pietra, F. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8757-8762. (b) Meyer, M.; Delberghe, F.; Liron, F.; Guillaume, M.; Valentin, A.; Guyot, M. *Nat. Prod. Res.* **2009**, *23*, 178-182.

(4) (a) Iwagawa, T.; Miyazaki, M.; Okamura, H.; Nakatani, M.; Doe, M.; Takemura, K. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2533-2535. (b) Iwagawa, T.; Miyazaki, M.; Yokogawa, Y.; Okamura, H.; Nakatani, M.; Doe, M.; Morimoto, Y.; Takemura, K. *Heterocycles* **2008**, *75*, 2023-2028. (c) Balansa, W.; Islam, R.; Gilbert, D. F.; Fontaine, F.; Xiao, X.; Zhang, H.; Piggott, A. M.; Lynch, J. W.; Capon, R. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 4420-4425. (d) Dai, J.; Jiménez, J. I.; Kelly, M.; Barnes, S.; Lorenzo, P.; Williams, P. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 1287-1290.

(5) Dai, J.; Jiménez, J. I.; Kelly, M.; Williams, P. G. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 2399-2402.

(6) Wang, X.; Ma, Z.; Wang, X.; De, S.; Ma, Y.; Chen, C. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 8628-8639.

(7) (a) Baran, P. S.; O'Malley, D. P.; Zografos, A. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2674-2677. (b) Baran, P. S.; Li, K.; O'Malley, D. P.; Mitsos, C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 249-252. (c) O'Malley, D. P.; Li, K.; Maue, M.; Zografos, A. L.; Baran, P. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4762-4775. (d) Northrop, B. H.; O'Malley, D. P.; Zografos, A. L.; Baran, P. S.; Houk, K. N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4126-4130. (e) Recent works of Molinski *et al.* led to crucial progress in the understanding of pyrrole-imidazole alkaloids biosynthesis: Stout, E. P.; Morinaka, B. I.; Wang, Y.-G.; Romo, D.; Molinski, T. F. *J. Nat. Prod.* **2012**, *75*, 527-530. and Stout, E. P.; Wang, Y.-G.; Romo, D.; Molinski, T. F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 4877-4881.

(8) In ref 5, conversion of dictazole A into dictazoline C was attempted on a 100 µg scale in H₂O (200 °C, 1 min) and led to ε% formation of a compound comparable to dictazoline C by HPLC/MS analysis.

(9) For the one-step, multigram-scale synthesis of **1** from 3-formylindole and methylcreatinine, the procedure has been adapted from ref 4c and reported in ref 10a.

(10) (a) Skiredj, A.; Beniddir, M. A.; Joseph, D.; Leblanc, K.; Bernadat, G.; Evanno, L.; Poupon, E. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 6419-6424. (b) Photodimerization conditions: a thin film of **1** in DMF is exposed to artificial UV-enriched light in the presence of copper(I) triflate-toluene complex. (c) Gutekunst, W. R.; Baran, P. S. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 2430-2452.

(11) An example, to a certain extent comparable to the present work by Wenkert, McPhail *et al.*, attracted our attention as a visibly fortuitous ring expansion of a cyclobutanic oxindole (CH₂Cl₂, MgSO₄ (300 equiv), room temperature, 110 h; see: Wenkert, E.; Moeller, P. D. R.; Piettre, S. R.; McPhail, A. T. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 3404-3409.

(12) At the temperatures described by Baran *et al.* (195 °C for sceptrin, ref 7a,b) and Williams *et al.* (200 °C for dictazole A, ref 11), high degradation of **10** into monomer **1** was observed with minute amounts of rearranged products. Therefore, milder conditions had to be found.

(13) Additional NOESY correlations between H-2'/H-14 and H-4'/H-8' also provided conformational data for the free indole nucleus orientation.

(14) Mostly in accordance with the mechanism suggested by Wenkert, McPhail *et al.* in the yuehchukene series, see ref 11.

(15) See the Supporting Information for detailed mechanistic hypotheses and DFT data.

(16) Tan, B.; Hernández-Torres, G.; Barbas, C. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 12354-12357.

(17) See the Supporting Information for NMR 4J coupling features concerning **13**.

(18) See the Supporting Information for comparative LC/MS chromatograms at $t = 0$ h and $t = 12$ h showing the conversion of **13** into **15**.

(19) See the full biosynthetic cascade realized (in this work) in the Supporting Information.

3.3. Partie expérimentale.

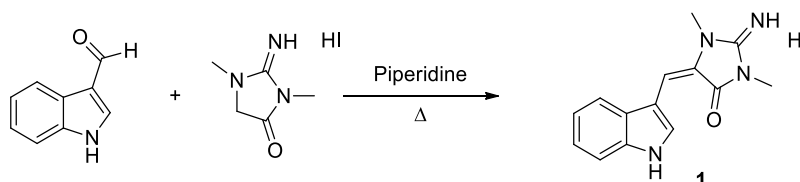
General experimental procedures

IR spectra were recorded with a Vector 22 Bruker spectrometer. The NMR spectra were recorded on Bruker AM-300 (300 MHz), AM-400 (400 MHz) and AV-600 (600 MHz) apparatus using CD₃OD, DMSO-*d*₆ and DMF-*d*₇ as solvents. The solvent signals were used as references. Multiplicities are described by the following abbreviations: s = singlet, d = doublet, t = triplet, td = triplet of doublet, m = multiplet, b = broad. HRESIMS and LC/MS were run on a Thermoquest TLM LCQ Deca ion-trap spectrometer with a XBridge analytical C₁₈ column (150 × 2.1 mm; 3.5 μm, Waters) and a preparative (150 × 19 mm, 5 μm, Waters). Sunfire preparative C₁₈ columns (150 × 30 mm; i.d. 5 μm, Waters) was used for preparative HPLC separations using a Waters Delta Prep equipped with a binary pump (Waters 2525), a UV-visible diode array detector (190-600 nm, Waters 2996). Microwave irradiation was performed using a CEM Discover Labmate microwave oven using 5 mL pressurized vials. Temperature measurements of microwave experiments were done by external infrared fiber optic probe.

All other chemicals and solvents were purchased from Aldrich and SDS (France) and required no further purification.

Experimental procedure for the preparation of 1

■ (*E*)-5-[(1*H*-indol-3-yl)methylidenyl]-2-imino-1,3-dimethylimidazolidin-4-one hydroiodide (**1**)



1,3-Dimethyl-2-imino-4-imidazolidinone hydroiodide (5.80 g, 22.7 mmol, 1.0 equiv.) and indole-3-carboxaldehyde (3.30 g, 22.7 mmol, 1.0 equiv.) were refluxed in piperidine (30 mL) for 4 hours. After cooling, the reaction mixture is poured into 180 mL of water. After stirring for 30 minutes the precipitate is filtered off, washed with water and dried. The product **1** crystallizes from methanol/water (1:1) as fine, yellow needles (3.63 g, 9.5 mmol, 42%).

1: ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.46 (bs, 1H), 8.70 (s, 1H), 7.86 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.42 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.15 (td, *J* = 7.5, 1.4 Hz, 1H), 7.10 (td, *J* = 7.4, 1.4 Hz, 1H), 6.43 (s, 1H), 3.25 (s, 3H), 3.06 (s, 3H); ¹³C-NMR (75 MHz DMSO-*d*₆) δ 162.2, 150.5, 135.4, 127.6, 127.2, 126.4, 121.6, 119.3, 118.0, 111.6, 108.7, 102.6, 26.8, 24.8; IR (neat) ν = 3281, 1707, 1630, 1640, 1420, 1388 cm⁻¹; HRMS (ESI-TOF) *m/z* calcd for C₁₄H₁₅N₄O [M+H]⁺ 255.1246; found 255.1290.

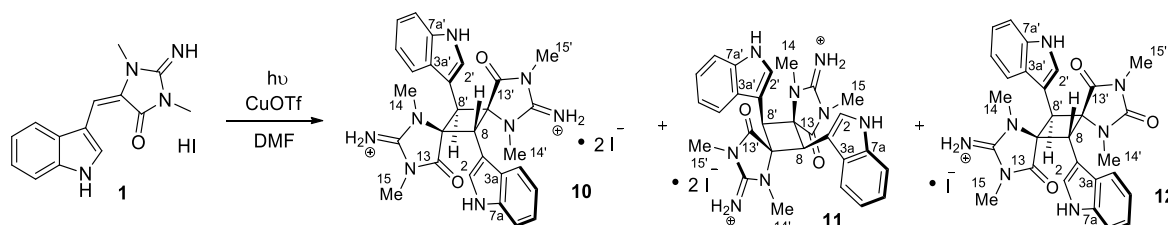
General procedure for the photodimerization experiments

Monomers (0.025 mmol) were solubilized in DMF (5 mL) into an open crystallizing dish (8 cm diameter) in order to provide a thin film (1 mm thick) of solution (5 mM). Solution was allowed to concentrate to dryness (as DMF evaporation during the process is needed for efficient dimerization) with a homogeneous exposure to light (see description of the device below). The solution was exposed to light during 14 h at room temperature under normal air atmosphere and the dried residue obtained was controlled by LC/MS analysis (mobile phase MeCN/H₂O (5/95 to 100/0 + 0.1 % HCOOH) over 20 min). Numerous experiments were carried out simultaneously covering all the available surface of the photochemical device. The batches coming from multiple irradiating runs were then pooled, centrifugated and purified by reverse-phase HPLC. The centrifugation step is required due to the low solubility of the products prior to purification.

Experimental procedure for the preparation of the cyclobutane dimers

■ (5*R**,6*R**,7*R**,12*R**)-bis-(indol-3-yl)-2,9-diimino-1,3,8,10-tetramethyl-1,3,8,10-tetraaza-bispiro[4.1.4.1]dodecane-4,11-dione dihydroiodide (**10**) and co-isolated analogs.

Dimers **10**, **11** and **12**



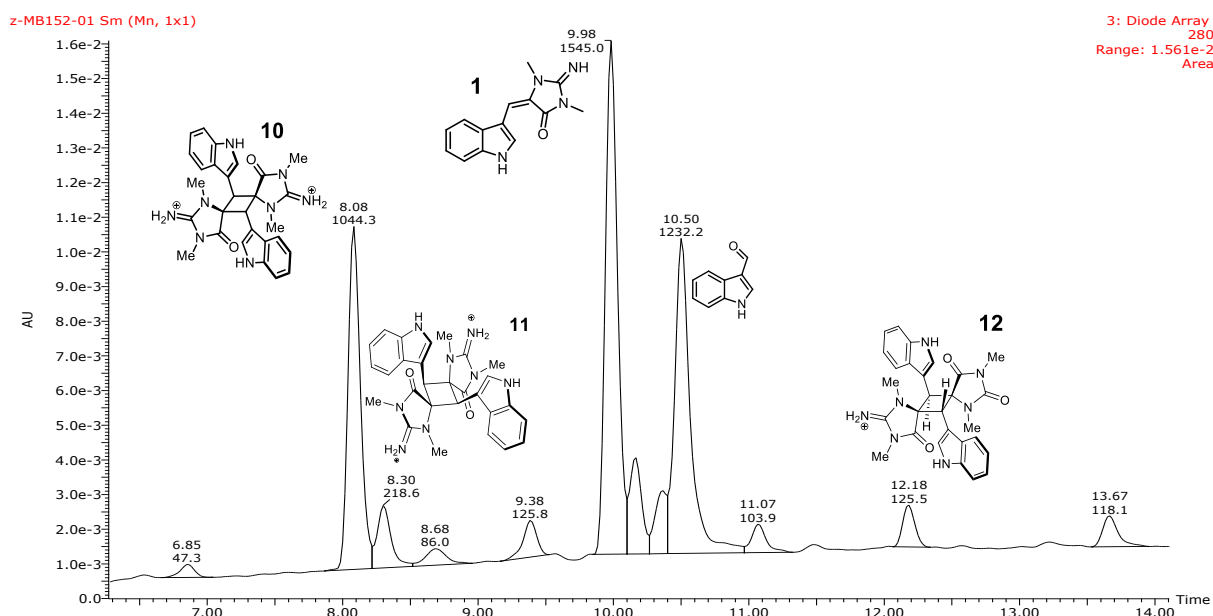
Starting with a 5 mM solution of 1.073 g of **1** in DMF, the batch has been divided into 113 small experiments as follow: to a solution of **1** (9.5 mg, 0.025 mmol) in DMF (5 mL) was added CuOTf-toluene complex (6.5 mg, 0.0125 mmol). The mixture was then exposed to light at room temperature in an open crystallizing dish for 14 h. The dry residue obtained was then solubilized in methanol (2 mL) and pooled with 112 similar experiments (eight runs with the above described photochemical device) and evaporated under reduced pressure. The dry residue was purified, after centrifugation, by preparative HPLC (2% to 30% MeCN in H₂O (0.2% HCOOH) over 10 min at 42 mL/min, Sunfire) to give **10** ($R_T = 5.7$ min, 168 mg, 15.7 %), **11** ($R_T = 6.0$ min, 12 mg, 1.1 %) and **12** ($R_T = 11.6$ min, 7 mg, 0.7 %). A representative LC/MS analysis of the batches shows the conversion of **1** into **10**, accompanied by **11** and **12** in the following proportions: 75:16:9 for **10**, **11** and **12** respectively.

10: ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.43 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.37 (bs, 2H), 7.17 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.04 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 6.94 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 5.50 (s, 2H), 3.35 (s, 6H), 3.33 (s, 6H);

^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 174.9, 159.2, 137.6, 127.9, 125.0, 123.8, 121.2, 117.3, 113.3, 104.7, 70.1, 48.4, 30.4, 27.4; IR (neat) ν = 3142, 1707, 1659, 1589, 1460, 1388 cm^{-1} ; HRMS (ESI-TOF) m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{29}\text{N}_8\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 509.2413; found 509.2419.

11: ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.39 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.18-7.13 (m, 4H), 7.04 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 6.98 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 5.25 (s, 2H), 3.64 (s, 3H), 3.30 (s, 3H), 3.21 (s, 3H), 3.13 (s, 3H); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 176.1, 172.3, 159.6, 157.7, 137.7, 127.8, 124.9, 123.7, 121.1, 117.6, 113.2, 104.9, 71.8, 70.1, 47.7, 32.2, 27.8, 27.4, 26.7; IR (neat) ν = 3142, 1707, 1659, 1589, 1460, 1388 cm^{-1} ; HRMS (ESI-TOF) m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{29}\text{N}_8\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 509.2411; found 509.2408.

12: ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMF-}d_7$) δ 11.23 (bs, 2H), 7.48-7.42 (m, 4H), 7.11 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.04-6.98 (m, 4H), 5.46 (s, 1H), 5.40 (s, 1H), 3.37 (bs, 3H), 3.28 (s, 3H), 3.15 (bs, 3H), 2.90 (s, 3H); ^{13}C -NMR (100 MHz, $\text{DMF-}d_7$) δ 175.8, 175.1, 156.7, 155.9, 137.0, 128.1, 124.3, 124.2, 122.6, 122.5, 120.08, 120.03, 117.8, 117.7, 112.69, 112.65, 106.9, 68.4, 67.9, 47.0, 46.4, 26.0, 27.9, 26.1, 25.3; IR (neat) ν = 3142, 1769, 1707, 1670, 1589, 1460, 1388 cm^{-1} ; HRMS (ESI-TOF) m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{N}_7\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 510.2254; found 510.2252.

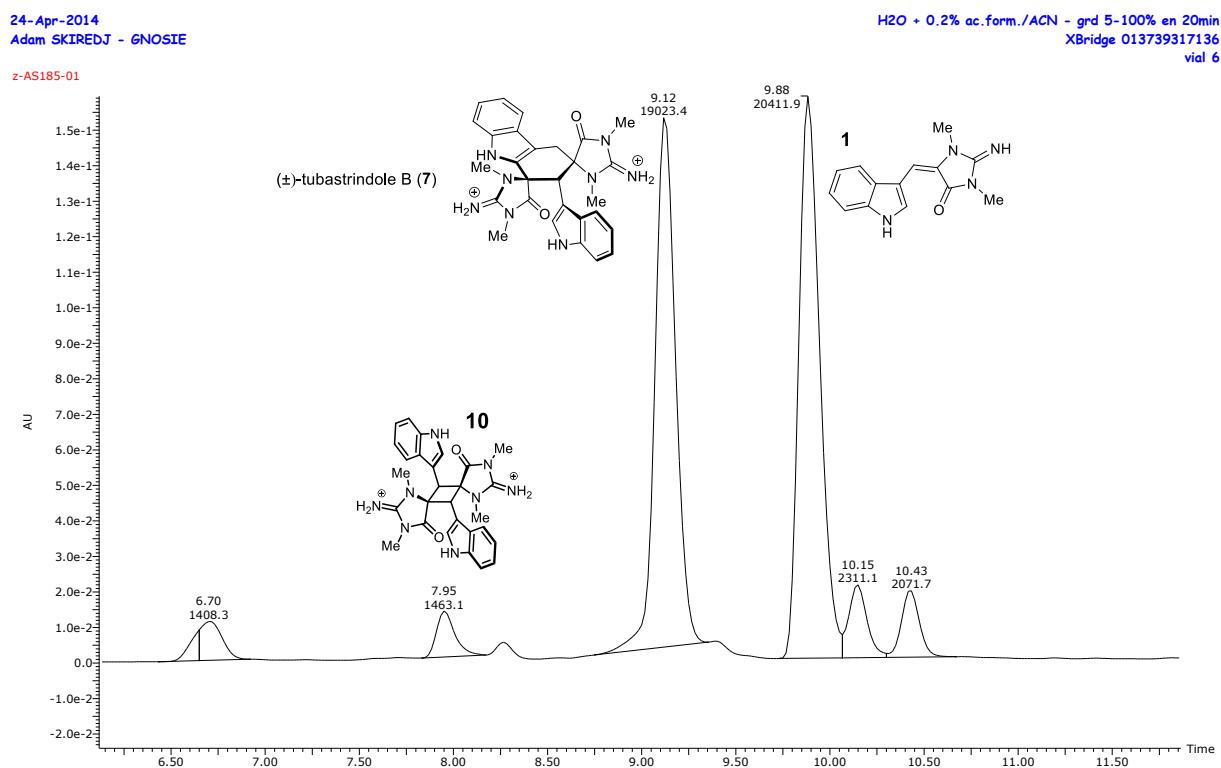


Experimental procedure for the ring expanded products

■ Preparation of (±) tubastrindole B (7):

A solution of cyclobutane **10** (186 mg, 2.43×10^{-1} mmol) in H₂O (56 mL) with an excess of TFA (5 v/v %), was heated under microwave (300 W) to 110 °C (divided into 43 × 1.3 mL small experiments) and maintained at that temperature for 85 seconds (see for heating profile). The solvent was evaporated under reduced pressure to obtain a yellowish dry residue. The dry residue was quickly purified by preparative HPLC (2% to 20% MeCN in H₂O (0.2% HCOOH) over 10 min at 42 mL/min, Sunfire) to give **7** ($R_T = 8.8$ min, 74 mg, 40 %). A representative LC/MS analysis of the batches shows the conversion of **10** into **7** and **1** in a 1:1.1 ratio.

7: ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.66 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.41 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7.31 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.19 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.13 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.05 (s, 1H), 4.56 (s, 1H), 3.81 (d, $J = 17.5$ Hz, 1H), 3.62 (d, $J = 17.5$ Hz, 1H), 3.32 (s, 3H), 3.12 (s, 3H), 2.91 (s, 3H), 2.67 (s, 3H); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 174.4, 172.8, 161.5, 158.8, 139.6, 136.7, 128.9, 126.1, 126.6, 125.8, 124.9, 124.1, 123.9, 121.5, 121.4, 120.1, 118.2, 114.8, 113.08, 113.0, 104.1, 72.3, 72.2, 44.8, 33.1, 28.3, 27.7, 26.7, 26.5; IR (neat) $\nu = 3318, 1769, 1690, 1589, 1460, 1388$ cm⁻¹; HRMS (ESI-TOF) m/z calcd for C₂₈H₂₉N₈O₂ [M+H]⁺ 509.2413; found 509.2415.



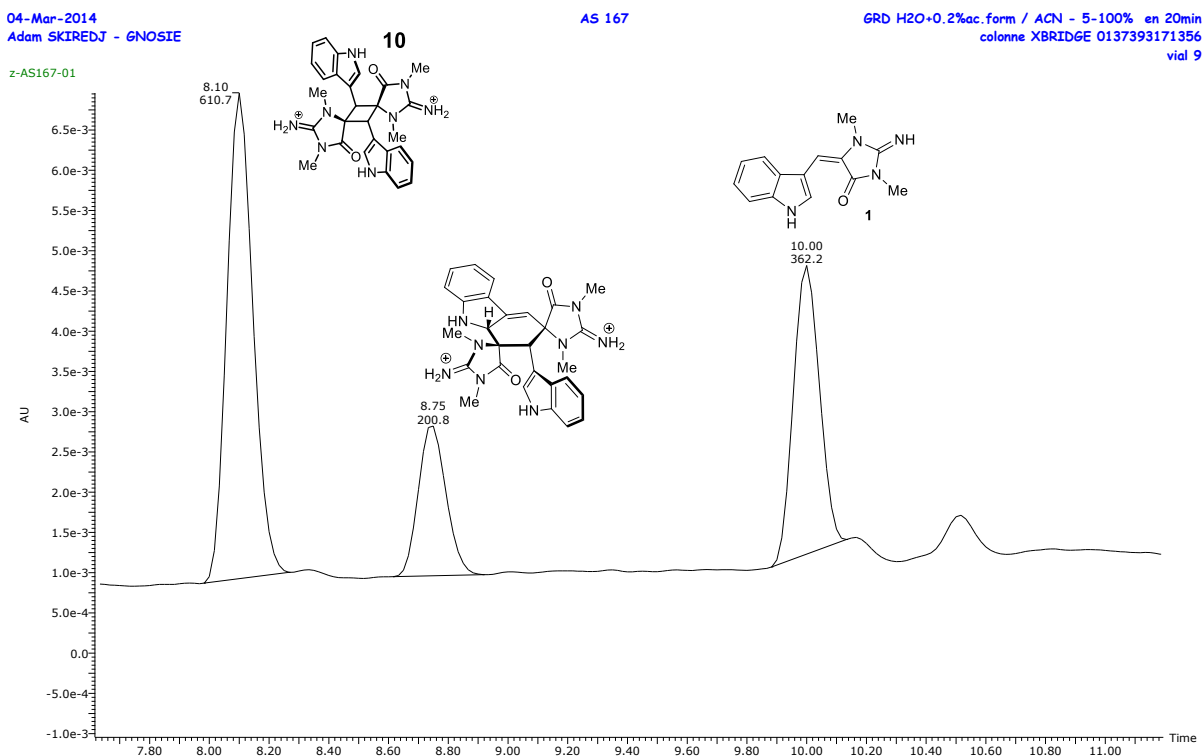
■ Preparation of the biosynthetic intermediate **13** and compound **15**:

A solution of cyclobutane **10** (90 mg, 1.18×10^{-1} mmol) in H₂O (30 mL) was heated under microwave (300 W) to 110 °C (divided into 23 × 1.3 mL small experiments) and maintained at that temperature for 85 s. The solvent was evaporated under reduced pressure to obtain a yellowish dry residue.

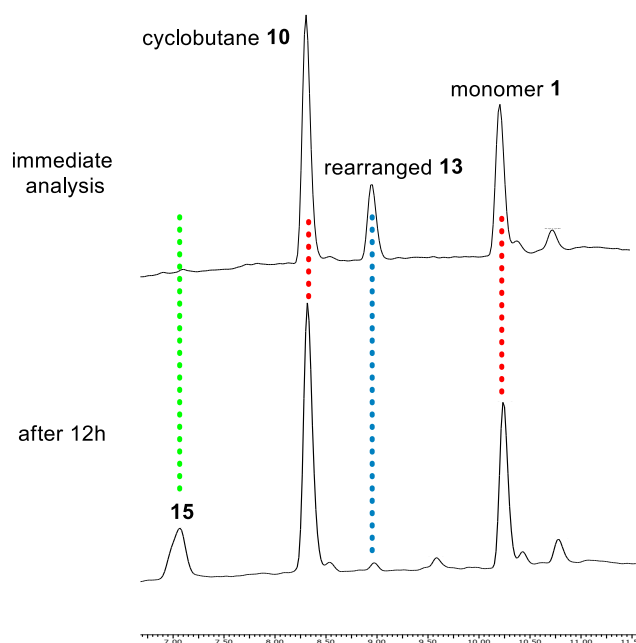
-Compound **13** ($R_T = 12$ min, 14.5 mg, 16 %) was obtained when the dry residue was quickly purified by preparative HPLC (1% to 20% MeCN in H₂O (0.2% HCOOH) over 20 min at 42 mL/min, Sunfire) along with recovered **10** ($R_T = 10$ min, 35 mg, 39 %). A representative LC/MS analysis of the batches shows the conversion of **10** into **13** and monomer **1**.

-**15**: when the microwaved solution remains in H₂O during 12 h, **15** ($R_T = 6.7$ min, 8 mg, 9 %) is formed and purified by preparative HPLC (5% to 30% MeCN in H₂O (0.2% HCOOH) over 15 min at 17 mL/min, XBridge).

13: ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.49 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.44 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.23 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.19 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.13 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.85 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.77 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 5.94 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 5.18 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 4.50 (s, 1H), 3.26 (s, 3H), 3.20 (s, 3H), 3.03 (s, 3H), 2.82 (s, 3H); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 175.6, 172.4, 159.2, 158.5, 155.4, 146.9, 137.4, 132.9, 128.3, 126.9, 123.9, 123.4, 123.1, 121.3, 121.1, 117.5, 113.4, 113.1, 107.7, 104.9, 74.7, 72.0, 63.5, 45.4, 31.4, 27.1, 26.8, 26.5; IR (neat) $\nu = 3142, 1769, 1707, 1670, 1589, 1460, 1388$ cm⁻¹; HRMS (ESI-TOF) m/z calcd for C₂₈H₂₉N₈O₂ [M+H]⁺ 509.2411; found 509.2408.



Spontaneous conversion of **13** into its hydroxylated analog **15**

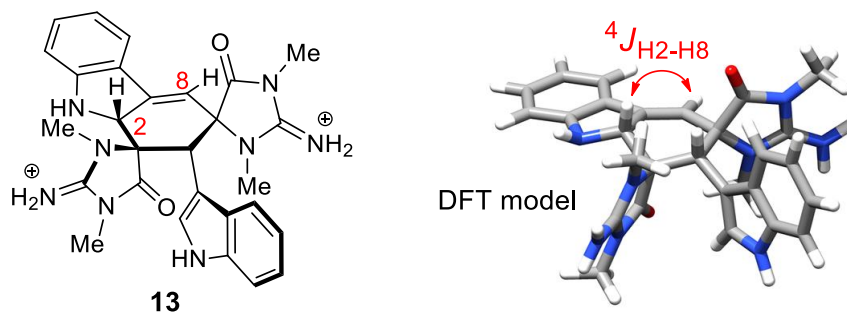


15: $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ 7.78 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.39 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.34 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.23 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.19 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.14 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.00 (s, 1H), 5.50 (s, 1H), 5.03 (s, 1H), 3.18 (bs, 6H), 2.84 (s, 3H), 2.77 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ 171.3, 170.2, 159.3, 156.6, 137.9, 135.1, 127.6, 126.1, 124.7, 124.1, 123.9, 122.0, 120.3, 119.7, 118.6, 116.9, 111.6, 111.3, 103.6, 73.0, 69.8, 63.6, 38.5, 31.0, 26.5, 25.1, 24.6; IR (neat) $\nu = 3318, 1769, 1707, 1670, 1589, 1460, 1388$ cm^{-1} ; HRMS (ESI-TOF) m/z calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{29}\text{N}_8\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 525.2363; found 525.2359.

Additional data

$^4J_{\text{H}_2-\text{H}_8}$ coupling rational for **13**

Despite its transient nature, structure of **13** was ascertained and among other characteristic elements, a coupling pattern between two typical signals at 5.18 ppm and 5.94 ppm respectively (two thin doublets, 3.5 Hz) in the $^1\text{H-NMR}$ spectrum attracted our attention. The latter has been rationalized as a long range 4J coupling between H-2 and H-8 by 2D-NMR and 3D modeling. See for example: (a) Barfield, M.; Spear, R. J.; Sternhell, S. *Chem. Rev.* **1976**, *76*, 593-624. (b) Barfield, M. *Magn. Reson. Chem.* **2003**, *41*, 344-358. The high 4J -allylic coupling constant is in accordance with a dihedral angle close to 90° between the two allylic C-H bonds and the plane of the three carbon units.

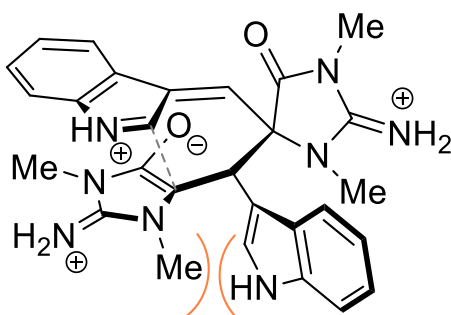


$^4J_{\text{H}_2\text{-H}_8}$ coupling rational for **13**

Mechanistic hypotheses:

In an attempt to rationalize our experimental results, several arguments could be pointed out in favor of the ionic mechanism retained herein (even if mechanistic considerations are not the purpose of this work).

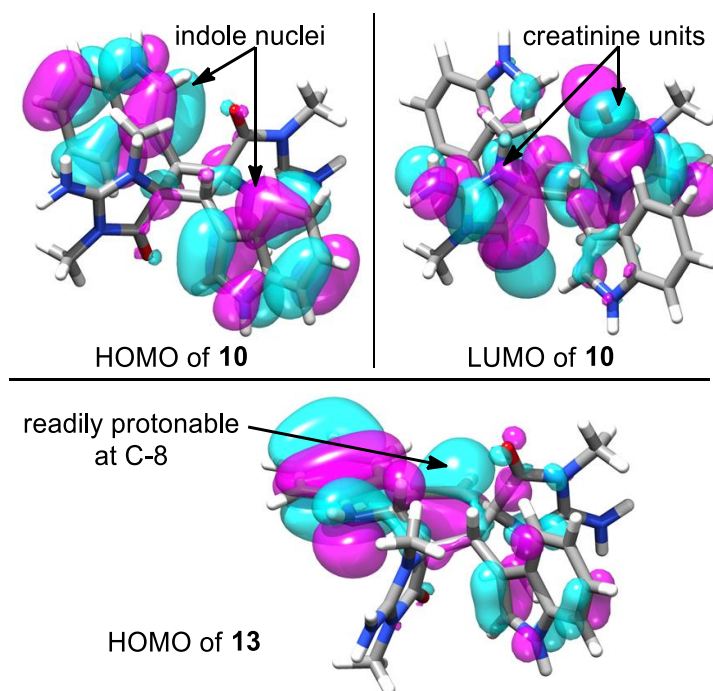
Several facts suggest that the ring expansion proceeds through an ionic pathway. Indeed, the involved π -excedent indole heterocycle and electron-withdrawing carboxamide group could constitute a suitable donor-acceptor system for an ionic cyclobutane bond cleavage. Moreover, following an obvious ionic mechanism, the ring closing step leading to the biosynthetic intermediate **13** is to some extent comparable to a classic Mannich reaction. Furthermore, proton-activation leads to a more efficient conversion of dictazole-type **10** into tubastrindole B (**7**) which is again in favor of an ionic mechanism.



Representation of a plausible classic Mannich-type (parallel overlapping) open intermediate in accordance with the stereochemical outcome experimentally observed.

Also, frontier molecular orbital energies and atomic coefficients of dimer **10**, biosynthetic intermediate **13** and natural tubastrindole B (**7**) were calculated at the B3LYP/6-31G* level. The HOMO atomic coefficients of **13** revealed an orbital mainly localized on C-8 allowing the regioselective protonation and the formation of the transient carbocation that initiates the final tautomerism. Moreover, proton can also play the role of Lewis acid activating

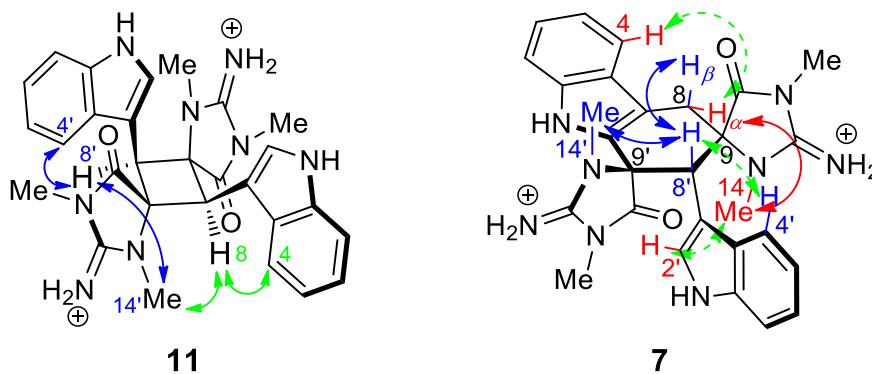
the carboxamide group and consequently, lowering the activation energy of the awaited bond breaking along the rearrangement. The donor-acceptor substituents nature of cyclobutane **10** is also visible on its FMO coefficients.

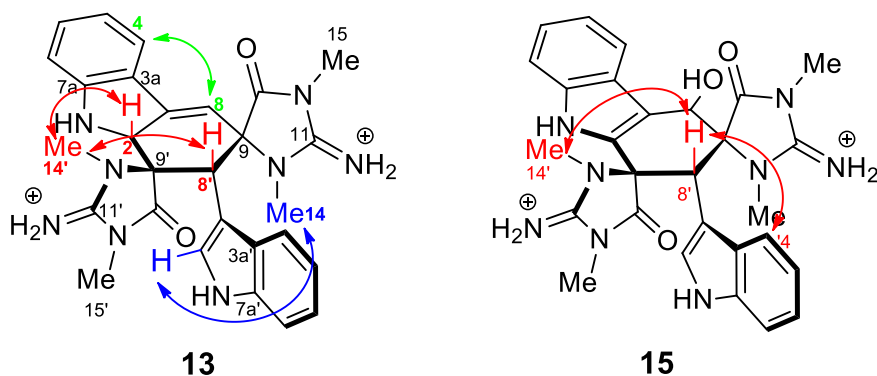


Representation of the isodensity surfaces (at 50% probability level) for the considered frontier molecular orbitals calculated at the B3LYP/6-31G* level.

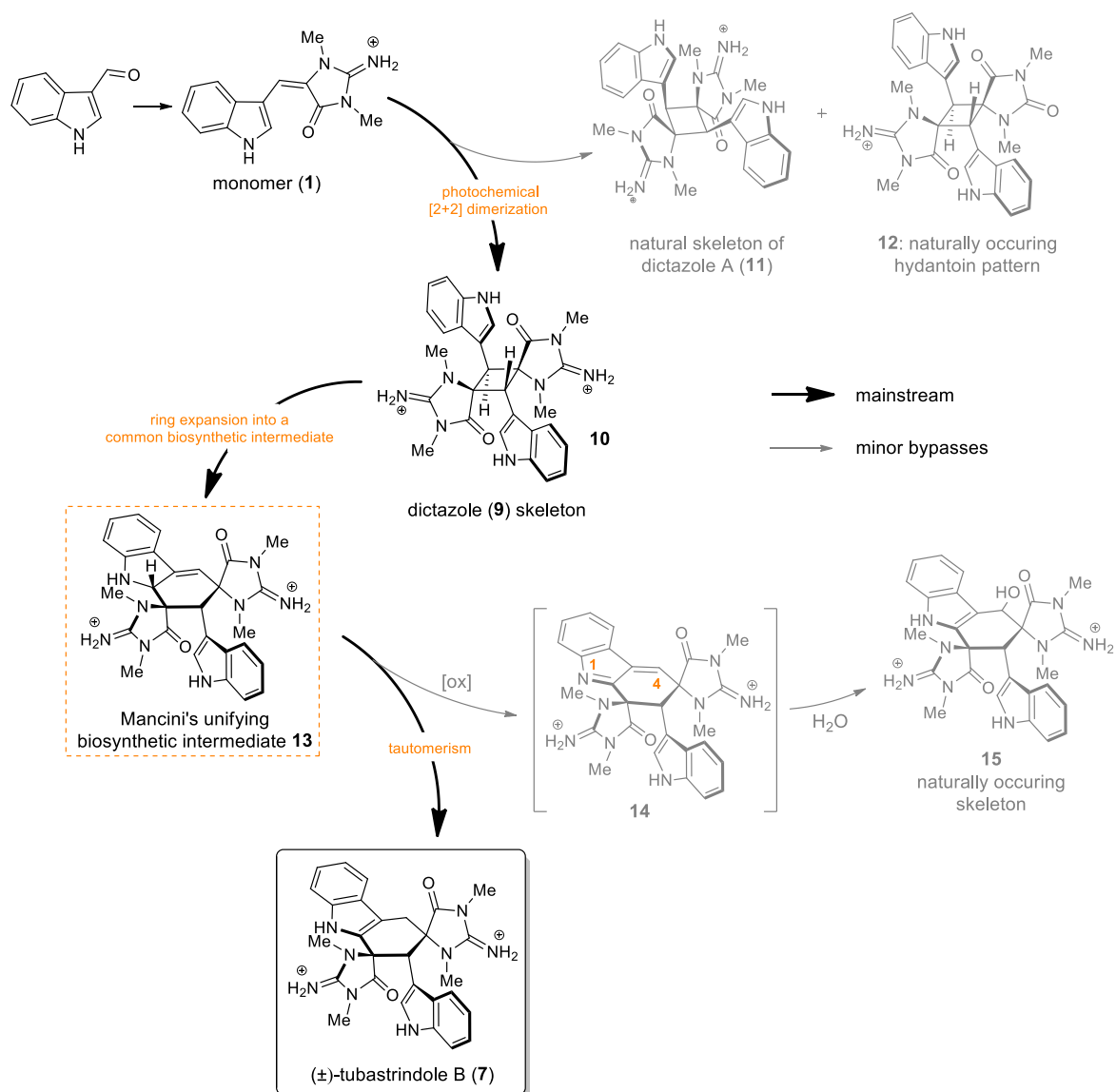
Key NOESY and ROESY correlations for stereochemical assignments

Key NOESY correlations for compound **11**, **7**, **13** and **15**



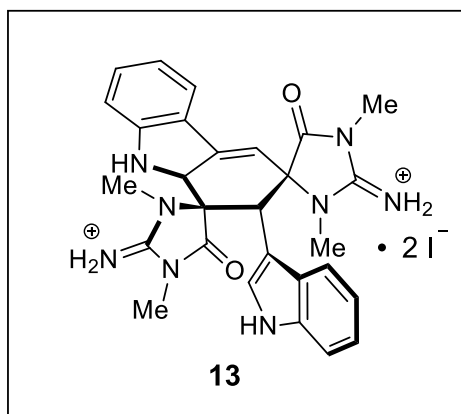


Unfortunately, we were unable to assign the relative configuration at C-8. Indeed, quite surprisingly, compared to the other tetrahydrocarbazole containing congeners: no ROESY correlations had been observed between H-8 and cofacial protons although several ROESY and NOESY experiments were performed.



Full biosynthetic cascade realized through this work.

Compound 13:



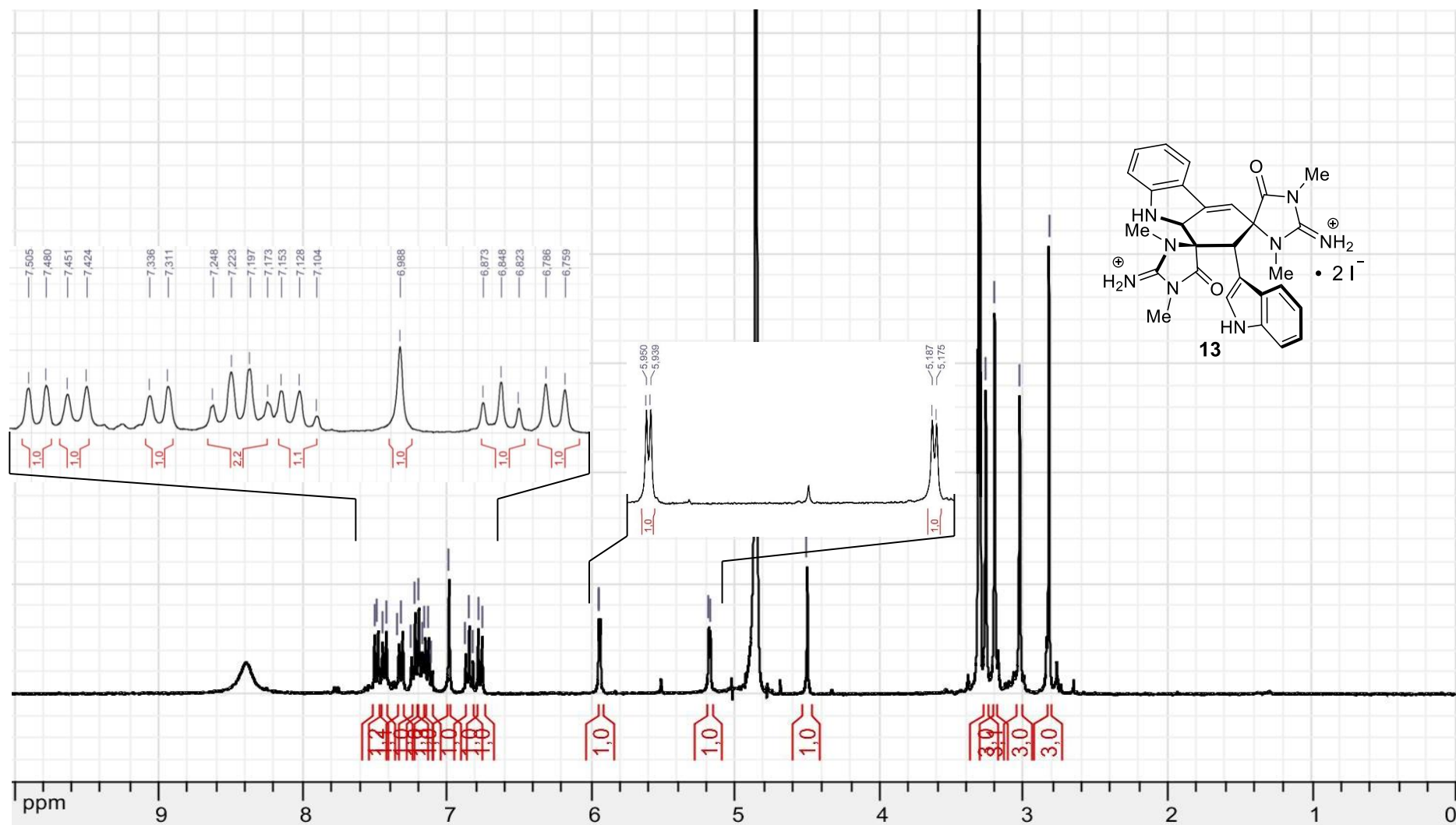
- White residue
- HRMS (ESI-TOF) m/z $[M+H]^+$ 509.2408
- IR $\nu = 3142, 1769, 1707, 1670, 1589, 1460, 1388$ cm^{-1}

- $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) and $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz CD_3OD)

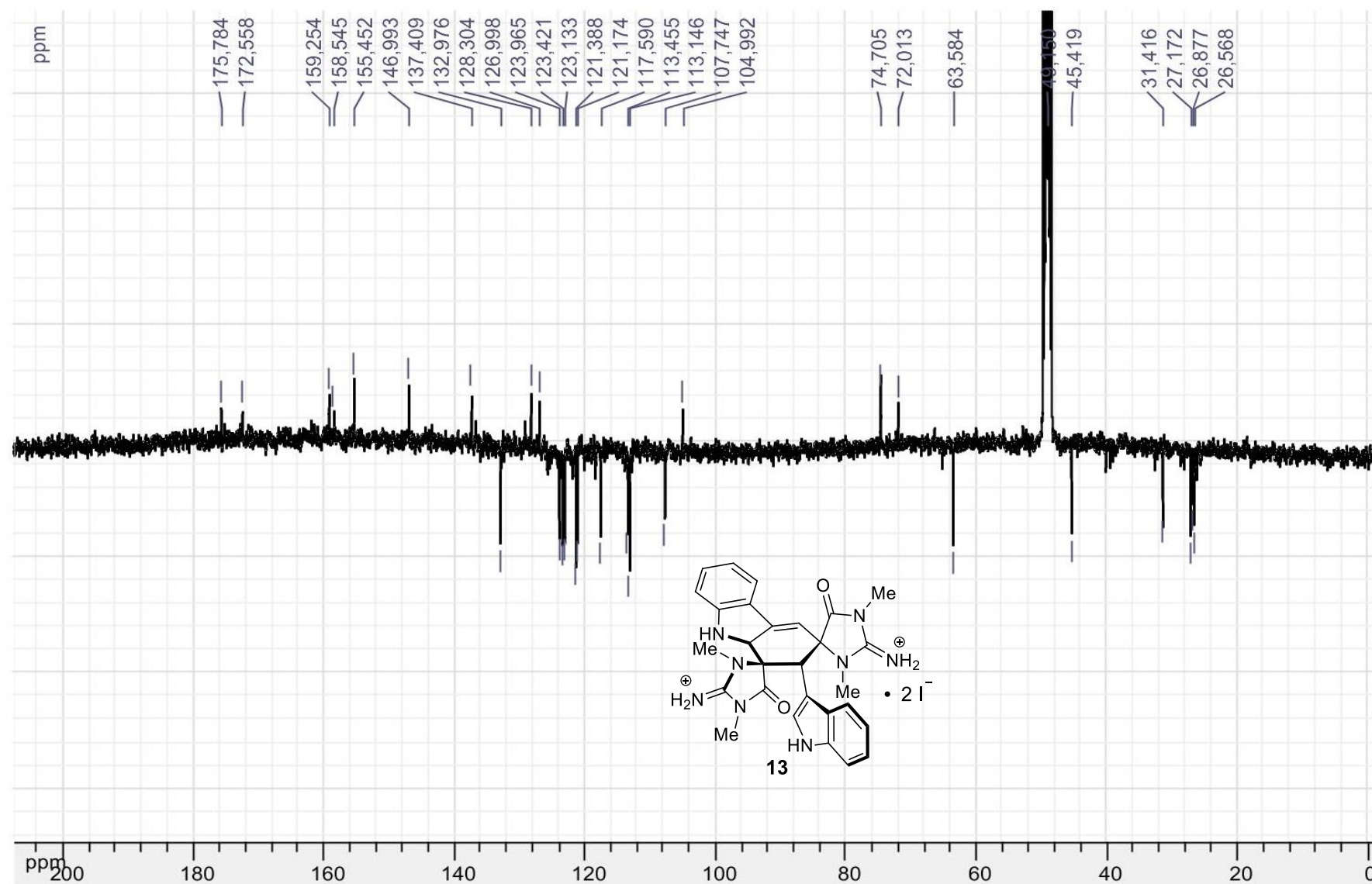
Position	δ ^1H (ppm)	multiplicity	$J = \text{Hz}$	integration	δ ^{13}C (ppm)
2	5.18	d	3.5	1	63.5
3					146.9
3a					126.9
4	7.49	d	7.5	1	123.1
5	6.84	t	7.5	1	121.1
6	7.23	t	7.5	1	132.9
7	6.77	d	7.5	1	113.1
7a					155.5
8	5.94	d	3.5	1	107.7
9					74.7
11					159.2
13					175.6
NCH ₃ -14	3.20	s		3	31.4
NCH ₃ -15	2.83	s		3	27.1
2'	6.99	s		1	123.4
3'					104.9

3a'					128.3
4'	7.32	d	7.5	1	117.5
5'	7.13	t	7.5	1	121.3
6'	7.20	t	7.5	1	123.9
7'	7.44	d	7.5	1	113.4
7a'					137.4
8'	4.50	s		1	45.4
9'					72.0
11'					158.5
13'					172.4
NCH ₃ -14'	3.03	s		3	26.8
NCH ₃ -15'	3.24	s		3	26.5

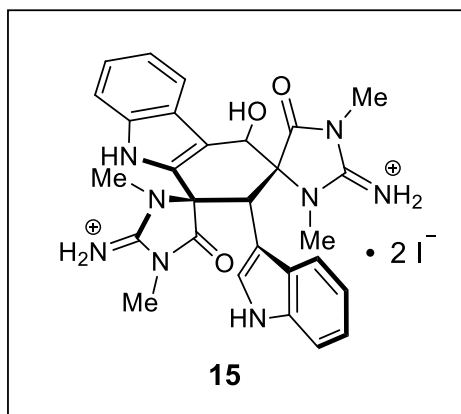
^1H NMR spectrum (400 MHz, CD_3OD) of **13**



¹³C NMR spectrum (100 MHz, CD₃OD) of **13**



Compound 15:



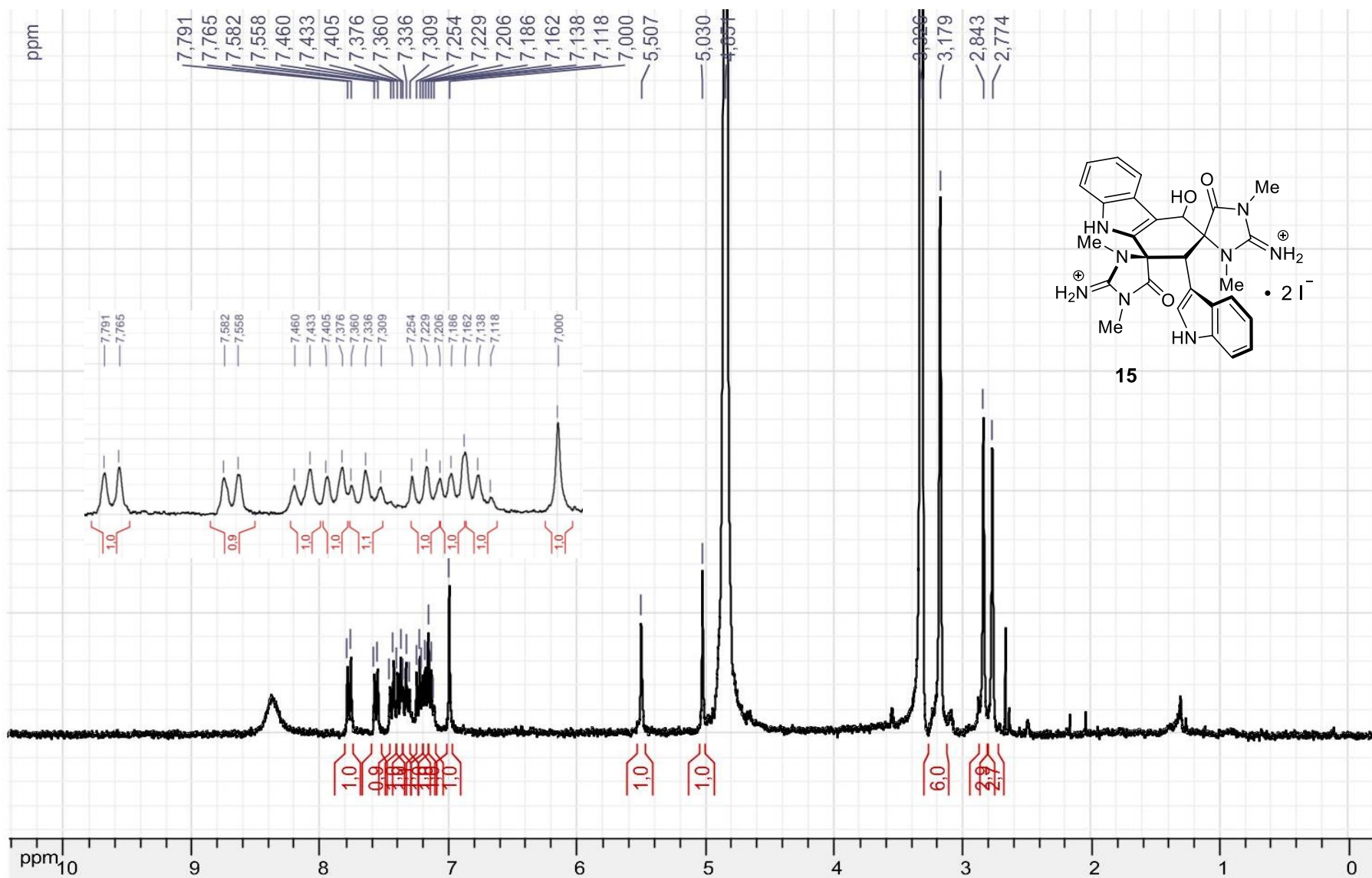
- White residue
- HRMS (ESI-TOF) m/z $[M+H]^+$ 525.2359
- IR $\nu = 3318, 1769, 1707, 1670, 1589, 1460, 1388$ cm^{-1}

- $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) and $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz CD_3OD)

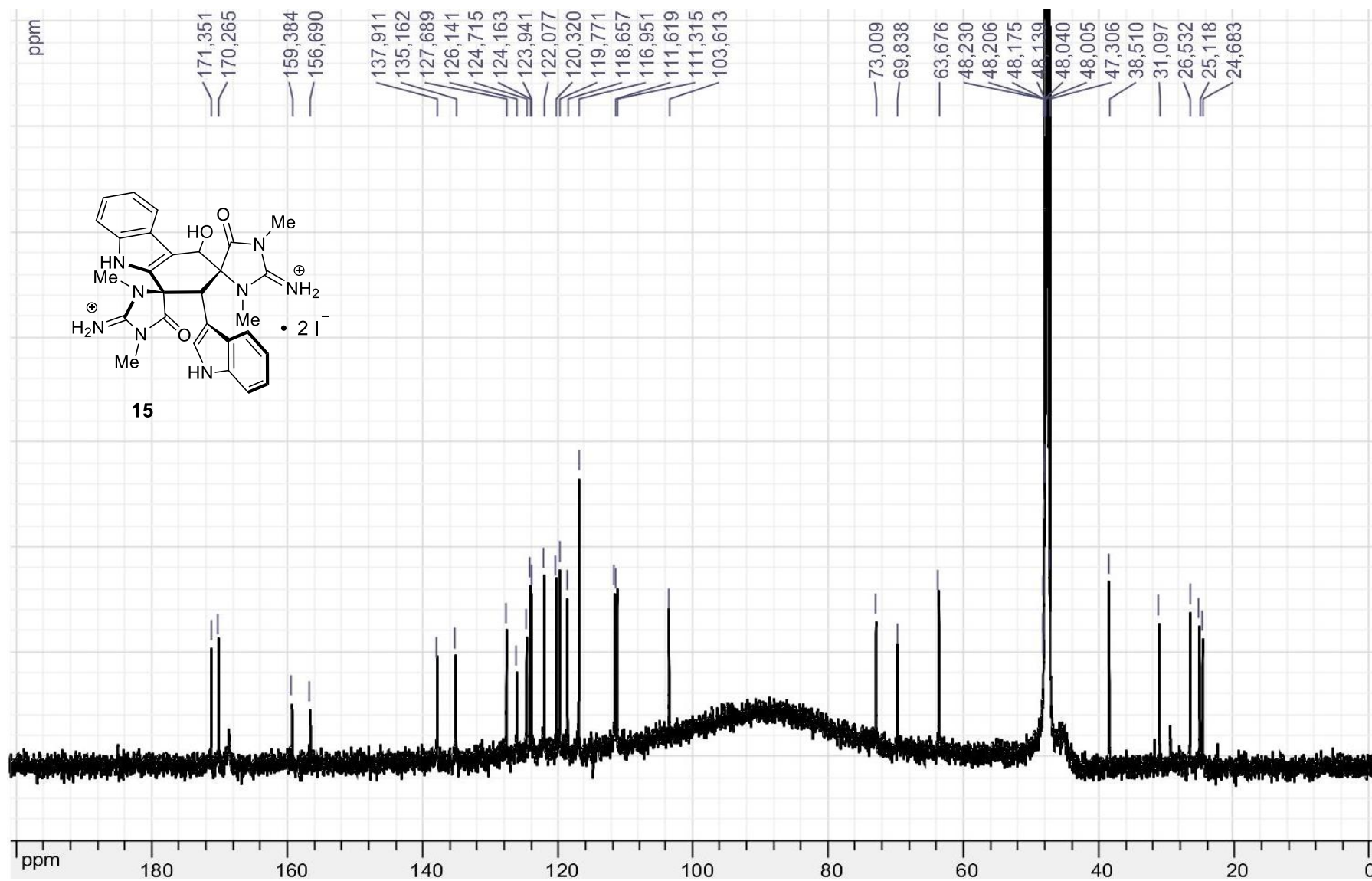
Position	δ ^1H (ppm)	multiplicity	$J = \text{Hz}$	integration	δ ^{13}C (ppm)
2					126.1
3					116.9
3a					124.7
4	7.78	d	7.7	1	118.6
5	7.23	t	7.6	1	120.3
6	7.34	t	7.6	1	124.1
7	7.45	d	8.0	1	111.6
7a					137.9
8	5.51	s		1	63.6
9					73.0
11					159.3
13					170.2
NCH_3 -14	3.18	s		3	31.0
NCH_3 -15	2.84	s		3	25.1
2'	7.00	s		1	123.9
3'					103.6

3a'					127.6
4'	7.57	d	7.7	1	116.9
5'	7.14	t	7.7	1	119.7
6'	7.19	t	7.7	1	122.0
7'	7.39	d	8.0	1	111.3
7a'					135.1
8'	5.03	s		1	38.5
9'					69.8
11'					156.6
13'					171.3
NCH ₃ -14'	3.18	s		3	26.5
NCH ₃ -15'	3.76	s		3	24.6

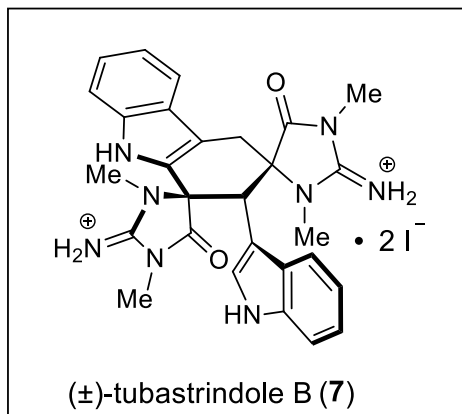
¹H NMR spectrum (300 MHz, CD₃OD) of **15**



¹³C NMR spectrum (150 MHz, CD₃OD) of **15**



(±)-tubastrindole B (7)



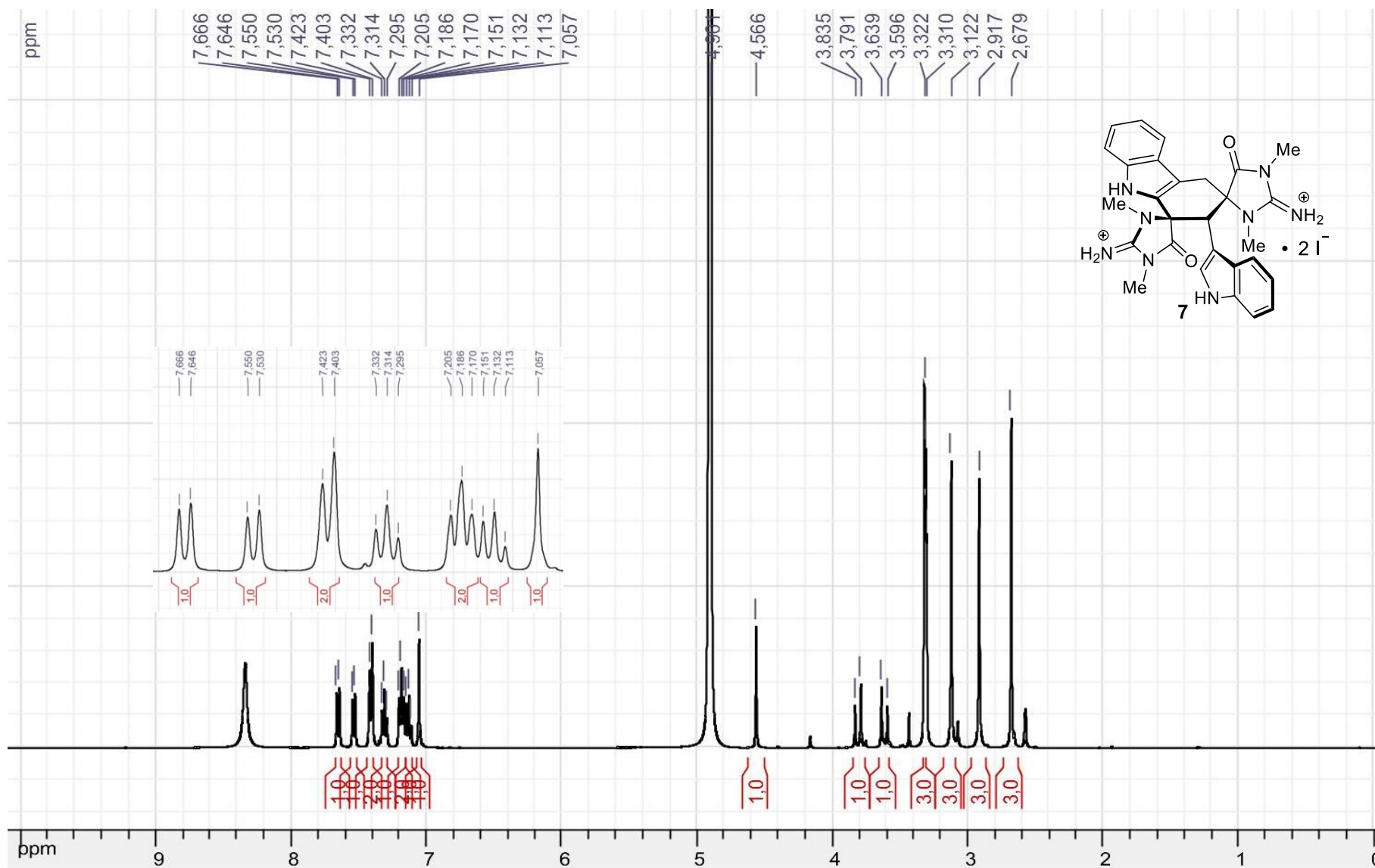
- Yellowish residue
- HRMS (ESI-TOF) m/z $[M+H]^+$ 509.2415
- IR $\nu = 3318, 1769, 1690, 1589, 1460, 1388 \text{ cm}^{-1}$

- $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) and $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz CD_3OD)

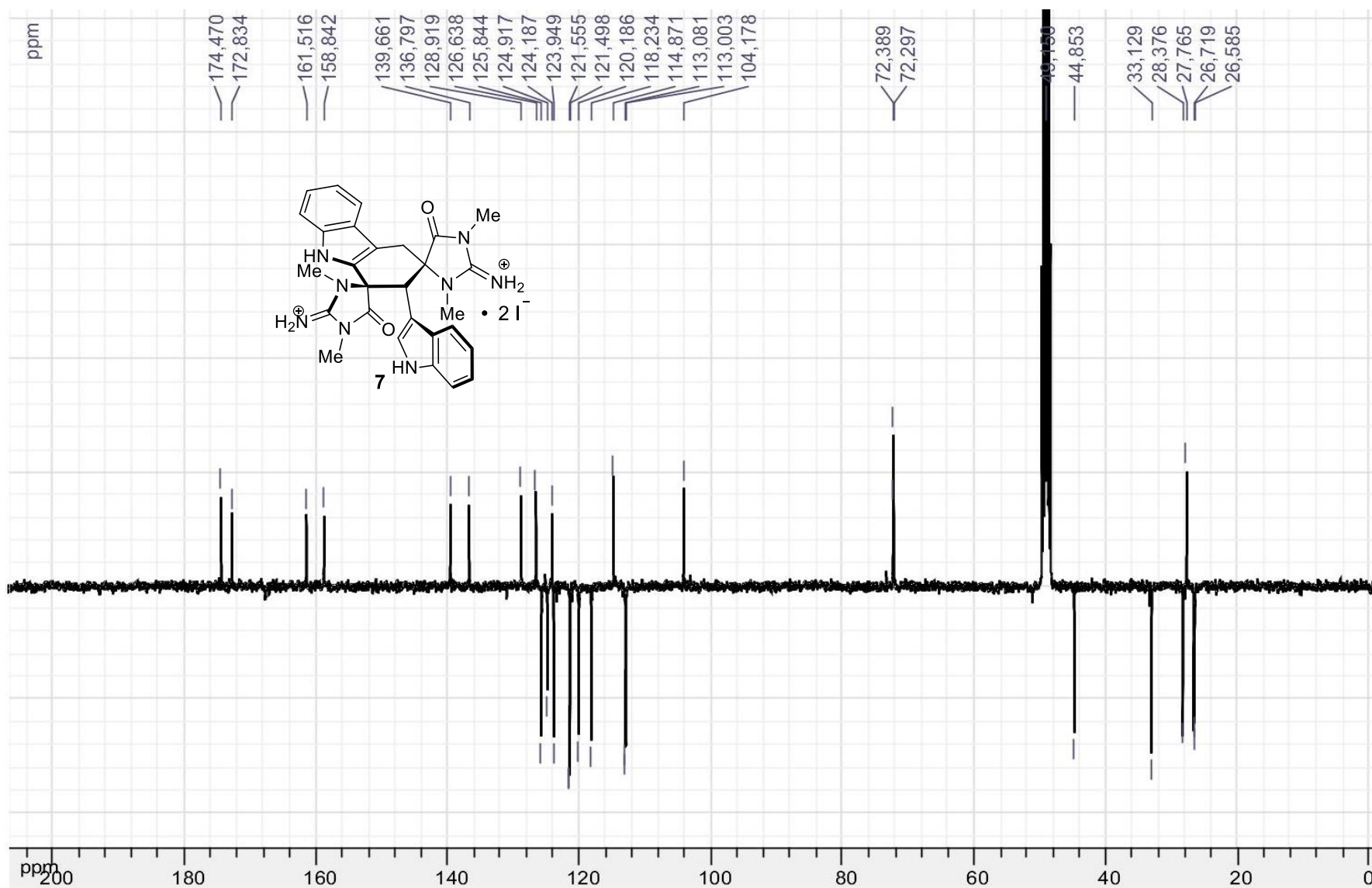
Position	δ ^1H (ppm)	multiplicity	$J = \text{Hz}$	integration	δ ^{13}C (ppm)
2					124.1
3					114.8
3a					126.6
4	7.66	d	8.0	1	120.1
5	7.19	t	7.1	1	121.5
6	7.32	t	7.5	1	125.8
7	7.42	d	8.0	1	113.08 ^a
7a					139.6
8	3.62, 3.81	d	17.2	2	27.7
9					72.3
11					161.5
13					174.4
NCH ₃ -14	3.32	s		3	33.1
NCH ₃ -15	2.68	s		3	26.7
2'	7.06	s		1	124.9

3'					104.1
3a'					128.9
4'	7.54	d	8.0	1	118.2
5'	7.13		7.3	1	121.4
6'	7.19	t	7.3	1	123.9
7'	7.42	d	8.0	1	113.00 ^a
7a'					136.7
8'	4.56	s		1	44.8
9'					72.2
11'					158.8
13'					172.8
NCH ₃ -14'	3.13	s		3	28.3
NCH ₃ -15'	2.92	s		3	26.5

^1H NMR spectrum (400 MHz, CD_3OD) of synthetic tubastrindole B (**7**)



^{13}C NMR spectrum (100 MHz, CD_3OD) of synthetic tubastrindole B (**7**)



3.4. Perspectives synthétiques et bio-inspiration.

En capitalisant sur la collection de composés de type dictazole tels que **140** à disposition, la première synthèse totale du (\pm)-tubastrindole B (**130**) a été réalisée (Schéma 32). Par la même, un exemple de "cascade des aplysinopsines" a été réalisée à partir de l'aplysinopsine (**117**). L'hypothèse divergente impliquant la formation du squelette II des cycloaplysinopsines par Diels-Alder ne peut être définitivement écartée. Néanmoins, le postulat de cascade biogénétique soutenue ici se trouve considérablement renforcé par ces résultats.

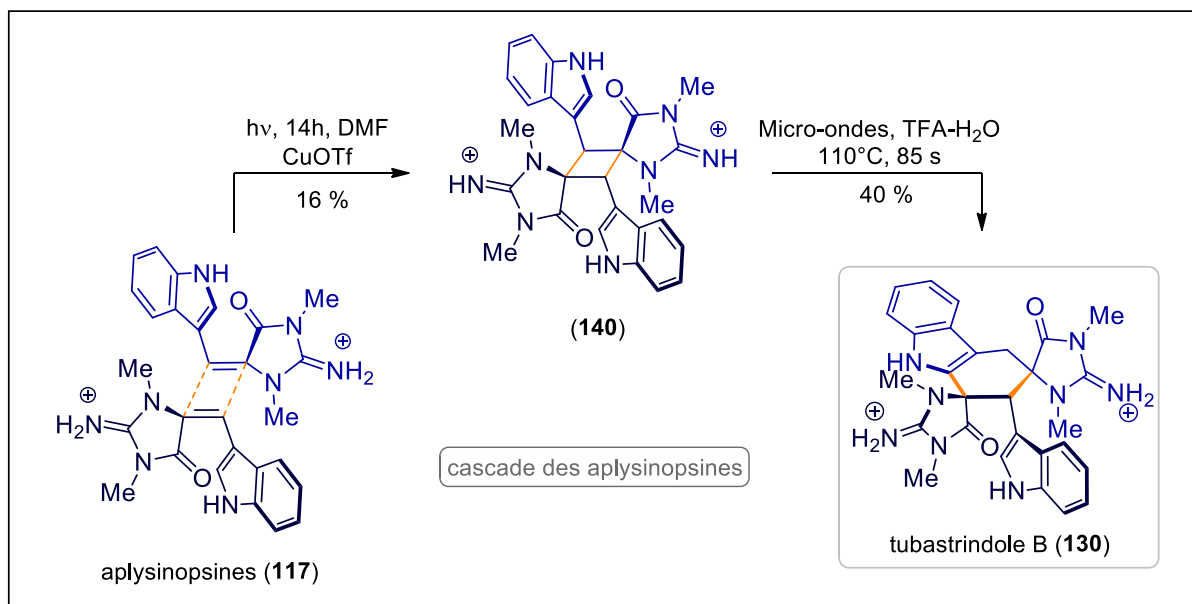


Schéma 32 : Synthèse totale du tubastrindole B et réalisation de la "Cascade des aplysinopsines".

D'autre part, l'efficacité de la stratégie démontre encore une fois que les considérations biosynthétiques représentent une source d'inspiration précieuse lorsqu'il s'agit de réaliser la synthèse de substances naturelles complexes. De plus, l'obtention du tubastrindole B (**130**) est loin d'être le seul résultat valorisable de ce projet. Le rôle primordial de l'acide a été mis en évidence en montrant que son omission conduisait à une intermédiaire biosynthétique probable (**146**) de cette famille d'alcaloïdes. Ce dernier évolue d'ailleurs spontanément vers le composé hydroxylé (**147**) qui arbore précisément les mêmes fonctionnalisations que d'autres congénères proches (comme la cycloaplysinopsine C (**123**) ou le tubastrindole E (**133**), Schéma 33). Enfin, le réarrangement-clé a lieu avec rétention complète de configuration et conduit sélectivement au squelette naturel. Cela suppose à nouveau la transmission efficace d'une certaine information chimique sous le couvert de la spontanéité de ce phénomène étonnant.

Enfin, on peut apporter une précision sémantique. Certes, les considérations biosynthétiques sont à la base du raisonnement ayant conduit à ces synthèses totales. Mais les conditions assez drastiques et le recours aux micro-ondes sont éloignés de celles pouvant être imaginées en milieu biologique. On parle donc ici de bio-inspiration (dans le cas de la

synthèse du tubastrindole B (**130**) plutôt que de biomimétisme. L'utilisation du terme "biomimétique" est parfois source de désaccord.

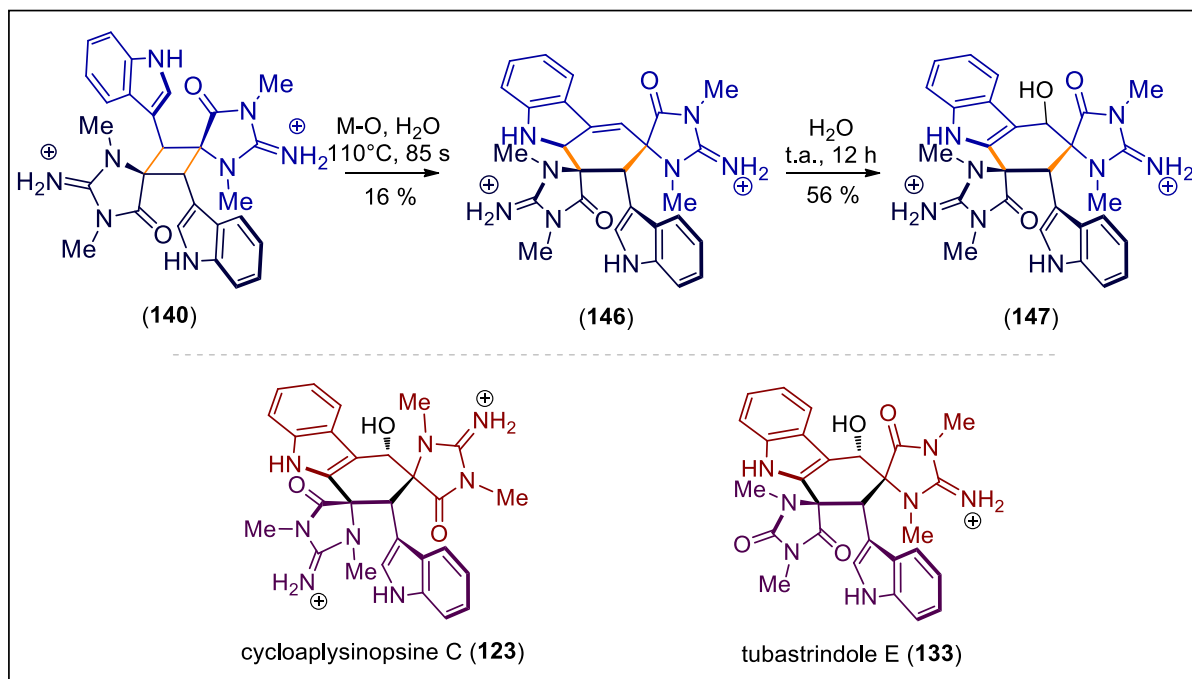


Schéma 33 : Obtention d'un intermédiaire biosynthétique-clé.

Certains considèrent qu'il s'applique lorsque le mécanisme de la transformation est conforme au processus biologique supposé quels que soient les substrats en présence. D'autres (et c'est le cas ici), considèrent plus volontiers que ce terme doit être réservé aux transformations mettant en jeu des composés mimant (et donc très proches) des substrats naturels. Les conditions réactionnelles sont également à prendre en compte. Le recours à la lumière et aux monomères naturels était clairement biomimétique pour la synthèse du dictazole B (**138**). Ici, l'utilisation des micro-ondes à chaud ainsi que le choix du composé de type dictazole (**140**) non naturel cantonnent à l'utilisation du terme de bio-inspiration.

4. Vision d'ensemble et exploration des variations de la famille des aplysinopsines.

4.1. L'influence du motif hydantoïne dans la série aplysinopsine.

Avec la réalisation des premières synthèses totales du dictazole B (**138**) et du tubastrindole B (**130**), l'ensemble des squelettes connus au sein de la famille des aplysinopsines ont été atteints. Même si la généralisation de ces résultats est logique, une des variations usuelle de la série n'avait pas été explorée. En effet, le motif créatinine (et sa *pseudo*-guanidine) est parfois remplacé par une hydantoïne (et sa *pseudo*-urée). On peut citer parmi d'autres le monomère **120**, les cycloaplysinopsines A et B (**121-122**) ou encore le tubastrindole H (**136**) (Figure 20).

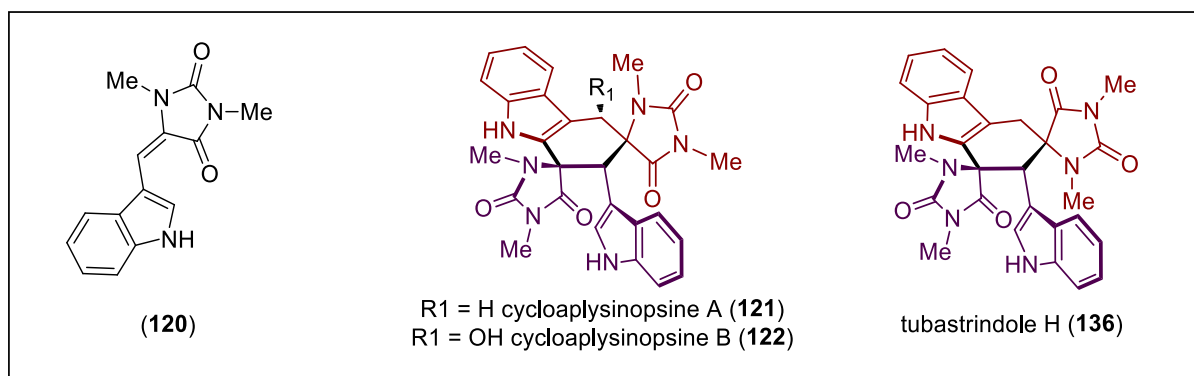


Figure 20 : Substances présentant un motif hydantoïne (et sous motif urée).

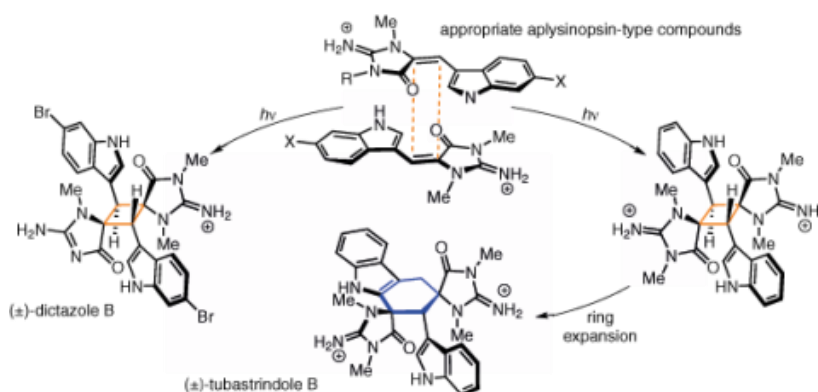
À première vue, les structures dimériques présentées ci-dessus possèdent le même squelette. Cependant, si on les analyse plus finement, on constate que leurs stéréochimies relatives varient. L'extension de l'étude à ces derniers composés doit permettre de comprendre leur réactivité. De plus, une investigation plus profonde de la famille représente une occasion de mieux comprendre les liens qui unissent tous ces alcaloïdes tout en étoffant les données biosynthétiques accumulées sur ces métabolites spécialisées.



2015

Harnessing the Intrinsic Reactivity within the Aplysinopsin Series for the Synthesis of Intricate Dimers: Natural from Start to Finish

Adam Skiredj, Mehdi A. Beniddir, Delphine Joseph, Guillaume Bernadat,
Laurent Evanno* and Erwan Poupon*



Abstract :

Aplysinopsin monomers are considered as plausible biosynthetic precursors of the wider aplysinopsin family of marine alkaloids. The idea of harnessing their intrinsic reactivity to undertake the synthesis of dictazoles or cycloaplysinopsins logically emerged from this status. These biosynthetic considerations led us to the first total syntheses of dictazole B and other valuable cyclobutanes. When further exploiting pre-encoded reactivity, our first total synthesis of tubastrindole B originated from the ring-expansion cascade of its dictazole-type precursor. Moreover, the isolation of a transient biosynthetic intermediate combined with dimerization outcomes of a hydantoin-containing monomer allowed us to explain the formation of cycloaplysinopsins A and B.

1. Introduction

Some specific marine sponges and stony corals living in shallow waters are the sources of intriguing alkaloids that share quite obvious structural links with aplysinopsin (**1**).¹ Hence, this rather simple alkaloid not only gives its name to the group of aplysinopsin monomers (over 20 similar compounds slightly differing from one another by *N*-demethylation or C6 bromination of **1** and **2**, Figure 1),² but it is also the eponym of the whole ‘aplysinopsin alkaloids family’ considered herein. The other congeners known to date, far more complex, define two distinct

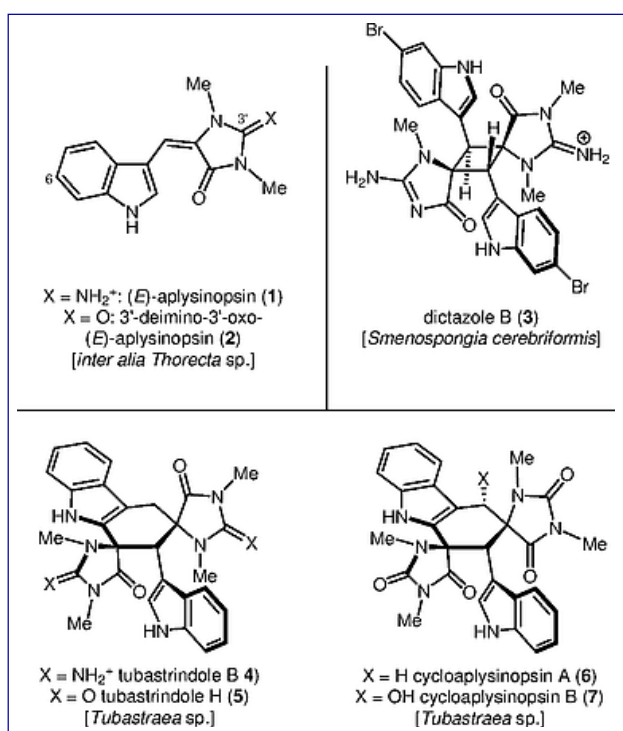
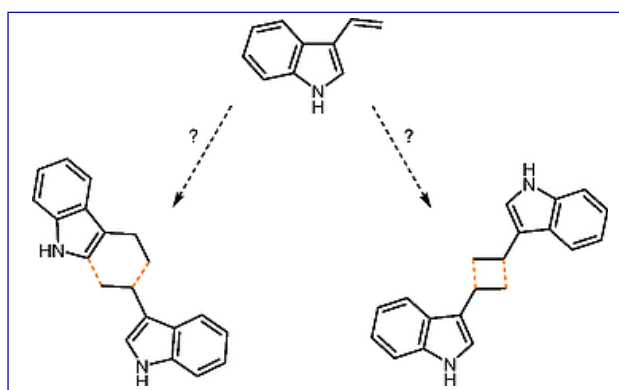


Figure 1: Selected examples among the three skeletons encountered in the aplysinopsin alkaloid family.

groups of dimeric compounds depending on their respective scaffolds: 1) dictazoles: remarkable spiro-fused cyclobutanes [e.g., dictazole B (**3**)] and 2) cycloaplysinopsins: spirocyclic tetrahydrocarbazole-type natural products [e.g., tubastrindoles B (**4**) and H (**5**) and cycloaplysinopsins A (**6**) and B (**7**)].^{3,4} Beyond the undeniable synthetic challenge represented by the access to these densely functionalized marine alkaloids (two indoles and up to eight nitrogens),⁵ the puzzling biosynthetic issues raised by their study prompted us to undertake the present work. Aiming to synthesize some of these complex natural products with high simplicity, if not spontaneously, we have previously reported the first total syntheses of (±)-dictazole B (**3**) and (±)-tubastrindole B (**4**).⁶ Intrigued by the reactivity of **2** and the variable stereochemical features of several related bis-hydantoin alkaloids of the family (see the structures of **5**, **6**, and **7** in Figure 1), we extended our study towards this subset of natural products. The new outcomes are reported herein in addition to our previous results related to this stunning series of marine alkaloids.

2. Easy access to dictazole cyclobutanes

In our view, from both biosynthetic and synthetic standpoints, the three different subgroups of alkaloids presented in Figure 1 should not be considered independently, but rather as a unique set of closely related congeners (Scheme 1). Indeed, these natural products have all been isolated and, therefore, naturally produced in similar environments. A common feature of the environments from which materials have been collected



Scheme 1 : First issue: is a dimerization possible?

attracted our attention: the shallow waters where all the relevant sponges and stony corals were collected are directly exposed to sunlight. Guided by this unifying idea, we turned to study the photochemical dimerization of aplysinopsin-type monomers. Prepared, as previously reported, by a trivial aldolization-dehydration step on a gram scale, the desired monomers **1**, **2**, **8**, and **9** were exposed to artificial UV-enriched light under appropriate conditions.⁷ These experiments resulted in different outcomes summarized in Table 1.

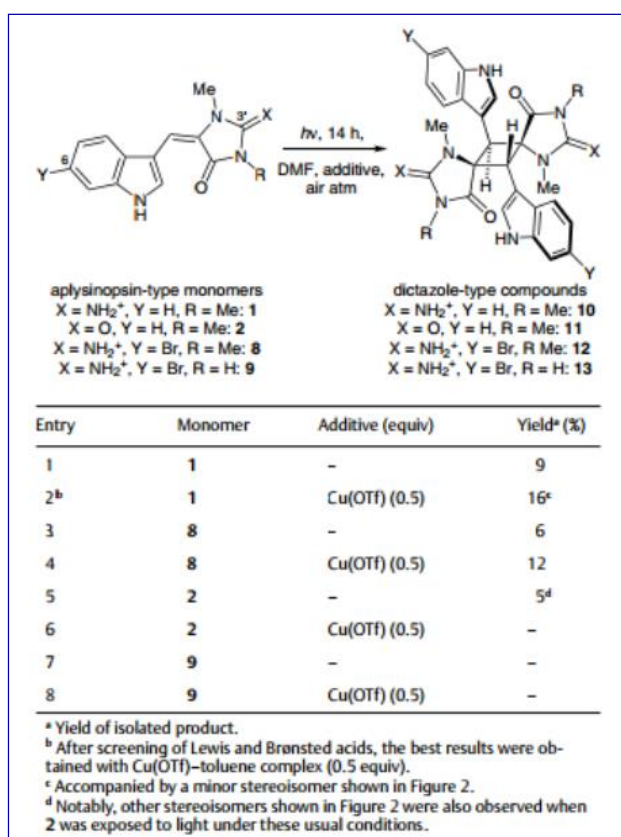


Table 1 : Compared [2+2] photochemical homodimerization results of aplysinopsin-type monomers.

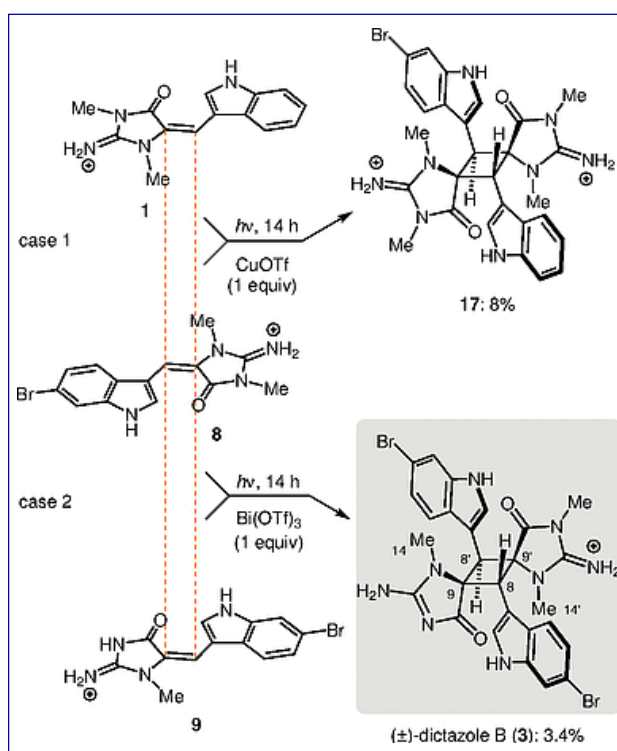
Although common optimized conditions have been established (*i.e.*, thin film of a 5 mM solution in DMF, *hν*, 14 h)⁸ by iterative screening followed by a kinetic study, the recourse to additives, and their respective efficiency, differs from one monomer to another.

As mentioned in our previous reports, and in contrast with the usual lack of selectivity observed in photochemical [2+2] processes, the self-condensation of **1** by [2+2] photocycloaddition is diastereoselective and leads exclusively to the *anti*-dictazole-type compound **10**. Moreover, the addition of copper(I) triflate significantly enhanced the yield of this transformation, even if it also induced a slight erosion of diastereoselectivity, leading to the isolation of **14**, a minor *syn*-derivative (entries 1 and 2, Figure 2).⁹ Comparable results were observed

for **8** albeit **12** is obtained in lower yields than **10** (cf. entries 2 and 4).

Whereas **2** seems very similar to **1** or **8** at first sight, the hydantoin heterocycle greatly influences its reactivity. Indeed, homodimerization of **2** is fully inhibited by copper(I) triflate. Also, the self-induced diastereoselectivity of the photodimerization is lower in the case of **2**, as two other minor stereochemical isomers **15** and **16** were observed without the use of an additive for the first time (entries 5 and 6).¹⁰

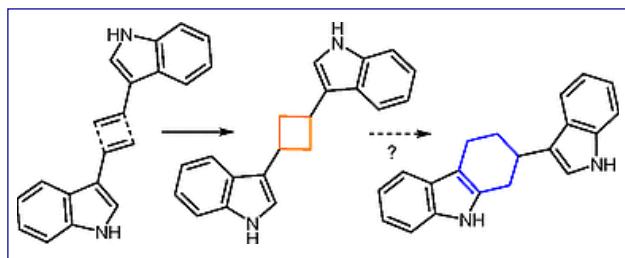
These additional results suggests that the imino group plays a significant role in the supramolecular self-organization occurring upon dimerization of these monomers, a process probably responsible of the observed diastereoselectivity.¹¹ The apparent weakness of this lack of control is intriguing and it will be discussed. At this stage, monomethylated monomer **9** did not dimerize at all under the tested conditions (entries 7 and 8). Far from being sufficient, these promising [2+2] photochemical homodimerization results led us to tackle the heterodimerization issue needed to achieve the synthesis of pseudodimeric dictazole B (**3**) (Scheme 2). As predicted, the equimolar heterodimerization between **1** and **8** readily provided a 1:2:1 statistic mixture of **10**, pseudodimeric **17** in 8% yield, and **12**, respectively. In spite of this small step forward, novel conditions had to be found to get around the initial reactivity of monomer **9** in order to couple it with **8**. As mentioned in our initial report, among multiple Lewis acids, only bismuth(III) triflate significantly enhanced the reactivity of **9** and allowed us to obtain desired (\pm)-dictazole B (**3**) in 3.4% isolated yield (Scheme 2).



Scheme 2: Synthesis of pseudodimeric cyclobutanes **17** and natural (\pm)-dictazole B (**3**) by heterodimerization.

3. Synthesis of cycloaplysinsins by ring expansion

Even though light is sufficient to achieve the synthesis of dictazole-type cyclobutanes, none of the aforementioned photochemical experiments generated any cycloaplysinsin-type dimers.¹² An additional synthetic link was therefore required to connect this last subset of marine alkaloids to the rest of the family. Relying on a putative intramolecular rearrangement, a conceptual shift led us to consider dictazoles as both plausible biosynthetic intermediates and relevant synthetic precursors towards cycloaplysinsins (Scheme 3).¹³ The small



Scheme 3: Second issue: is a ring expansion possible?

the highest yield of the series. Inspired by prior reports, we rapidly focused our efforts on microwave experiments.¹³ Under finely tuned conditions (*i.e.*, 5% TFA– H₂O, 110 °C, 85 s under microwave irradiation), cyclobutane **10** was fully converted and (\pm)-tubastrindole B (**4**) was isolated in 40% yield (Scheme 4). Satisfyingly, meaning that this singular intramolecular rearrangement occurs with full retention of configuration, no other stereoisomer is formed during the process, as previously reported.

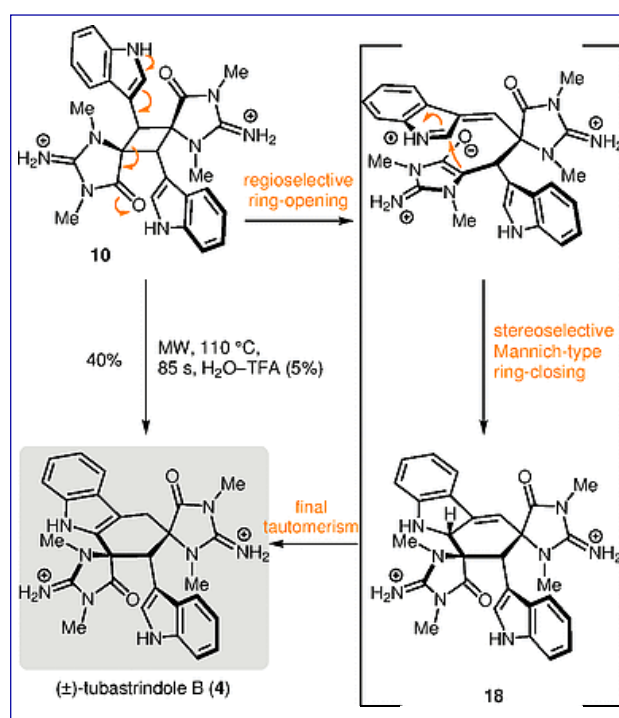
Owing to the specific functionalization pattern of these compounds and the effective conditions (*i.e.*, possible enol formation in aqueous acidic medium), an ionic formalism seemed reasonable to us.¹⁴ In detail, a regioselective bond cleavage followed by a stereoselective Mannich-type intramolecular condensation are both needed to explain the stereochemical outcome of that cascade. This well-defined open-close sequence should lead to intermediate **18**, subsequently undergoing a final tautomerism to restore the natural tetrahydrocarbazole core of (\pm)-tubastrindole B (**4**).

Even if we initially conjectured that it could be a transient intermediate rapidly generating the favored indole heterocycle of (\pm)-tubastrindole B (**4**) straight after its formation, a control experiment (*i.e.*, identical conditions but without TFA) nonetheless provided **18** in 16% yield without any traces of **4** (Scheme 5).

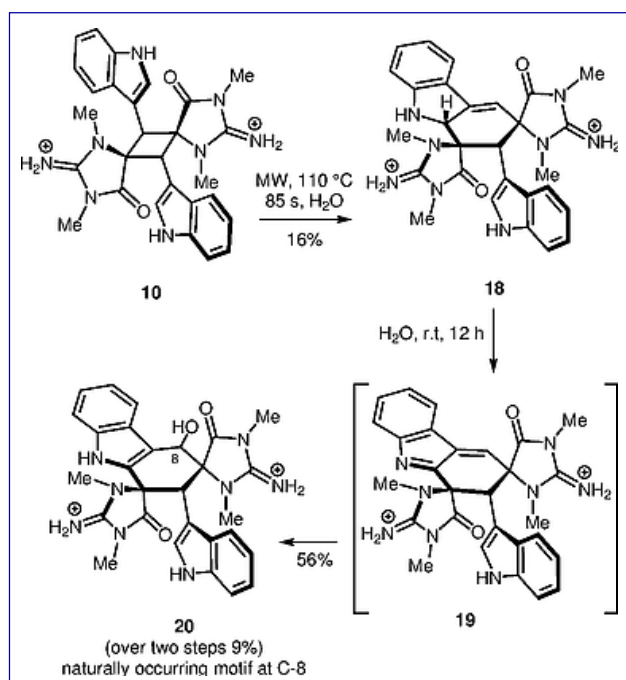
Hence, trifluoroacetic acid does play a crucial role in the process and not only at the final tautomerization step. Indeed, there is a substantial gap between the yields of the two

collection of dictazole-type compounds **10–16** synthesized during our early investigations constituted an ideal array of substrates in order to test this ring expansion hypothesis.

For greater simplicity, **10** was initially chosen for this study because of its centrosymmetry, which should lower the complexity level of our system. Moreover, **10** is readily prepared with



Scheme 4: Successful conversion of cyclobutane **10** into (\pm)-tubastrindole B (**4**) by ring expansion.



Scheme 5: Synthesis and reactivity of the postulated intermediate **18** under nonacidic conditions.

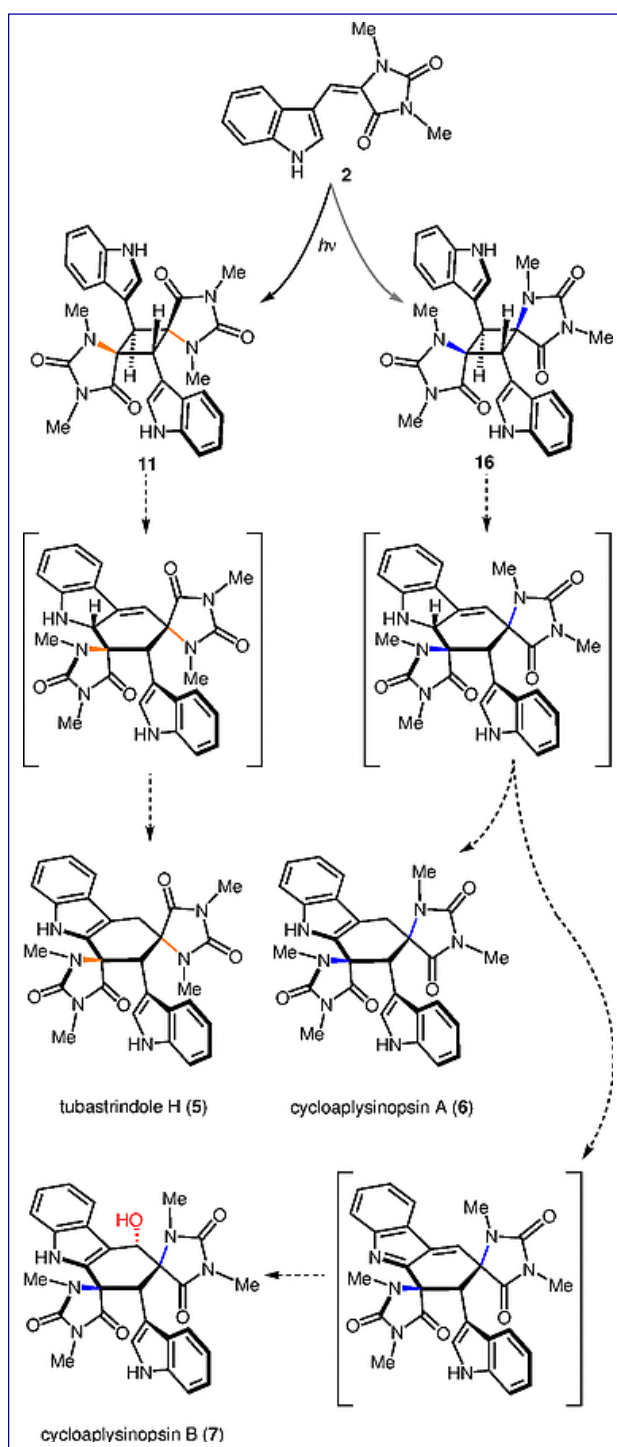
experiments carried out with or without trifluoroacetic acid, all else being equal. But there is more, even if **18** was stable enough to be characterized, it rapidly underwent regiospecific hydroxylation at C8 in water after 12 hours at room temperature leading to **20**. The spontaneous oxidation of **18** into **19** followed by the straightforward addition of a water molecule onto its Michael acceptor motif can be proposed for this unexpected, but not less crucial result, which will be discussed hereafter.

Then, we turned to study and analyze the reactivity of hydantoin-containing cyclobutanes **11** and **16**. However, despite numerous attempts targeting the ring expansion of **11**, we were unable to obtain sufficient quantities of the awaited (\pm)-

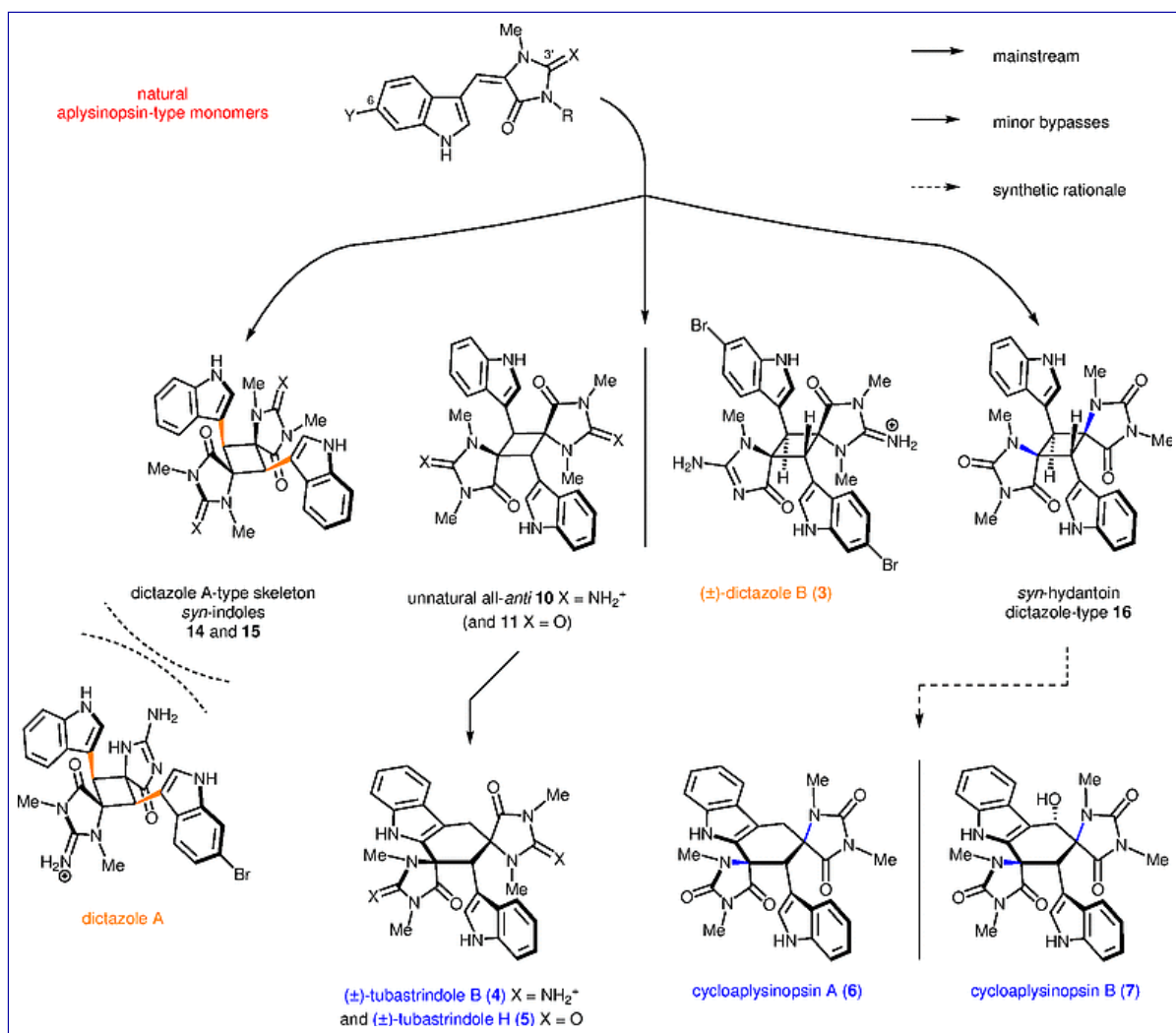
tubastrindole H (**5**) even though we generated analytical quantities of a constitutional isomer of **11**. Indeed, due to the utmost insolubility of **11** in water and other solvents, the addition of dimethyl sulfoxide or *N,N*-dimethylformamide was necessary.¹⁵ But, whatever the power applied during microwave experiments, no transformation of **11** was noticed in the presence of dimethyl sulfoxide or *N,N*-dimethylformamide.¹⁶ Nevertheless, we observed a good conversion of cyclobutane **11** into an isomeric compound when we applied similar conditions to those required for the synthesis of (\pm)-tubastrindole B (**4**) from **10** but at very low concentrations of **11** (0.2 mM vs 4.3 mM) in order to overcome its poor solubility. This parameter precluded us from isolating the rearranged product in usable quantities, but both the reaction conditions and its long-term stability in water (thereby excluding the formation of an isomer comparable to **18**) suggest the probable formation of (\pm)-tubastrindole H (**5**).¹⁷ Moreover, extrapolating our previous synthesis of **4** to minor cyclobutane stereoisomer **16**, one could rationalize the formation of cycloaplysins A (**6**) and B (**7**). Indeed, if **16** could undergo the aforementioned ring-expansion cascade, a classical pathway restoring the indole heterocycle could provide cycloaplysinsin A (**6**) whereas the regioselective hydroxylation at C8 previously observed could lead to cycloaplysinsin B (**7**) (Scheme 6).

4. Conclusion en future prospects

This widened study reveals a remarkable synthetic network linking the intricate congeners of the aplysinopsin family of marine alkaloids (Scheme 7). Indeed, guided by biosynthetic considerations, we harnessed the self-templating property of aplysinopsin monomers to achieve the first total synthesis of (\pm)-dictazole B (**3**) via a diastereoselective [2+2] photo-cycloaddition. Exploiting once again the intrinsic reactivity of the dictazole series, we came up with the first total synthesis of (\pm)-tubastrindole B (**4**) completing thereby the postulated 'aplysinopsins' cascade'. Despite being limited by the poor solubility of hydantoin-containing cyclobutane **11**, we also took another step towards the total synthesis of (\pm)-tubastrindole H (**5**). Finally, beyond these straightforward and efficient total syntheses, the isolation of a transient intermediate and minor dictazole-type stereoisomers allowed us to explain the formation of both cycloaplysinopsins A (**6**) and B (**7**). Chiral induction and the study of dimerization under single electron transfer conditions in the aplysinopsin family of alkaloids are currently under investigation in the group and will be reported in due course.



Scheme 6: Slight extrapolation of the ring-expansion cascade: previously observed reactivity set the stage for generation of tubastrindole H (**5**), cycloaplysinopsin A (**6**), and cycloaplysinopsin B (**7**).



Scheme 7 : A synthetic network: the various dictazole-type stereoisomers are all connected to natural relatives, either to four-membered (i.e., dictazoles) or six-membered (i.e., cycloaplysinopsins, dictazolines, and tubastrindoles) marine alkaloids of the family.

References

- (1) (a) Bialonska, D.; Zjawiony, J. *Mar. Drugs* **2009**, *7*, 166-183. (b) Boyd, E. M.; Sperry, J. J. *Chem. N. Z.* **2010**, *74*, 109-112.
- (2) (a) Kazlauskas, R.; Murphy, P. T.; Quinn, R. J.; Wells, R. J. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 61-64. (b) Cachet, N.; Loffredo, L.; Vi-cente, O. O.; Thomas, O. P. *Phytochem. Lett.* **2013**, *6*, 205-208.
- (3) Dai, J.; Jiménez, J. I.; Kelly, M.; Williams, P. G. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 2399-2402.
- (4) (a) Mancini, I.; Guella, G.; Zibrowius, H.; Pietra, F. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8757-8762. (b) Meyer, M.; Delberghe, F.; Liron, F.; Guillaume, M.; Valentin, A.; Guyot, M. *Nat. Prod. Res.* **2009**, *23*, 178-182. (c) Iwagawa, T.; Miyazaki, M.; Okamura, H.; Nakatani, M.; Doe, M.; Takemura, K. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2533-2535. (d) Iwagawa, T.; Miyazaki, M.; Yokogawa, Y.; Okamura, H.; Nakatani, M.; Doe, M.; Morimoto, Y.; Takemura, K. *Heterocycles*

2008, 75, 2023-2028. (e) Balansa, W.; Islam, R.; Gilbert, D. F.; Fontaine, F.; Xiao, X.; Zhang, H.; Piggott, A. M.; Lynch, J. W.; Capon, R. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 4420-4425. (f) Dai, J.; Jiménez, J. I.; Kelly, M.; Barnes, S.; Lorenzo, P.; Williams, P. *J. Nat. Prod.* **2008**, 71, 1287-1290.

(5) (a) Gutekunst, W. R.; Baran, P. S. *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 2430-2452. (b) Snyder, S. A. *Nature* **2010**, 465, 560-561.

(6) (a) Skiredj, A.; Beniddir, M. A.; Joseph, D.; Leblanc, K.; Bernadat, G.; Evanno, L.; Poupon, E. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 6419-6424. (b) Skiredj, A.; Beniddir, M. A.; Joseph, D.; Leblanc, K.; Bernadat, G.; Evanno, L.; Poupon, E. *Org. Lett.* **2014**, 16, 4980-4983.

(7) Procedures adapted among others from ref 4e and previously reported in ref 6a. Compound **2** has been obtained in 63% yield (providing 4.5 g of hydantoin-containing monomer **2**) from 3-formyl indole and 1,3-*N,N*-dimethyl hydantoin.

(8) Photodimerization conditions: a thin film of a 5 mM monomer solution in DMF is exposed to artificial UV-enriched light under air atmosphere during 14h with solvent evaporation. A kinetic study monitored over 20 h by ¹H NMR showed a maximum formation of dictazole-type cyclobutanes after 14h of exposure followed by substantial decomposition for longer experiments.

(9) Notable decomposition of the monomers into the corresponding formyl-indoles was observed when adding Cu(OTf) to the reaction medium. Retro-aldol and/or fragmentation of a transient 1,2-dioxetane heterocycle may account for this outcome. We thank Dr Michaël de Paolis (IRCOF, Rouen, France) for suggesting this latter explanation.

(10) Structures of **14** and **15** were fully ascertained by 2D NMR analysis. Structure of isomer **16** was attributed thanks to its ¹H NMR aromatic pattern: identical to **10** combined with its only two methyl signals and their NOESY correlations (See SI for detailed spectra analysis). Nevertheless, we were not able to obtain a pure sample of **16** which is always isolated as the minor constituent of an inseparable mixture with **10**.

(11) (a) Johnson, J.; Canseco, D.; Dolliver, D.; Schetz, J.; Fronczek, F. *J. Chem. Crystallogr.* **2009**, 39, 329-336. (b) Cohen, M. D.; Schmidt, G. M. J. *J. Chem. Soc.* **1964**, 1996-2000; (c) Cohen, M. D.; Schmidt, G. M. J.; Sonntag, F. I. *J. Chem. Soc.* **1964**, 2000-2013.

(12) Even during our early attempts of non-photochemical dimerization with Ledwith-Weitz salt, no dimeric entity has been observed. For the use of Ledwith-Weitz salt in the total synthesis of kingianins *via* RCDA see: (a) Drew, S. L.; Lawrence, A. L.; Sherburn, M. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 4221-4224; (b) Drew, S. L.; Lawrence, A. L.; Sherburn, M. S. *Chem. Sci.* **2015**, Advance Article, DOI: 10.1039/C5SC00794A; (c) Lim, H. N.; Parker, K. A. *Org. Lett.* **2013**, 15, 398-401; (d) Lim, H. N.; Parker, K. A. *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 919-926. Also, preliminary results of photoredox catalysis experiments carried out on monomers **1**, **2**, **8** and **9** with Ru(bpy)₃(PF₆)₂ under compatible conditions only led to *E/Z* isomerization of the starting materials without formation of any dimeric compound but further investigations are still ongoing

to test a questioned single electron transfer (SET) mechanism. (a) Prier, C. K.; Rankic, D. A.; MacMillan, D. W. C. *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 5322-5363. (b) Narayanam, J. M. R.; Stephenson, C. R. J. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 102-113. (c) Tucker, J. W.; Stephenson, C. R. J. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 1617-1622. (d) Du, J.; Yoon, T. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 14604-14605. (e) Ischay, M. A.; Ament, M. S.; Yoon, T. P. *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 2807-2811. (f) Riener, M.; Nicewicz, D. A. *Chem. Sci.* **2013**, *4*, 2625-2629. (g) Yoon, T. P. *ACS Catal.* **2013**, *3*, 895-902.

(13) Inspired by previously reported ring expansion cascade of Baran and Wenkert respectively: (a) Baran, P. S.; O'Malley, D. P.; Zografos, A. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2674-2677. (b) Wenkert, E.; Moeller, P. D. R.; Piettre, S. R.; McPhail, A. T. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 3404-3409.

(14) A SET mediated pathway is, however, also conceivable and is currently under investigation in our laboratory.

(15) Saturation of a solution of **11** in water is visible from less than 0.1 mg/mL (*i.e.*, 0.2 mM).

(16) Experiments carried out with various proportions of water and DMSO or DMF as cosolvent from 10% to 100% of cosolvent.

(17) See SI for an LC/MS chromatogram showing the formation of an isomeric compound $[M+H]^+ = 511.2092$ from **10** in highly diluted medium.

4.3. Partie expérimentale.

IR spectra were recorded with a Vector 22 Bruker spectrophotometer. NMR spectra were recorded on Bruker AM-300 (300 MHz), AM-400 (400 MHz), and AV-600 (600 MHz) apparatus using CD₃OD, DMSO-*d*₆, and DMF-*d*₇ as solvents; solvent signals were used as references. HRMS-ESI and LC/MS were run on a Thermoquest TLM LCQ Deca ion-trap spectrometer with an XBridge analytical C₁₈ column (150 × 2.1 mm; 3.5 μm, Waters) and a preparative column (150 × 19 mm, 5 μm, Waters). Sunfire preparative C₁₈ columns (150 × 30 mm; i.d. 5 μm, Waters) were used for preparative HPLC separations using a Waters Delta Prep equipped with a binary pump (Waters 2525) and a UV-visible diode array detector (190–600 nm, Waters 2996). Microwave irradiation was performed using a CEM Discover Labmate microwave oven using 5-mL pressurized vials. Temperature measurements of microwave experiments were performed using an external infrared fiber optic probe. All other chemicals and solvents were purchased from Aldrich and SDS (France) and required no further purification.

Photodimerization ; general procedure

Monomers (0.025 mmol) were solubilized in DMF (5 mL) into an open crystallizing dish (8-cm diameter) in order to provide a thin film (1-mm thick) of solution (5 mM). Solution was allowed to concentrate to dryness (as DMF evaporation during the process is needed for efficient dimerization) with homogeneous exposure to light. The solution was exposed to light for 14 h at r.t. under a normal air atmosphere and the dried residue obtained was examined by LC/MS analysis (MeCN–H₂O, 5:95 to 100:0 + 0.1% HCO₂H, 20 min). Numerous experiments were carried out simultaneously. The batches coming from multiple irradiating runs were then pooled, centrifugated, and purified by reverse-phase HPLC. The centrifugation step is required due to the low solubility of the products prior to purification.

■ Cyclobutanes **10** and **14**

Starting with a 5 mM solution of **1** (1.073 g) in DMF, the batch was divided into 113 individual experiments as follows: to a solution of **1** (9.5 mg, 0.025 mmol) in DMF (5 mL) was added CuOTf–toluene complex (6.5 mg, 0.0125 mmol). The mixture was then exposed to light at r.t. in an open crystallizing dish for 14 h. The dry residue obtained was then solubilized in MeOH (2 mL), pooled with 112 similar experiments and evaporated under reduced pressure. The dry residue was purified, after centrifugation, by preparative HPLC (2% to 30% MeCN–H₂O + 0.2% HCO₂H, 10 min at 42 mL/min, Sunfire) to give **10** (*t*_R = 5.7 min, 168 mg, 15.7%) and **14** (*t*_R = 6.0 min, 12 mg, 1.1%).

10 : IR (neat): 3142, 1707, 1659, 1589, 1460, 1388 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ = 7.43 (d, *J* = 7.5 Hz, 2 H), 7.37 (br s, 2 H), 7.17 (t, *J* = 7.5 Hz, 2 H), 7.04 (t, *J* = 7.5 Hz, 2 H), 6.94 (d, *J* = 7.5 Hz, 2 H), 5.50 (s, 2 H), 3.35 (s, 6 H), 3.33 (s, 6 H). ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD): δ = 174.9, 159.2, 137.6, 127.9, 125.0, 123.8, 121.2, 117.3, 113.3, 104.7, 70.1, 48.4, 30.4, 27.4. HRMS (ESI-TOF): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₂₈H₂₉N₈O₂: 509.2413; found: 509.2419.

14 : IR (neat): 3142, 1707, 1659, 1589, 1460, 1388 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ = 7.39 (d, J = 7.9 Hz, 2 H), 7.18–7.13 (m, 4 H), 7.04 (t, J = 7.9 Hz, 2 H), 6.98 (d, J = 7.9 Hz, 2 H), 5.25 (s, 2 H), 3.64 (s, 3 H), 3.30 (s, 3 H), 3.21 (s, 3 H), 3.13 (s, 3 H). ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ = 176.1, 172.3, 159.6, 157.7, 137.7, 127.8, 124.9, 123.7, 121.1, 117.6, 113.2, 104.9, 71.8, 70.1, 47.7, 32.2, 27.8, 27.4, 26.7. HRMS (ESI-TOF): m/z [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{29}\text{N}_8\text{O}_2$: 509.2411; found: 509.2408.

■ Cyclobutanes **11**, **15**, and **16**

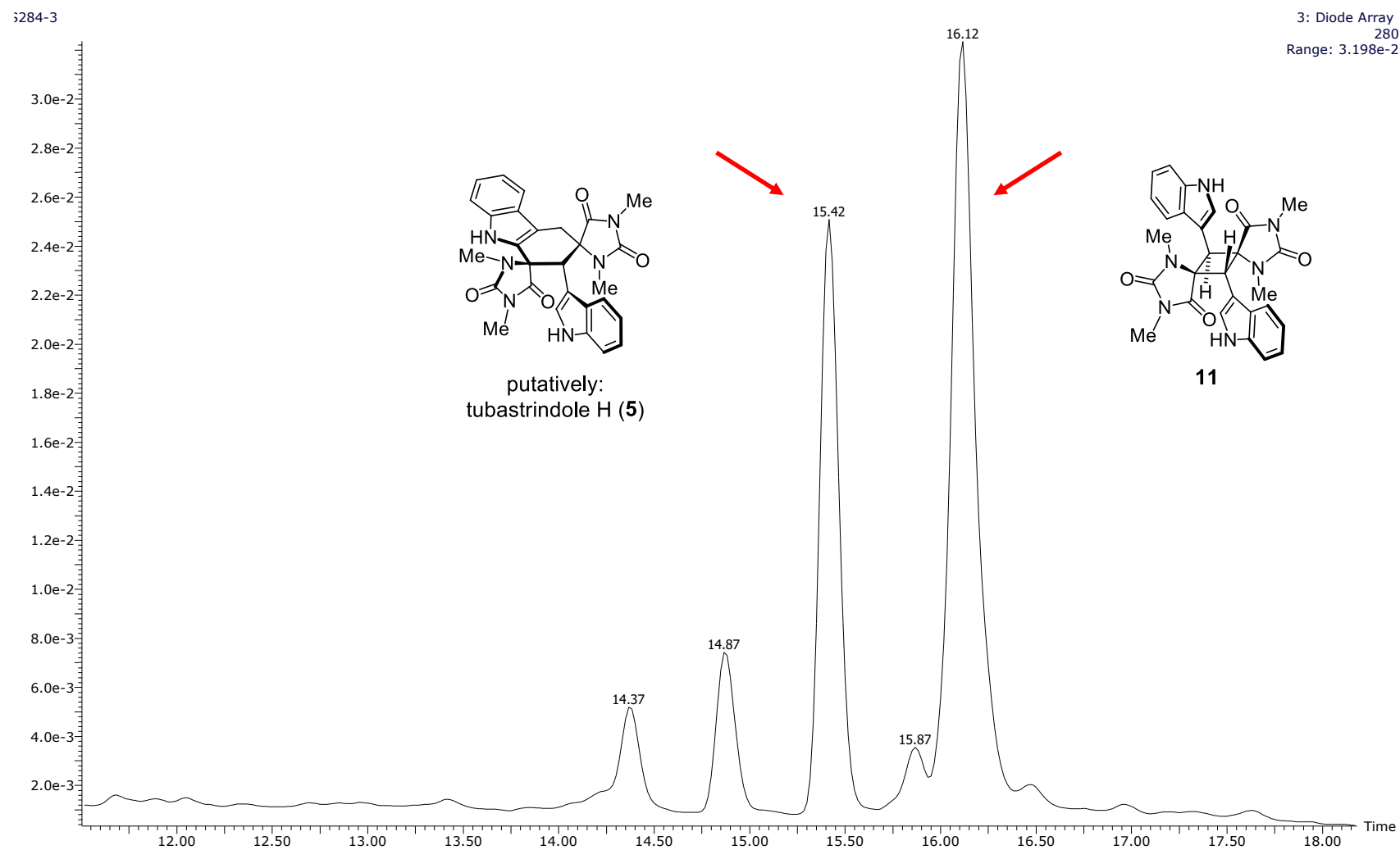
Starting with a 5 mM solution of **2** (360 mg) in DMF, the batch was divided into 45 small experiments as follow: a solution of **2** (8 mg, 0.031 mmol) was exposed to light at r.t. in an open crystallizing dish for 14 h. The dry residue obtained was then solubilized in MeOH (2 mL), pooled with 44 similar experiments and evaporated under reduced pressure. The dry residue was purified, after centrifugation, by preparative HPLC (25% to 60% MeCN– H_2O + 0.2% HCO_2H , 15 min at 42 mL/min, Sunfire) to give **11** (t_{R} = 13.2 min, 19 mg, 5.3%) and **15** (t_{R} = 13.8 min, 4 mg, 1.1%). Compound **16** co-eluted with **11** as a minor compound (see the Supporting Information for the presentation of ^1H and NOESY NMR spectra).

11 : IR (neat): 3335, 1769, 1695, 1461, 1430, 1392 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 7.40 (d, J = 7.5 Hz, 2 H), 7.27 (br s, 2 H), 7.10 (t, J = 7.5 Hz, 2 H), 6.97 (t, J = 7.5 Hz, 2 H), 6.89 (d, J = 7.5 Hz, 2 H), 5.32 (s, 2 H), 3.14 (s, 6 H), 2.97 (s, 6 H). ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 174.5, 155.5, 135.6, 126.8, 123.2, 121.8, 119.3, 116.7, 111.9, 105.2, 66.3, 44.8, 27.2, 25.0. HRMS (ESI-TOF): m/z [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_4$: 511.2088; found: 511.2100.

15 : IR (neat): 3335, 1769, 1695, 1461, 1430, 1392 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 7.39 (d, J = 7.9 Hz, 2 H), 7.15–7.04 (m, 4 H), 7.02–6.89 (m, 4 H), 6.98 (d, J = 7.9 Hz, 2 H), 5.06 (s, 2 H), 3.38 (s, 3 H), 3.04 (s, 3 H), 2.97 (s, 3 H), 2.87 (s, 3 H). ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 175.6, 171.8, 156.4, 154.8, 135.6, 126.5, 123.2, 121.7, 119.3, 116.8, 111.9, 104.9, 68.6, 66.0, 44.1, 29.1, 25.2, 24.8, 24.7. HRMS (ESI-TOF): m/z [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_4$: 511.2088; found: 511.2102.

16 alongside **15**: ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) see the Supporting Information for spectra of the mixture showing key signals and NOESY correlations. Notably: δ = 7.33 (d, J = 7.8 Hz, 2 H), 7.23 (br s, 2 H), [overlapped or common signals], 5.30 (s, 2 H), 3.21 (s, 6 H), 2.73 (s, 6 H).

HPLC-MS chromatogram of rearranged **11** into a constitutional isomer : putatively synthetic tubastrindole H (**5**)



■ Cyclobutane 12

To a solution of **8** (11.5 mg, 0.025 mmol) in DMF (5 mL) was added CuOTf–toluene complex (6.5 mg, 0.0125 mmol). The mixture was then exposed to light at r.t. in an open crystallizing dish for 14 h. The dry residue obtained was then solubilized in MeOH (2 mL), pooled with 13 similar experiments and evaporated under reduced pressure. Compound **12** was purified, after centrifugation by preparative HPLC (5% to 30% MeCN–H₂O + 0.2% HCO₂H, 15 min at 42 mL/min, *t_R* = 9.3 min) to yield an amorphous solid (18.7 mg, 11.6% isolated yield).

12 : IR (neat): 3142, 1707, 1659, 1589, 1460, 1388 cm⁻¹. ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ = 7.58 (d, *J* = 1.4 Hz, 2 H), 7.34 (br s, 2 H), 7.15 (dd, *J* = 8.4, 1.4 Hz, 2 H), 6.84 (t, *J* = 8.4 Hz, 2 H), 5.41 (s, 2 H), 3.32 (s, 6 H), 3.27 (s, 6 H). ¹³C NMR (75 MHz CD₃OD): δ = 175.0, 158.9, 138.4, 127.1, 125.7, 124.2, 119.2, 117.0, 116.0, 105.9, 69.7, 48.3, 30.0, 27.0. HRMS (ESI-TOF): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₂₈H₂₇N₈O₂Br₂: 665.0624; found: 665.0622.

■ Cyclobutane 17

To a solution of **1** (5 mg, 0.0125 mmol) and **8** (6 mg, 0.0125 mmol, 1 equiv) in DMF (5 mL) was added CuOTf–toluene complex (6.5 mg, 0.0125 mmol). The mixture was then exposed to light at r.t. in an open crystallizing dish for 14 h. The dry residue obtained was then solubilized in MeOH (2 mL), pooled with 13 similar experiments and evaporated under reduced pressure. Compound **17** was purified after centrifugation by preparative HPLC (2% to 30% MeCN–H₂O + 0.2% HCO₂H, 15 min at 42 mL/min, *t_R* = 8.9 min) to yield **17** (11.2 mg, 7.6%) as an amorphous solid.

17 : IR (neat): 3010, 1653, 1587, 1458, 1397 cm⁻¹. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ = 7.59 (d, *J* = 1.4 Hz, 1 H), 7.41 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H), 7.36 (br s, 1 H), 7.34 (br s, 1 H), 7.13–7.17 (m, 2 H), 7.03 (t, *J* = 7.6 Hz, 1 H), 6.93 (d, *J* = 8.0 Hz, 1 H), 6.84 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H), 5.46 (s, 1 H), 5.44 (s, 1 H), 3.33 (s, 6 H), 3.28 (s, 6 H). ¹³C NMR (100 MHz CD₃OD): δ = 175.2, 158.9, 138.4, 137.6, 128.1, 127.1, 125.7, 124.7, 124.2, 123.6, 121.0, 119.2, 117.6, 116.9, 116.0, 113.2, 106.0, 105.4, 69.8, 48.1, 30.04, 30.00, 27.0. HRMS (ESI-TOF): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₂₈H₂₈N₈O₂Br: 587.1519; found: 587.1514.

■ (±)-Dictazole B (**3**)

To a solution of **8** (6 mg, 0.0125 mmol) and **9** (4 mg, 0.0125 mmol, 1 equiv) in DMF (5 mL) was added Bi(OTf)₃ (8.2 mg, 0.0125 mmol). The mixture was then exposed to light at r.t. in an open crystallizing dish for 14 h. The dry residue obtained was then solubilized in MeOH (2 mL), pooled with 27 similar experiments and evaporated under reduced pressure. Compound **3** was purified after centrifugation on preparative HPLC (15% to 35% MeCN–H₂O + 0.2% HCO₂H, 30 min at 42 mL/min, *t_R* = 11.4 min) to yield (±)-dictazole B (**3**) (9.2 mg, 3.4% isolated yield) as an amorphous solid.

3 : IR (neat): 3010, 1653, 1587, 1458, 1397 cm^{-1} . ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 11.34 (br s, 1 H), 11.26 (br s, 1 H), 7.62 (br s, 1 H), 7.58 (br s, 1 H), 7.50 (br s, 1 H), 7.18 (br s, 1 H), 7.15 (br d, J = 8.5 Hz, 1 H), 7.07 (br d, J = 8.5 Hz, 1 H), 6.96 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 6.78 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 5.24 (s, 1 H), 5.04 (s, 1 H), 3.31 (s, 3 H), 3.27 (s, 3 H), 2.97 (s, 3 H). ^{13}C NMR (150 MHz $\text{DMSO}-d_6$): δ = 187.7, 173.6, 170.0, 156.7, 136.5, 136.4, 125.8, 125.2, 124.0, 122.3, 121.9, 119.2, 118.2, 114.6, 114.5, 114.4, 105.7, 105.2, 68.3, 68.1, 45.6, 45.4, 29.6, 28.3, 27.0. HRMS (ESI-TOF): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{25}\text{N}_8\text{O}_2\text{Br}_2$: 651.0467; found: 651.0464.

■ (\pm)-Tubastrindole B (**4**)

A solution of cyclobutane **10** (186 mg, 2.43×10^{-1} mmol) in H_2O (56 mL) with an excess of TFA (5 v/v%), was heated under microwave (300 W) to 110 $^\circ\text{C}$ (divided into 43×1.3 mL small experiments) and maintained at that temperature for 85 s. The solvent was evaporated under reduced pressure to obtain a yellowish dry residue that was quickly purified by preparative HPLC (2% to 20% MeCN– H_2O + 0.2% HCO_2H , 10 min at 42 mL/min) to give **4** (t_{R} = 8.8 min, 74 mg, 40%).

4 : IR (neat): 3318, 1769, 1690, 1589, 1460, 1388 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ = 7.66 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7.55 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7.41 (d, J = 8 Hz, 2 H), 7.31 (t, J = 7.5 Hz, 1 H), 7.19 (t, J = 7.5 Hz, 2 H), 7.13 (t, J = 7.5 Hz, 1 H), 7.05 (s, 1 H), 4.56 (s, 1 H), 3.81 (d, J = 17.5 Hz, 1 H), 3.62 (d, J = 17.5 Hz, 1 H), 3.32 (s, 3 H), 3.12 (s, 3 H), 2.91 (s, 3 H), 2.67 (s, 3 H). ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ = 174.4, 172.8, 161.5, 158.8, 139.6, 136.7, 128.9, 126.1, 126.6, 125.8, 124.9, 124.1, 123.9, 121.5, 121.4, 120.1, 118.2, 114.8, 113.08, 113.0, 104.1, 72.3, 72.2, 44.8, 33.1, 28.3, 27.7, 26.7, 26.5. HRMS (ESI-TOF): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{29}\text{N}_8\text{O}_2$: 509.2413; found: 509.2415.

■ Biosynthetic intermediate **18** and compound **20**

A solution of cyclobutane **10** (90 mg, 1.18×10^{-1} mmol) in H_2O (30 mL) was heated under microwave (300 W) to 110 $^\circ\text{C}$ (divided into 23×1.3 mL small experiments) and maintained at that temperature for 85 s. The solvent was evaporated under reduced pressure to obtain a yellowish dry residue.

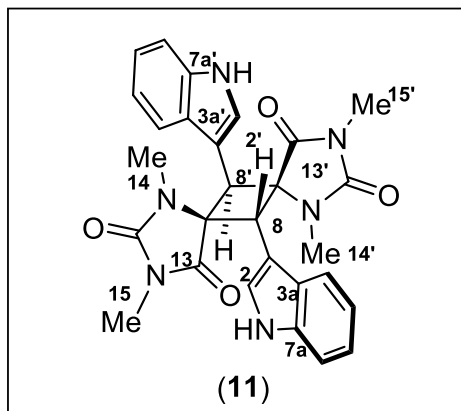
Compound **18** (t_{R} = 12 min, 14.5 mg, 16%) was obtained when the dry residue was quickly purified by preparative HPLC (1% to 20% MeCN– H_2O + 0.2% HCO_2H , 20 min at 42 mL/min, Sunfire) along with recovered **10** (t_{R} = 10 min, 35 mg, 39%).

When the microwaved solution remained in H_2O for 12 h, **20** (t_{R} = 6.7 min, 8 mg, 9%) was formed and purified by preparative HPLC (5% to 30% MeCN– H_2O + 0.2% HCO_2H , 15 min at 17 mL/min, XBridge).

18 : IR (neat): 3142, 1769, 1707, 1670, 1589, 1460, 1388 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ = 7.49 (d, J = 7.5 Hz, 1 H), 7.44 (d, J = 7.5 Hz, 1 H), 7.32 (d, J = 7.5 Hz, 1 H), 7.23 (t, J = 7.5 Hz, 1 H), 7.19 (t, J = 7.5 Hz, 1 H), 7.13 (t, J = 7.5 Hz, 1 H), 6.99 (s, 1 H), 6.85 (t, J = 7.5 Hz, 1 H), 6.77 (d, J = 7.5 Hz, 1 H), 5.94 (d, J = 3.5 Hz, 1 H), 5.18 (d, J = 3.5 Hz, 1 H), 4.50 (s, 1 H), 3.26 (s, 3 H), 3.20 (s, 3 H), 3.03 (s, 3 H), 2.82 (s, 3 H). ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ = 175.6, 172.4, 159.2, 158.5, 155.4, 146.9, 137.4, 132.9, 128.3, 126.9, 123.9, 123.4, 123.1, 121.3, 121.1, 117.5, 113.4, 113.1, 107.7, 104.9, 74.7, 72.0, 63.5, 45.4, 31.4, 27.1, 26.8, 26.5. HRMS (ESI-TOF): m/z [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{29}\text{N}_8\text{O}_2$: 509.2411; found: 509.2408.

20 : IR (neat): 3318, 1769, 1707, 1670, 1589, 1460, 1388 cm^{-1} . ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ = 7.78 (d, J = 7.7 Hz, 1 H), 7.57 (d, J = 7.7 Hz, 1 H), 7.45 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7.39 (d, J = 8 Hz, 1 H), 7.34 (t, J = 7.5 Hz, 1 H), 7.23 (t, J = 7.5 Hz, 1 H), 7.19 (t, J = 7.5 Hz, 1 H), 7.14 (t, J = 7.5 Hz, 1 H), 7.00 (s, 1 H), 5.50 (s, 1 H), 5.03 (s, 1 H), 3.18 (br s, 6 H), 2.84 (s, 3 H), 2.77 (s, 3 H). ^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD): δ = 171.3, 170.2, 159.3, 156.6, 137.9, 135.1, 127.6, 126.1, 124.7, 124.1, 123.9, 122.0, 120.3, 119.7, 118.6, 116.9, 111.6, 111.3, 103.6, 73.0, 69.8, 63.6, 38.5, 31.0, 26.5, 25.1, 24.6. HRMS (ESI-TOF): m/z [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{29}\text{N}_8\text{O}_3$: 525.2363; found: 525.2359.

Cyclobutane (11)



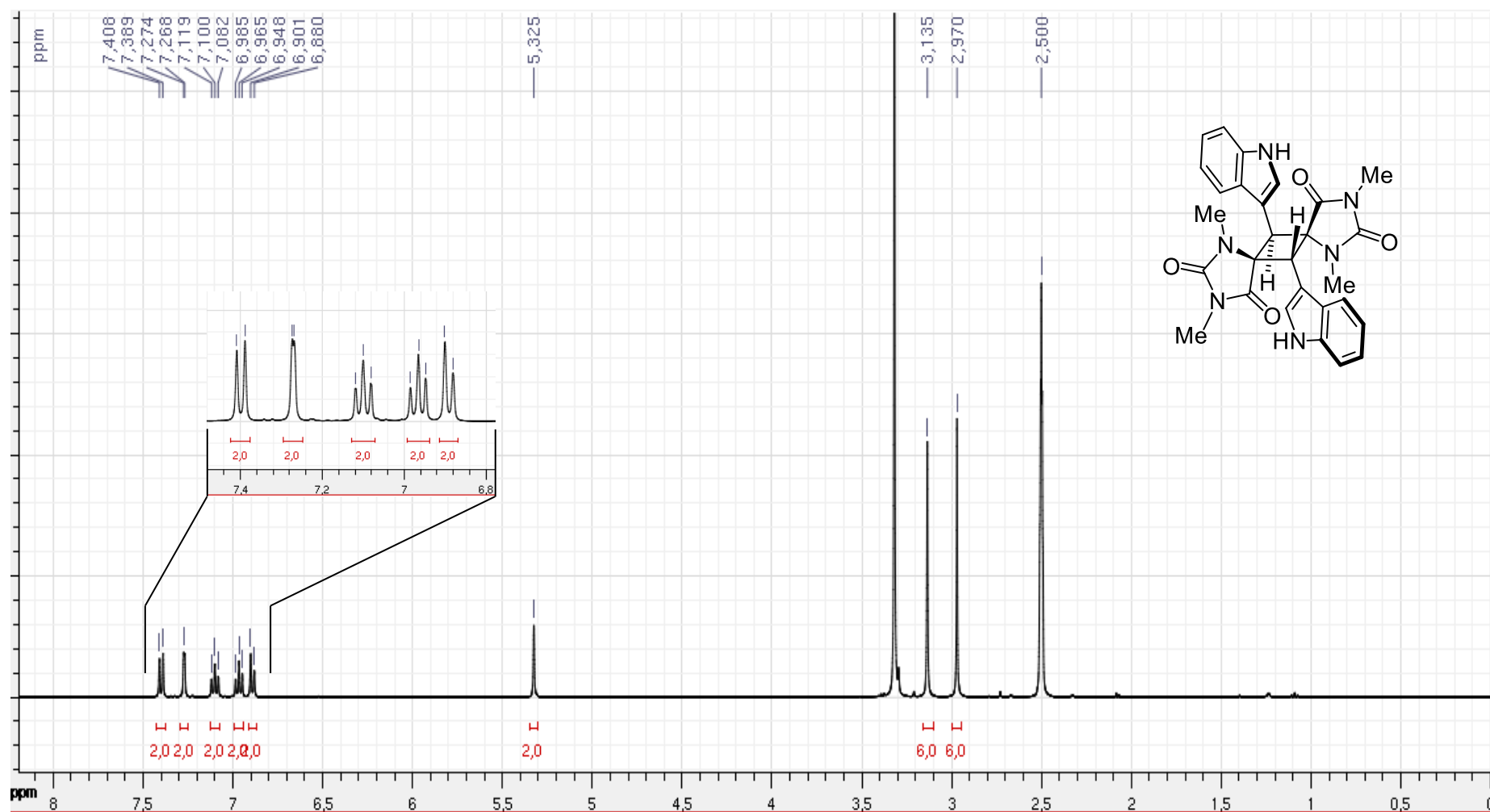
- White residue
- HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺ 511.2100
- IR ν = 3335, 1769, 1695, 1461, 1430, 1392 cm^{-1}

• ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) and ¹³C-NMR (100 MHz DMSO-*d*₆):

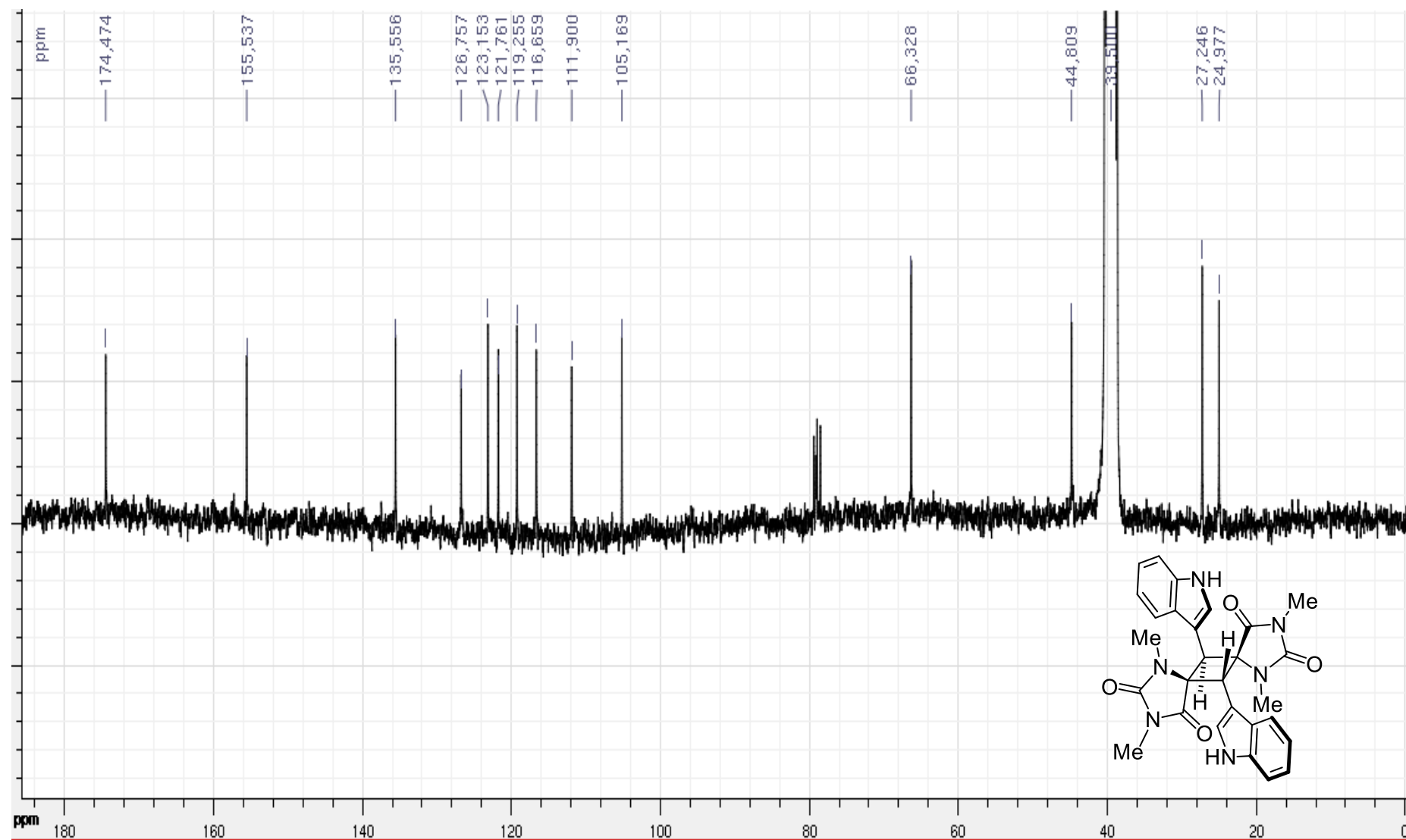
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7.40 (d, J = 7.5 Hz, 2 H), 7.27 (br s, 2 H), 7.10 (t, J = 7.5 Hz, 2 H), 6.97 (t, J = 7.5 Hz, 2 H), 6.89 (d, J = 7.5 Hz, 2 H), 5.32 (s, 2 H), 3.14 (s, 6 H), 2.97 (s, 6 H).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 174.5, 155.5, 135.6, 126.8, 123.2, 121.8, 119.3, 116.7, 111.9, 105.2, 66.3, 44.8, 27.2, 25.0.

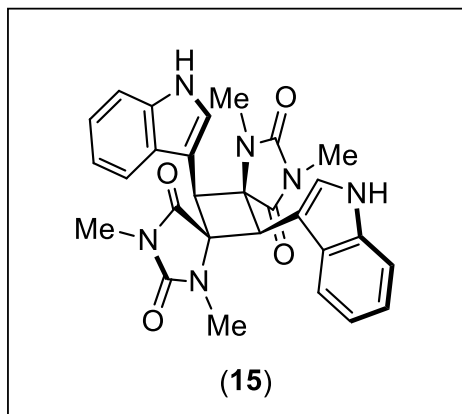
¹H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-d₆) of cyclobutane (11)



¹³C NMR spectrum (100 MHz, DMSO-d₆) of cyclobutane (11)



Cyclobutane (15)



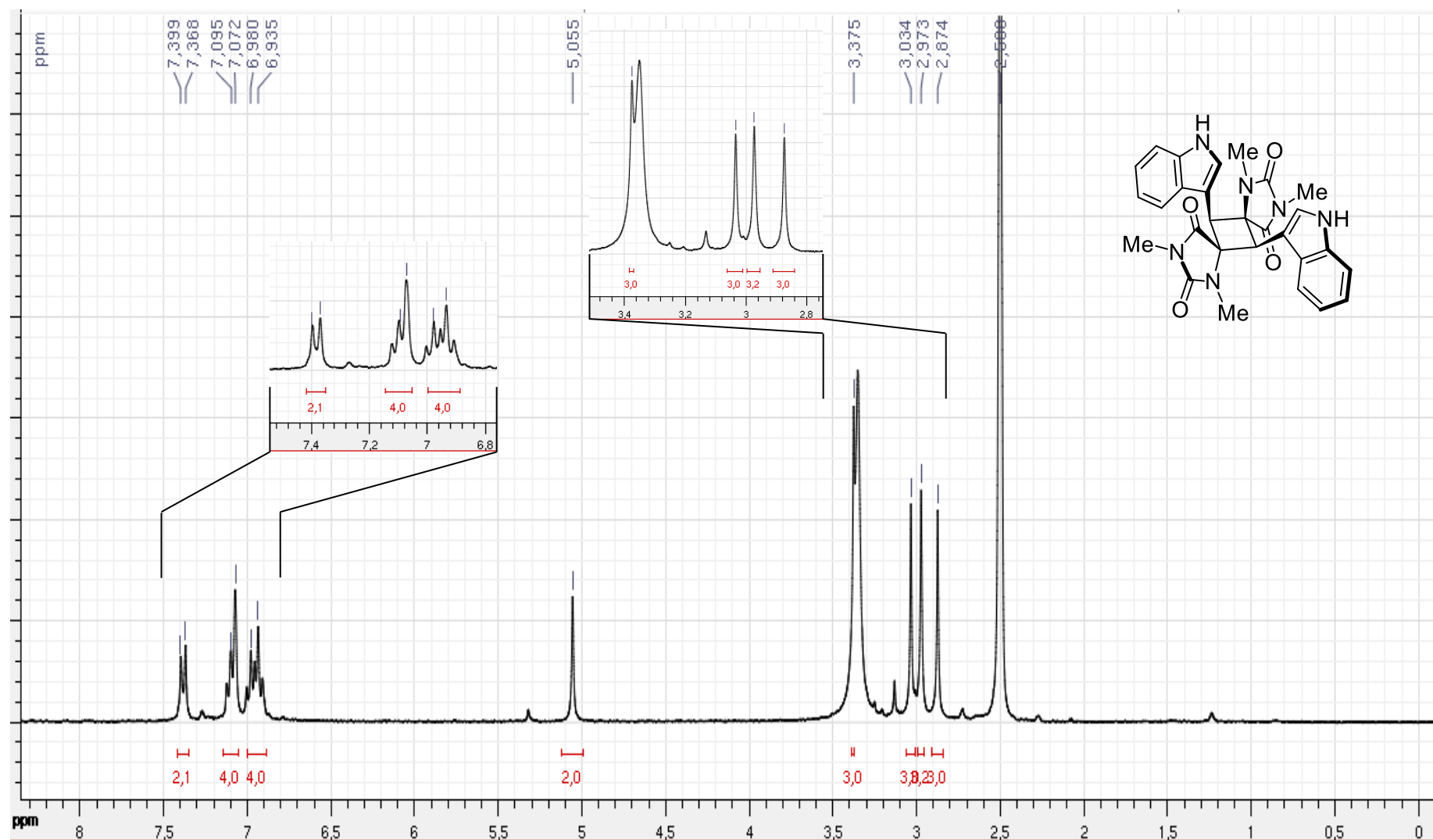
- White residue
- HRMS (ESI-TOF) m/z $[M+H]^+$ 511.2102
- IR $\nu = 3335, 1769, 1695, 1461, 1430, 1392 \text{ cm}^{-1}$

• $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) and $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz $\text{DMSO-}d_6$):

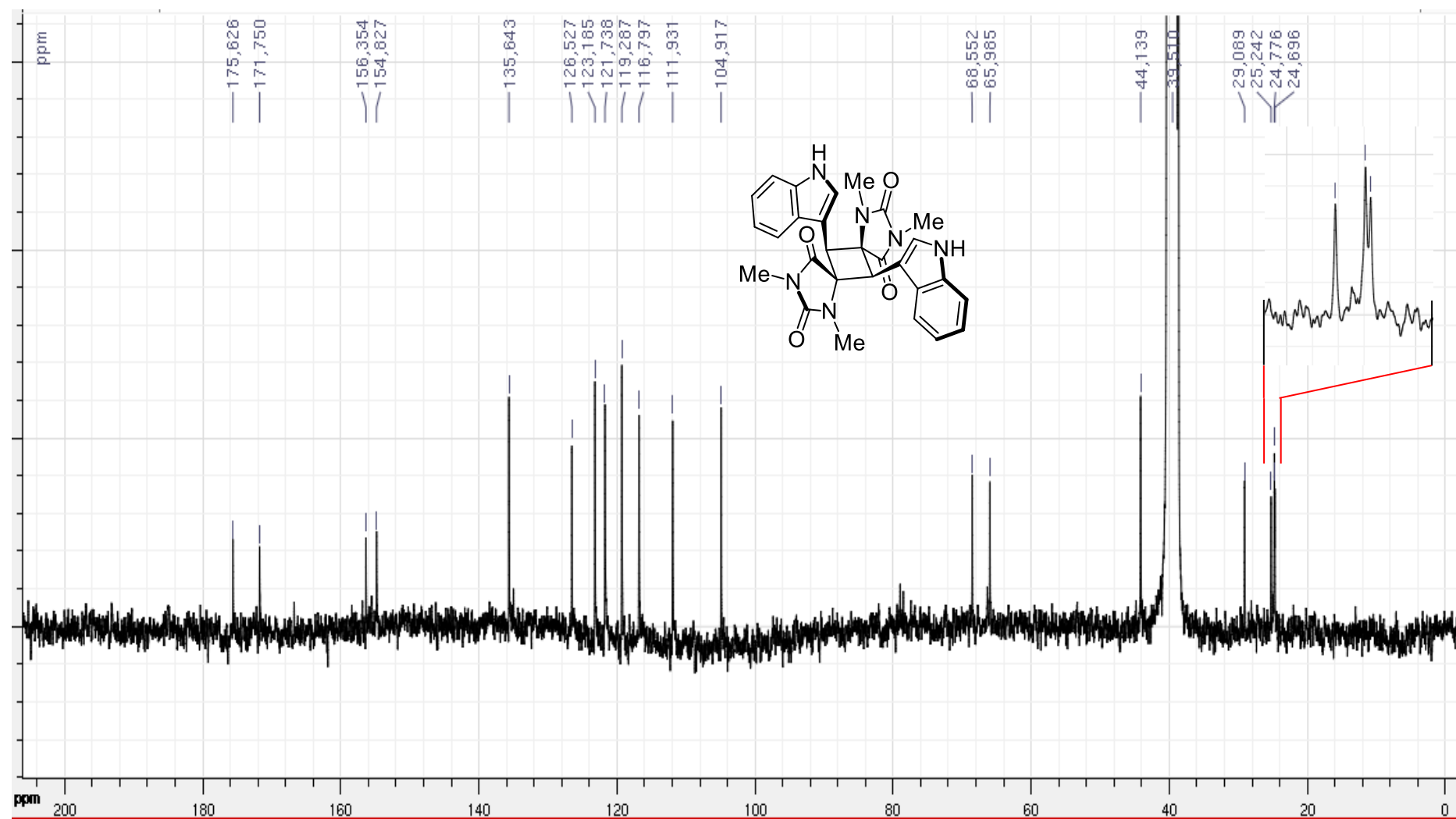
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 7.39$ (d, $J = 7.9$ Hz, 2 H), 7.15–7.04 (m, 4 H), 7.02–6.89 (m, 4 H), 6.98 (d, $J = 7.9$ Hz, 2 H), 5.06 (s, 2 H), 3.38 (s, 3 H), 3.04 (s, 3 H), 2.97 (s, 3 H), 2.87 (s, 3 H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 175.6, 171.8, 156.4, 154.8, 135.6, 126.5, 123.2, 121.7, 119.3, 116.8, 111.9, 104.9, 68.6, 66.0, 44.1, 29.1, 25.2, 24.8, 24.7$.

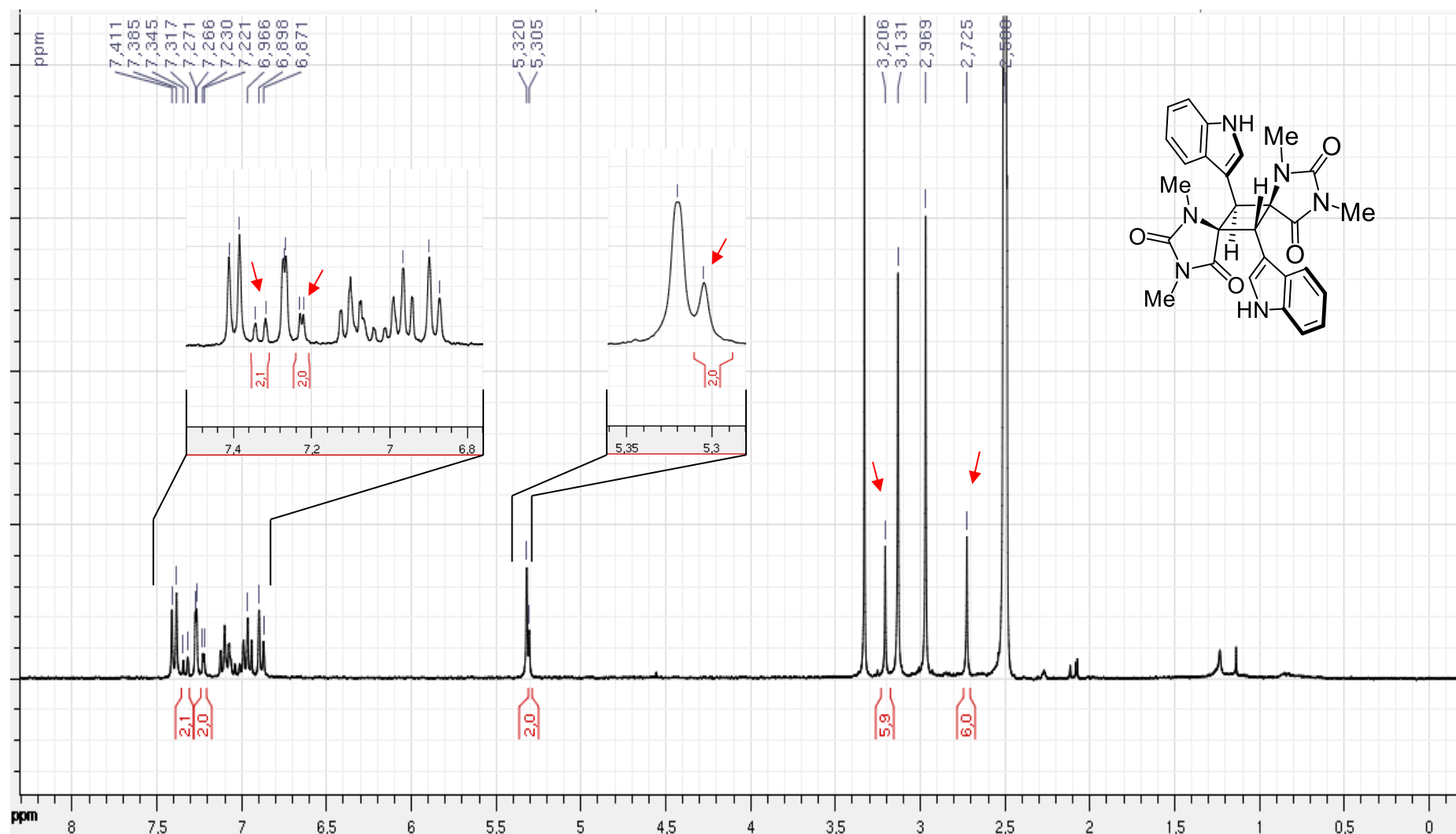
^1H NMR spectrum (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) of cyclobutane (**15**)



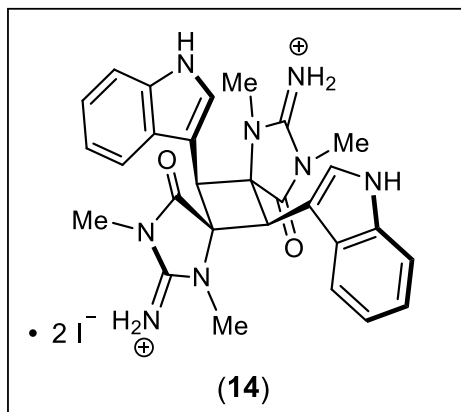
¹³C NMR spectrum (100 MHz, DMSO-d₆) of cyclobutane (**15**)



^1H NMR spectrum (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) of cyclobutane (**16**) (inseparable mixture with **11**)



Cyclobutane (14)



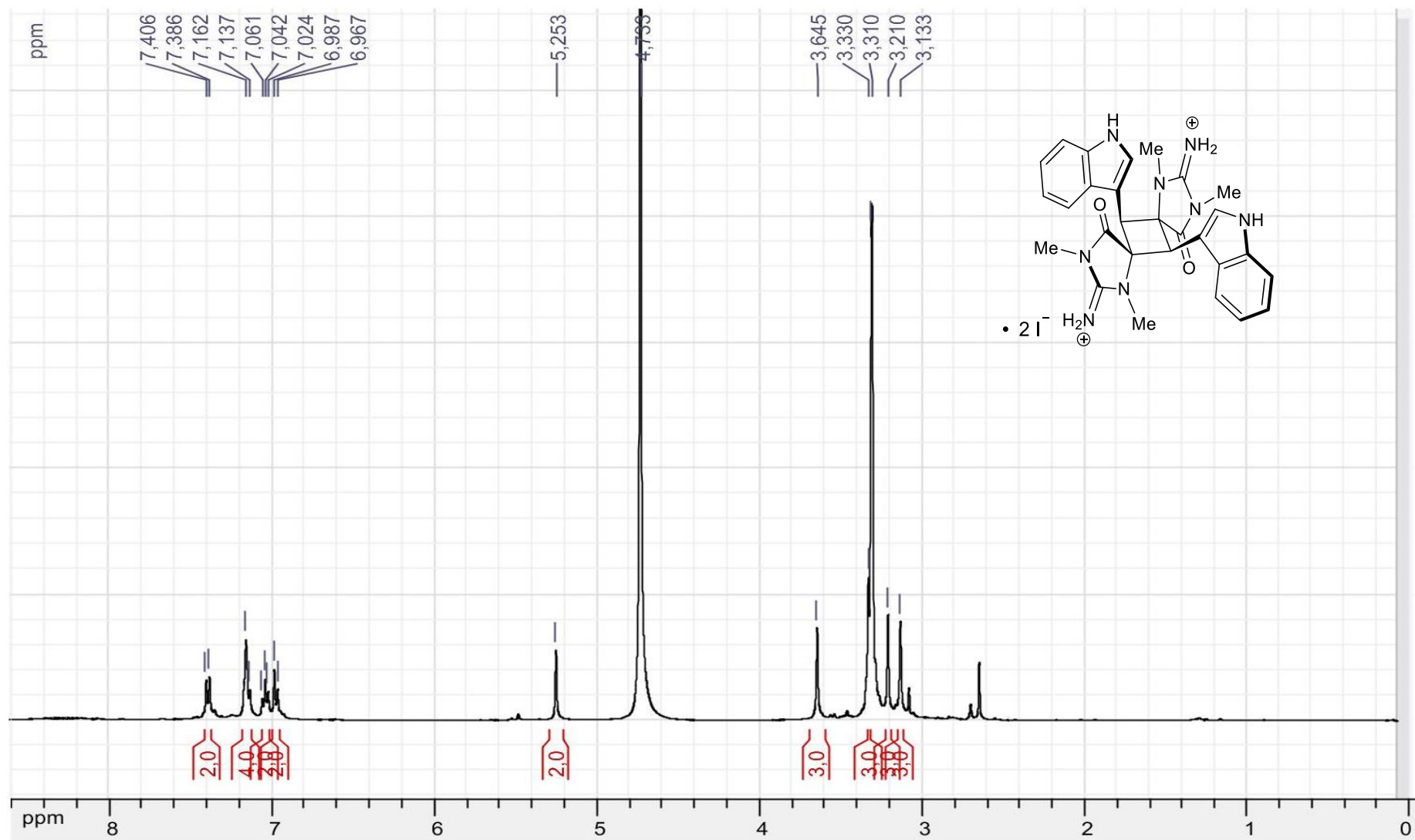
- Yellow residue
- HRMS (ESI-TOF) m/z [M+H]⁺ 509.2419
- IR ν = 3142, 1707, 1659, 1589, 1460, 1388 cm⁻¹

- ¹H-NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄) and ¹³C-NMR (100 MHz MeOD-*d*₄):

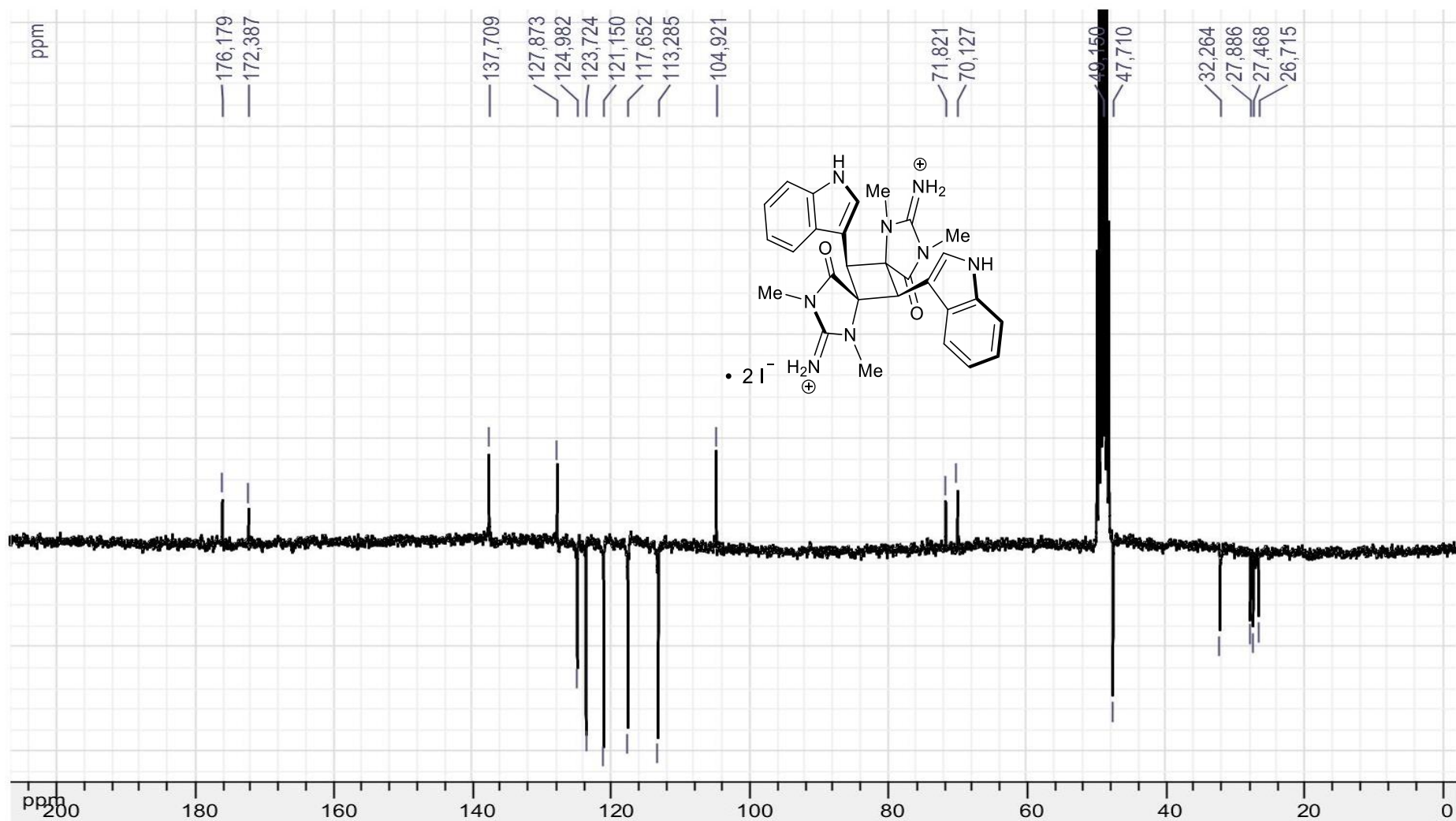
¹H NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄): δ = 7.39 (d, J = 7.9 Hz, 2 H), 7.18–7.13 (m, 4 H), 7.04 (t, J = 7.9 Hz, 2 H), 6.98 (d, J = 7.9 Hz, 2 H), 5.25 (s, 2 H), 3.64 (s, 3 H), 3.30 (s, 3 H), 3.21 (s, 3 H), 3.13 (s, 3 H).

¹³C NMR (100 MHz, MeOD-*d*₄): δ = 176.1, 172.3, 159.6, 157.7, 137.7, 127.8, 124.9, 123.7, 121.1, 117.6, 113.2, 104.9, 71.8, 70.1, 47.7, 32.2, 27.8, 27.4, 26.7.

^1H NMR spectrum (300 MHz, $\text{MeOD-}d_4$) of cyclobutane (**14**)



^{13}C NMR spectrum (75 MHz, MeOD- d_4) of cyclobutane (**14**)



4.4. Remarques sur le motif hydantoïne dans la série aplysinospine.

Cette étude élargie a permis de proposer une vision globale sur la famille des aplysinopsines. La mise au jour des réseaux synthétiques et biosynthétiques qui relient tous ces composés permet de comprendre avec plus de détail leur origine. L'insolubilité extrême et la réactivité bien spécifique des dérivés porteurs du motif hydantoïne a été un obstacle à la réalisation de plusieurs synthèses totales supplémentaires. Toutefois, la dimérisation photochimique du monomère **120** apporta nombre de données importantes. En effet, l'érosion de la diastérosélectivité de ce processus lorsque l'hydantoïne est présente a conduit à la formation du cyclobutanes **148** ainsi qu'à d'autres composés minoritaires atypiques (tel que **149**) (Schéma 34).

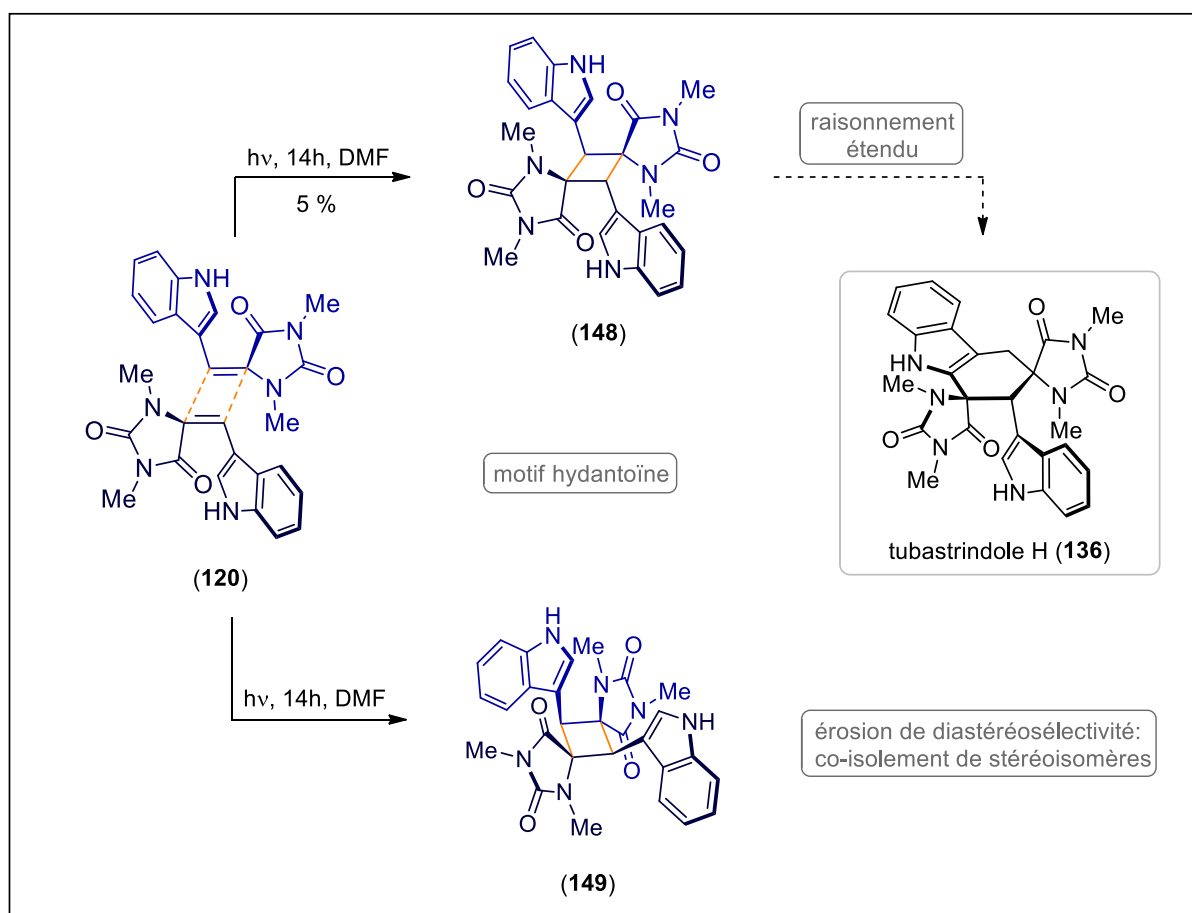


Schéma 34 : Dimérisation photochimique de **120**, influence du motif hydantoïne.

Dès lors, si on extrapole les résultats obtenus précédemment sur la série créatinine, on explique non seulement la formation du tubastrindole H (**136**) mais également l'émergence des cycloaplysinopsines A et B (**121-122**). Ainsi, ces résultats complètent le jeu de données obtenues lors des travaux antérieurs et permettront de développer un rationnel biosynthétiques plus éclairé.

5. Analyse biosynthétique des alcaloïdes marins dits "cyclobutane centrés".

5.1. Le développement d'un rationnel biogénétique issu de l'expérience.

Les différentes synthèses biomimétiques ainsi que l'ensemble des résultats complémentaires des études conduites sur cette famille d'alcaloïdes marins sont valorisables de bien des manières. Empreintes de spontanéité et reposant sur la réactivité intrinsèque de précurseurs biosynthétiques probables, ces synthèses fournissent des données expérimentales nombreuses et appropriées pour le développement d'une hypothèse biosynthétique complète. Ainsi, une analyse de l'émergence de la diversité et de la complexité au sein de cette famille de substances naturelles est proposée ci-après.

En fait, cette réflexion a été l'occasion de réaliser un parallèle entre la famille des aplysinopsines et celle des alcaloïdes de type pyrrole-imidazole. De nombreux points communs existent entre ces deux groupes de métabolites (ils sont évoqués à la section 3.1. de ce chapitre et détaillés par la suite). De plus, la dimérisation de monomères simples est à l'origine de nombreuses architectures moléculaires complexes connues dans ces deux séries chimiques naturelles. Encore, certaines molécules emblématiques possèdent un cyclobutane central comme la sceptrine (**143**) qui les rapproche de composés tels que le dictazole B (**138**) (Figure 21). Il est donc indéniable que des axes communs puissent unifier les deux familles.

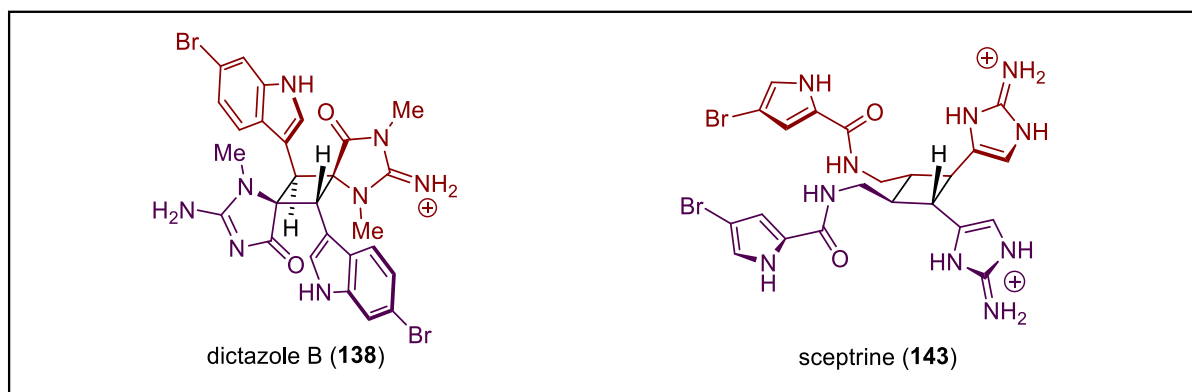


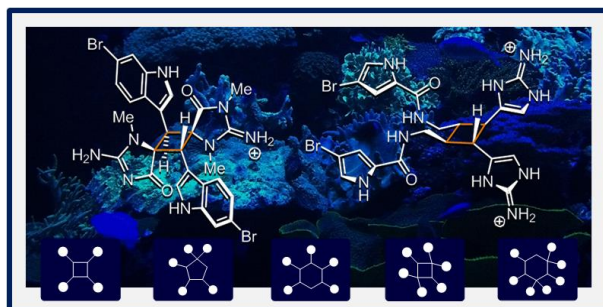
Figure 21 : Structures comparées des alcaloïdes cyclobutane centrés emblématiques.

Par ailleurs, bon nombre de ces alcaloïdes complexes ont été les cibles de synthèses plus ou moins bio-inspirées du fait de leurs structures attrayantes. Leur analyse permettra également de mesurer l'apport des stratégies de synthèses biomimétiques dans une double quête. Celle de réaliser les synthèses totales de cibles synthétiques très complexes tout en tirant un enseignement précieux sur l'origine biosynthétique de ces substances. En considérant les alcaloïdes "cyclobutane-centrés" comme de véritables tremplins vers la diversité, les réseaux biosynthétiques qui les entourent seront discutés. Enfin, cette étude de cas dichotomique a pour but de mettre en perspective le raisonnement appliqué à la famille des aplysinopsines dans un contexte plus large.

Natural Product Reports

2016

Emergence of diversity and stereochemical outcomes in the biosynthetic pathways of cyclobutane-centered marine alkaloid dimers.



Abstract:

Dictazoles and sceptrins are singular metabolites of marine origin. The present dichotomic case study provides a comprehensive perspective on these cyclobutane-centered alkaloids and their respective families. Indeed, their upstream and downstream chemistry are both treated herein. Relevant isolation reports and bio-inspired total syntheses are used to decipher the currently admitted biosynthetic hypotheses as well as the emergence of diversity in the two series. This review propose a transversal vision of the topic where most aspects of natural products chemistry have a critical importance.

1 Introduction: dictazoles and sceptrins, singular metabolites in their respective families of marine alkaloids

Needless to recall herein the major and ever growing importance of marine natural product chemistry. Discoveries have benefited, especially in the last decade, from technologies associated with genomics, proteomics, metabolomics and “classical” natural product chemistry. In this paper, a particular insight into the chemistry of the two existing main groups of “cyclobutane-centered” alkaloids is provided.¹ Far from simply listing natural compounds, we wish to compare (when reasonable) the origin, biosynthesis and emergence of molecular diversity within the two series.

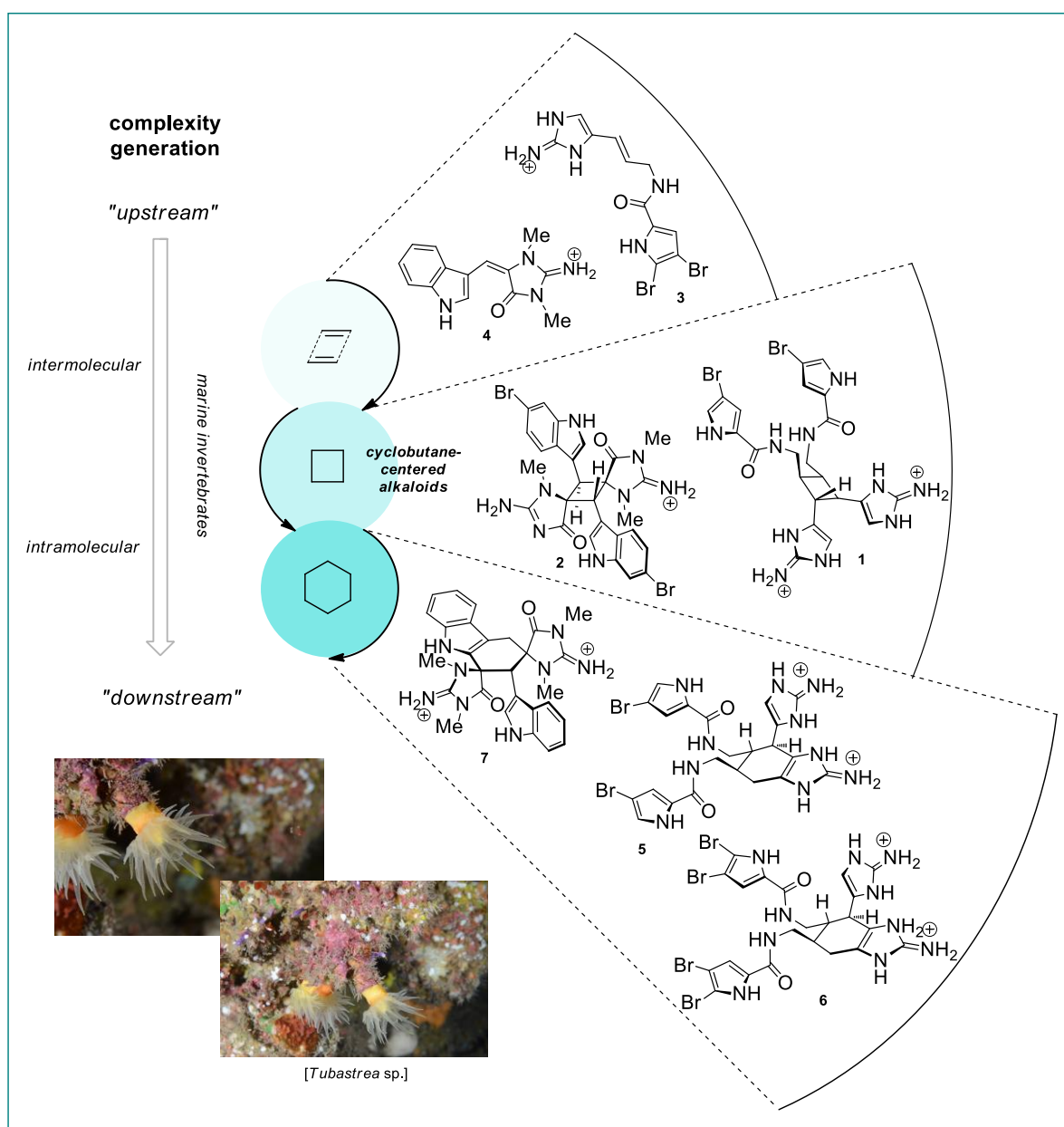


Figure 1 : Overview of the three interconnected aspects addressed in the review illustrated with iconic structures of the two series (pictures: copyright IRD/C. Debitus).

Besides this, these original natural substances have constituted challenging targets for total synthesis. As these latter may contribute to a better understanding of biosynthetic pathways, informative total syntheses will be highlighted in this review article. As a general guideline to understand the gateway to the topic, Figure 1 distinguishes three interconnected aspects. Firstly, natural substances displaying a central cyclobutane (with clearly two groups: sceptrins and dictazoles belonging respectively to the pyrrole imidazole and aplysinopsin alkaloids, e.g. sceptrin (**1**) and dictazole B (**2**)) will be analysed with a particular focus on their stereochemical specificities. Secondly

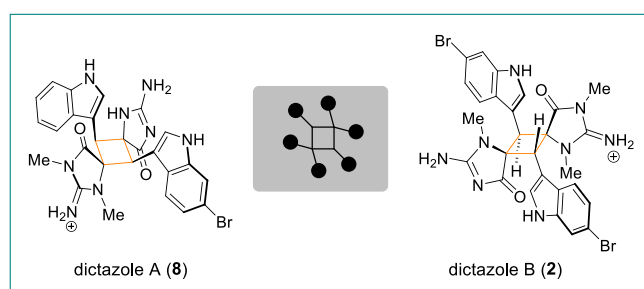


Figure 2 : Known cyclobutane-centered alkaloids of the aplysinopsin series.

and upstream in the biosynthetic timeline, the formation of the cyclobutane core from relevant monomers (e.g. oroidin (**3**) or aplysinopsin (**4**)) will be discussed keeping in mind chemical reactivities and ecological context. Thirdly, further degrees of complexity may emerge downstream (mainly by ring expansion, as for ageliferin (**5**),

dibromoageliferin (**6**) and tubastrindole B (**7**) among others) and will illustrate the intrinsic chemical reactivity of such architectures. Now, considering jointly the aplysinopsin family of alkaloids and pyrrole imidazole alkaloids (PIAs), the sheer wealth of structures encountered in these two families of marine alkaloids constitutes a breathtaking cabinet of curiosities for any keen chemist. These two groups of natural products share an additional feature. Indeed, beyond their overall diversity, both include a vast array of rather simple monomers associated to far more complex dimers.

Dictazoles (see Figure 2) and sceptrins (see Figure 3) are formal [2+2] dimers that belong to the families of natural products quoted above. Beyond their apparent structural differences, the two subgroups are built around a cyclobutane ring.

This shared structural feature incites to unify their biosynthetic position amid their relatives (*i.e.* simple monomers and more complex dimers possessing a diverse set of molecular skeletons). In the case of the aplysinopsins family, dictazoles (**2**, **8** Figure 2) possess one kind of formal [4+2] dimeric congeners called cycloaplysinopsins (**9-11**, Figure 6),

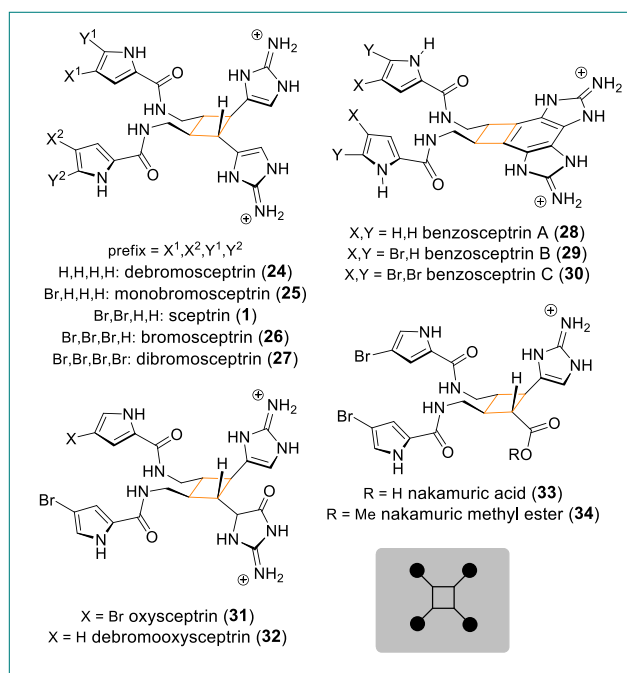


Figure 3 : Cyclobutane-centered APIs: "sceptrins".

dictazolines (12-16) or tubastrindoles (7, 17-23) (see section 2.1.3, Figure 6). Meanwhile, sceptrins (1, 24-34) (Figure 3) are linked to formal [3+2] dimers (e.g. massadines (35, 36) and axinellamines (37-40)) and to formal [4+2] dimers (e.g. agelifेरins (5, 6, 41), see section 2.1.3, Figure 7).

2 Isolation and stereochemical data

The pyrrole-imidazole alkaloids (PIAs) and aplysinopsin alkaloids constitute a group of densely functionalized and highly nitrogenated natural products, which to date have been exclusively isolated from marine sources. The PIAs are mainly found in sponges of the families Agelasidae, Axinellidae, Dictyonellidae and Halichondridae.² Meanwhile, the aplysinopsin alkaloids have been isolated from numerous sponges genera of the Thorectidae (*Thorecta* sp., *Smenospongia* sp.) and Dendrophylliidae corals (*Tubastrea* sp., *Dendrophylla* sp.) as well as from one Stychodactylidae sea anemone (*Radianthus kuekenthal* – now *Heteractis crispa*) and one Tergipedidae nudibranch (*Phestilla melanobrachia*).³

2.1 Isolation and chronological perspective

Now numbering more than 150 members for the PIAs⁴ and around 40 representatives for the aplysinopsins,³ a constant and astounding evolution in the scaffold diversity as well as in the molecular architecture complexity for these series has been evidenced in the last four decades.^{2, 5} Prior to a detailed discussion of the stereochemical data and their implications in the biosynthesis of dictazoles and sceptrins congeners, 40 years of research on aplysinopsin and pyrrole-imidazole alkaloids isolation reports (sources and collection depth) will be summarized herein (See Figure 4 for a chronological insight covering both families).

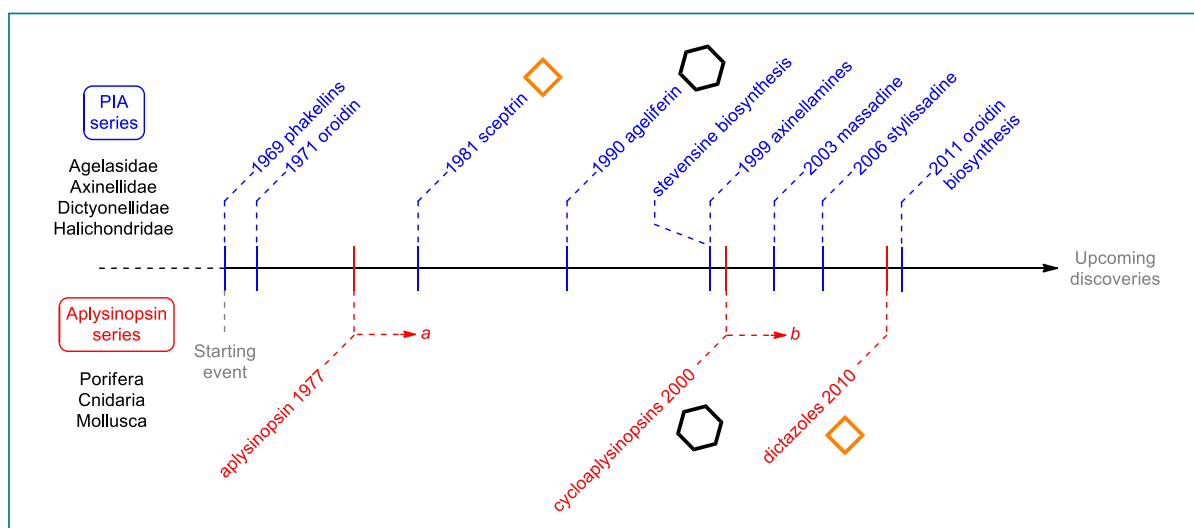


Figure 4 : The chronological discovery of novel scaffolds in the aplysinopsin and pyrrole-imidazole series. *a* Numerous aplysinopsin-type monomers have been isolated since then. *b* Other similar alkaloids have been isolated with distinct denominations (i.e. dictazolines and tubastrindoles).

As a consequence of the overwhelming number of these compounds, we endeavoured to cover the literature through selected cornerstones in respect to their chronological appearance as well as their putative biosynthetic relation to the cyclobutane-centered dimers, *i.e.* dictazoles and sceptrins. Indeed, a comprehensive description of the resulting variety of aplysinopsins and PIAs structures is outside the scope of the present review. The interested reader is referred to excellent reviews in the field.²⁻⁹

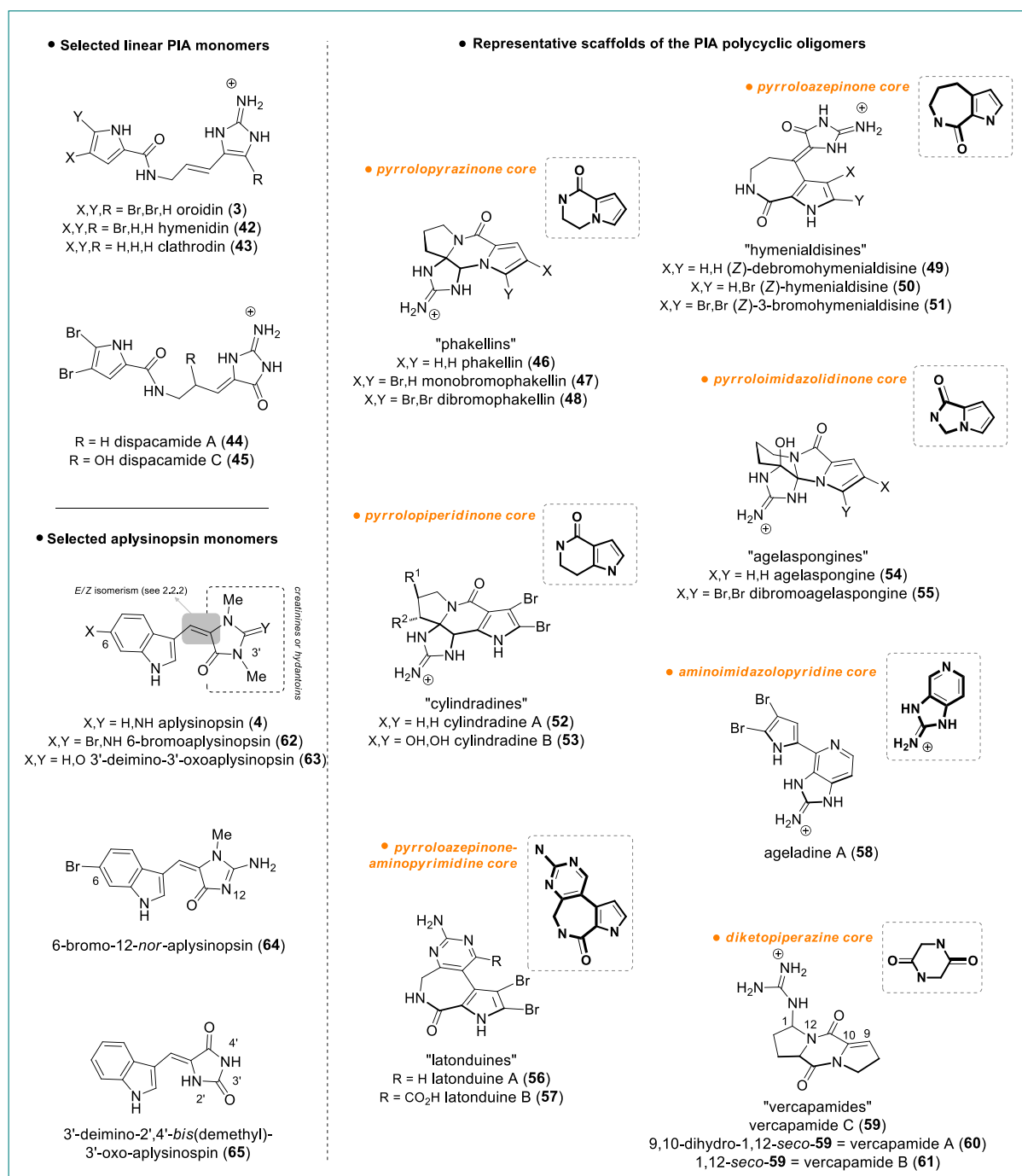


Figure 5 : Overview of the key monomers across the two families of alkaloids.

2.1.1 A diversity of PIA monomers

Although it is often heralded that the riveting tale of these intriguing compounds began in 1971 by the isolation of oroidin (**3**) from *Agelas oroides* by Forenza *et al.*,¹⁰ the true beginning occurred two years earlier by the discovery of the phakellin family of compounds in 1969.¹¹ Indeed, these compounds are of historic importance in marine natural product chemistry because they were among the first complex, halogenated alkaloids to be described.¹²

Nowadays, phakellins are considered to be a subset of the oroidin alkaloid class and the latter appeared to be the major metabolite of numerous species of marine sponges of the genera *Agelas*, *Axinella*, *Acanthella*, *Hymeniacidon*, *Phakellia* and *Pseudaxinyssa*.¹³ These findings were followed by several monomeric PIAs which some of them were linear, like hymenidin (**42**),¹⁴ clathrocin (**43**),¹⁵ dispacamides (e.g. **44** and **45**)¹⁶⁻²⁵ whereas others were polycyclic exhibiting, to date, seven types of different scaffolds: i) pyrrolopyrazinone core (e.g. phakellins (**46-48**),^{11, 12, 24, 26-29} agelastatins³⁰⁻³³ and cyclooroidins^{21, 34, 35}), ii) pyrroloazepinone core (e.g. hymenialdisines (**49-51**)^{28, 36-45}), iii) pyrrolpiperidinone core (e.g. cylindradines (**52-53**)⁴⁶⁻⁴⁹), iv) pyrroloimidazolidinone core (e.g. agelaspongines (**54-55**)⁵⁰), v) pyrroloazepinone-aminopyrimidine core (e.g. latonduines (**56-57**)⁵¹), vi) aminoimidazolopyridine core (e.g. ageladine A (**58**)⁵²), and vii) diketopiperazine core (e.g. verpacamides (**59-61**)⁵³) (Figure 5). Notably, these compounds are considered as common key building blocks of more complex PIAs.^{2, 54, 55}

2.1.2 Cyclobutane-centered alkaloids: sceptrings-dictazoles

In 1981, a decade after the discovery of the first monomeric PIA, Faulkner and Clardy groups isolated sceptring (**1**), the first dimer of the PIA family, from the Caribbean sponge *Agelas sceptringum* (collection depth: 20 - 30 m).⁵⁶ This natural product drawn contemporary interest because of its structural complexity and broad range of biological activities⁵⁷ including antifeedant,⁵⁸ antimicrobial⁵⁹ and antimuscarinic⁶⁰ properties.⁶¹ So far, sceptring (**1**) shares its cyclobutane core with 11 dimeric congeners of the PIA family (see Figure 3, section 1), namely by chronological appearance:

- 1991: monobromosceptring (**25**), dibromosceptring (**27**), oxysceptring (**31**) and debromooxysceptring (**32**), isolated from the Caribbean sponge *Agelas conifera* (collection depth: 50 m).⁶²
- 1998: debromosceptring (**24**), isolated from *Agelas conifera* (collection depth: 20 m).⁶³
- 1999: nakamuric acid (**33**) and nakamuric acid methyl ester (**34**), isolated from the Indo-Pacific sponge *Agelas nakamurai* (collection depth: 14 m).⁶⁴
- 2002: bromosceptring (**26**), isolated from *Agelas conifera* (collection depth: 19 m).⁴⁷

- 2009: benzosceptrins A (**28**) and B (**29**) both isolated from the Pacific sponges *Agelas cf. mauritiana* (collection depth: 18 - 30 m) and *Phakellia* sp., respectively.⁶⁵

- 2010: benzosceptrin C (**30**) isolated from the New Caledonian sponge *Agelas dendromorpha* (collection depth: 260 m).³³

Surprisingly in this same year, two new cyclobutanic compounds were described within the aplysinopsin family, *i.e.*, dictazoles A (**8**) and B (**2**). These compounds have been reported by Williams *et al.* from the Panamanian sponge *Smenospongia cerebriformis* (collection depth: 2 - 3 m).⁶⁶ These fascinating spiro-fused cyclobutanes may arise from the pairing of particularly simple monomers called aplysinopsins (e.g. **4**, **62-65**). These tryptophane-based specialized metabolites have been described for the first time by Wells *et al.* from the Indo-Pacific sponges *Thorecta* sp. in 1977.⁶⁷ The years following Well's seminal report saw the isolation of a spate of aplysinopsin monomers that, as for oroidin (**3**) and its congeners, mainly differ in the bromination state of the indole moiety and the *N*-methylation patterns of the creatinine or hydantoin heterocycle.^{3, 68-74}

2.1.3 Intricate dimers related to dictazoles and sceptrins

Beside these cyclobutanic compounds, another kind of dimers exists within the aplysinopsin family (Figure 6). Indeed, back to 2000, Koh and Sweatmann reported, with piecemeal experimental evidences, that an extract of the coral *Tubastrea faulkneri* contained dimers.⁷⁰ These latter were finally fully

characterized three years later from the stony corals *Tubastrea* sp., and named tubastrindoles A-C (**7**, **17-18**).⁷⁵

The above-mentioned compounds feature a tetrahydro-carbazole core. This report was followed in the same year, by the description of other dimers, called cycloaplysinopsins A-B (**9-10**), from the stony corals *Tubastrea* sp. (collection depth: 3 m).⁷⁶ Five years later, further investigation of the extracts of *Tubastrea aurea* afforded five new tubastrindoles D-H (**19-23**).⁷⁷ Moreover, the first dibrominated aplysinopsin dimers appeared when analysis of the extracts of the sponge *Smenospongia cerebriformis* yielded dictazolines A-B (**12-13**) (collection depth: 2 - 3 m).⁷⁸ In

2009, Meyer *et al.* reported the isolation

of cycloaplysinopsin C (**11**) from the stony corals *Tubastrea* sp. (collection depth: 12 m), native to Yemen.⁷⁹ Finally, in early 2010, Williams *et al.* reported the isolation of the last

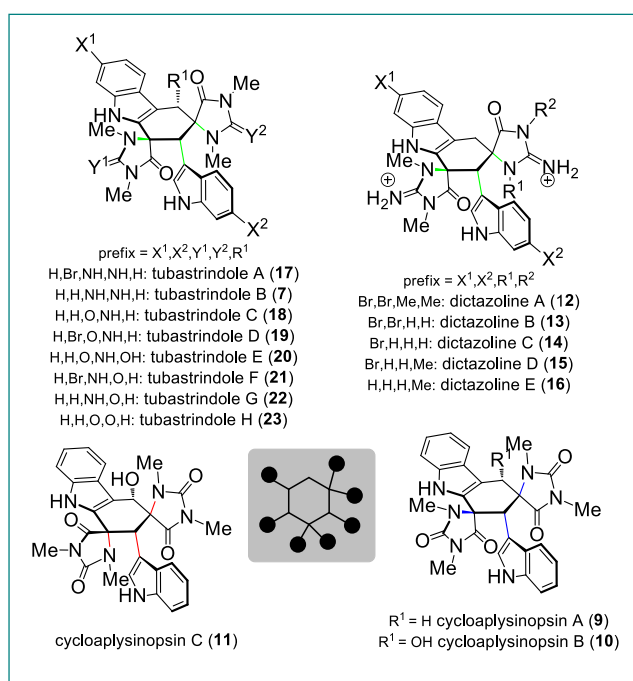


Figure 6: Tubastrindoles, dictazolines and cycloaplysinopsins.

tetrahydrocarbazole type dimers, called dictazolines C-E (**14-16**)⁶⁶ (collection depth: 2 - 3 m) from the same extract of *S. cerebriformis* that had afforded dictazoles A (**8**) and B (**2**) and dictazolines A (**12**) and B (**13**).

Having completed the description of the aplysinopsin family, we will, now, end the isolation report by focusing on cyclic pyrrole-imidazole dimers closely related to sceptrins and typified by massadines (**35-36**), axinellamines (**37-40**), ageliferins (**5, 6, 41**) and stylissadines (**66-67**) (Figure 7). Interestingly, the cyclohexenyl core of the cycloaplysinopsins mentioned above is also encountered within the dimeric PIAs. Indeed, in 1986, Rinehart reported the isolation of bicyclic, unsymmetrical dimers, called ageliferins (**5, 6, 41**), from the sponges *Agelas conifera* and *Agelas cf. mauritiana* (collection depth: 50 m).^{62, 80-83} The bicyclic core architecture is shared by other congeners of the family namely, nagelamides E-G (**68-70**).⁸⁴

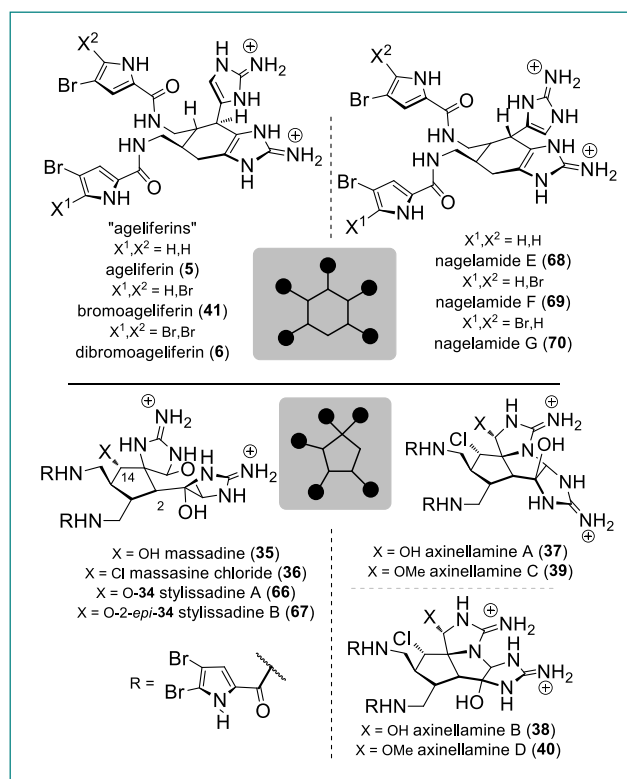


Figure 7 : A selection of the remaining PIA dimers.

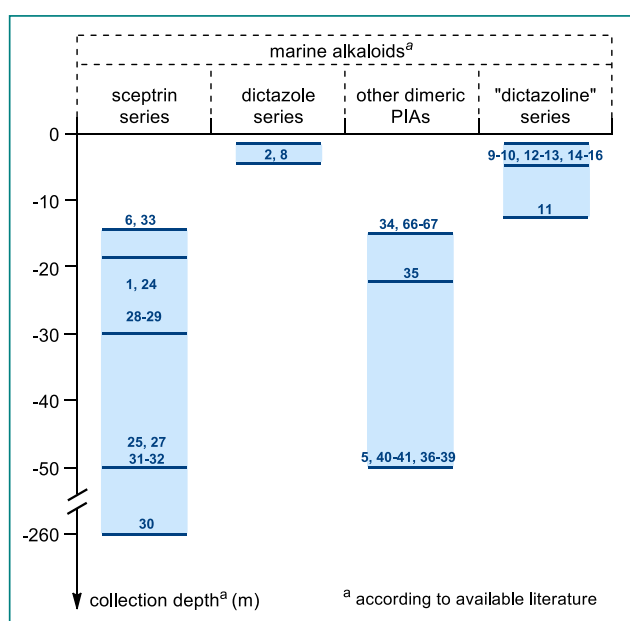


Figure 8 : Reported collection depths of the dimeric alkaloids (for both series).

In 1999, Quinn *et al.* added a structural core to the PIA family by reporting axinellamines (**37-40**) from the Australian sponge *Axinella* sp. (collection depth: 50 m).^{85, 86} In fact, axinellamines featured a tetracyclic fused core. Few years later, Fusetani *et al.* reported the isolation of massadine (**35**), a second tetracyclic PIA from the Japanese marine sponge *Stylissa* aff. *massa* (collection depth: 15 m).⁸⁷ Massadine was considered as unique among the PIAs, in that it contains a hydroxyl group at C14 instead of a chlorine atom as in axinellamines A (**37**) and B (**38**). This remained true until the isolation of massadine chloride (**36**) by Köck *et al.* from the Caribbean sponge

Stylissa caribica (collection depth: 22 m).⁸⁸ In 2006, the PIA family took a surprising leap forward in terms of molecular architecture complexity with the isolation by Köck *et al.* as well as Quinn *et al.* of the first tetrameric PIAs stylissadines A (**66**) and B (**67**) from *Stylissa caribica* (collection depth: 22 m) and *Stylissa flabellata* (collection depth: 15 m), respectively.^{89, 90} These compounds are the largest and most complex PIA hitherto discovered. Remarkably, all of the marine organisms from which aplysinopsin dimeric alkaloids have been isolated are originated from shallow waters (ca 2-12 m) whereas 14 meters depth is a minimum for PIA dimers (up to 260 and usually between 30 and 50 m) (Figure 8) as we will discuss later.

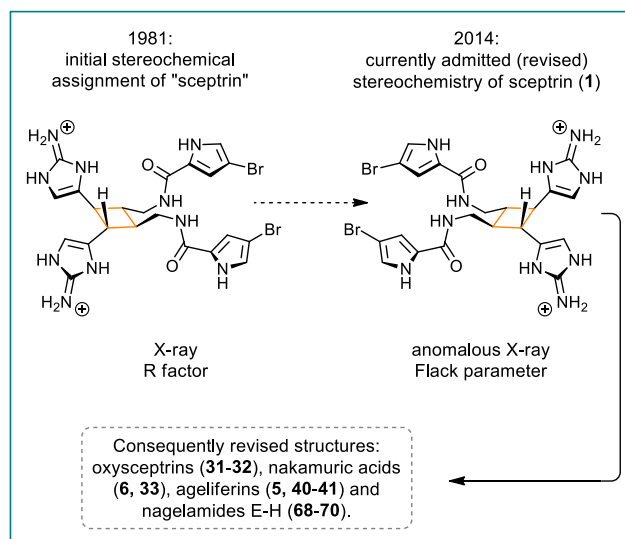
2.2 Stereochemistry

In this section, we will provide the latest insights dealing with the stereochemical aspects and challenges arising from the molecular framework of selected compounds encountered within the aforementioned families of alkaloids.

2.2.1 Stereochemical reassignment of sceptrin

Recently, the PIAs chemistry was marked by a milestone event; indeed, the structures of sceptrins (**1**, **26** and **27**, Figure 3, section 1) and agelifेरins (**5**, **6**, **41**, Figure 7, section 2.1.3) were revised by Chen *et al.*^{91, 92}

The original absolute stereochemistry of sceptrin (**1**) was assigned by X-ray crystallography,⁵⁶ a traditionally infallible and reliable technique used for absolute structure determination. Nevertheless, a re-examination of the original crystal diffraction data revealed that the assignment of the absolute configuration of sceptrin (**1**) was based on a small difference in the *R*-factors of the two enantiomers (0.090 for *ent*-sceptrin versus 0.094 for the *nat*-sceptrin). Moreover, the statistical significance of the *R*-factor was assessed by means of the classical Hamilton's ratio test.⁹³ In fact, until 1990, beside the well known Bijvoet method,⁹⁴ which uses anomalous scattering of X-rays, routine absolute-structure determinations generally relied on comparing conventional *R*-factors of the two enantiomeric models, often in conjunction with Hamilton's *R*-factor ratio test.⁹⁵ It was commonly agreed that the lower the value of *R*, the better the structure.⁹⁶ However in 1981, Hamilton's test was subject to a



Scheme 1: Stereochemical reassignment of sceptrin.

very critical analysis by Rogers,⁹⁷ casting doubts on its fundamental validity. This pioneering work gave rise to a flurry of research and the emergence of the Flack,⁹⁸ Hooft⁹⁹ and Parsons¹⁰⁰ parameters. Nowadays, these latter are the basis of all modern absolute structure determination.⁹⁵ Indeed, when Chen *et al.* recrystallized a natural sample of sceptrin (**1**), they satisfyingly used the Flack parameter (-0.002) and concluded that the previously reported absolute stereochemistry of sceptrin (**1**) was incorrect (Scheme 1). At last, as a comment of this ground-breaking report, it is not surprising that the structure revision of sceptrin (**1**) led to the reassignment of its congeners, as the stereochemistry of the latter was previously deduced from the former.^{101, 102}

2.2.2 Stereochemical variations and indeterminations

Now, if we examine the several members belonging to PIAs and aplysinopsin

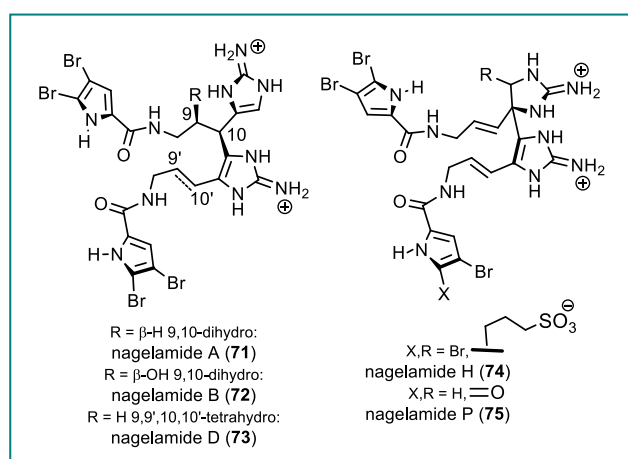


Figure 9 : A selection of the remaining PIA dimers.

alkaloids, a puzzling feature can be pointed out. These alkaloids exist as either enantiomerically pure compounds or as enantiomeric mixtures with various enantiomeric ratios (racemic or scalemic mixture). In the case of the PIAs, we can mention for example the occurrence of cylindradines A (**52**) and B (**53**) (pyrrolo-piperidinone core) as a scalemic mixture.⁴⁹ Meanwhile, among others, dispacamide C (**45**),¹⁹ and nagelamides A (**71**),⁸⁴ B (**72**),⁸⁴ D (**73**),⁸⁴ H (**74**),⁸⁴ and P (**75**)¹⁰³ were described as racemates (Figure 9). Furthermore,

enantio-heterogeneity of PIAs is not totally unexpected.¹² For example both enantiomers of the natural product dibromophakellin (**48**) have been described.^{27, 28}

Interestingly and contrasting with the preceding exceptions, the considered cyclic pyrrole-imidazole dimers (**1**, **5-6**, **24-41**, **66-70**) have all been described as enantiopure compounds. Regarding the aplysinopsin alkaloids, the monomers can occur as either pure *E* or *Z* isomers as well as *E/Z* mixtures. The occurrence of 3'-deimino-3'-oxoaplysinopsin (**63**) as a (5:2) mixture of *E/Z* isomers can be taken as an example.¹⁰⁴ While, 3'-deimino-2',4'-bis(demethyl)-3'-oxoaplysinopsin (**65**) was isolated as a (3:2) mixture of *Z/E* isomers.¹⁰⁴ Following these observations, the authors concluded that aplysinopsin compounds bearing a methyl group at N2' would preferentially adopt the *E* configuration, thermodynamically more stable than the *Z* geometry. At the opposite, the latter will be more stable than the former in the case of compounds lacking a methyl group at N2'. These aspects of the aplysinopsins stereochemistry were extensively described by Mancini *et al.*^{68, 104} Beyond this peculiar feature, the same authors have also pointed out that the dimer cycloaplysinopsin A (**9**) occurs

as a scalemic mixture (65:35), on the basis of analysis of the proton NMR spectrum in the presence of the chiral shift reagent $\text{Eu}(\text{tfc})_3$.⁷⁶ They were consequently described as “quasi-racemic” in the title of Mancini *et al.* 2003 paper,⁷⁶ this remains up to now the only clue of a just slightly opened Pandora box.

In addition, to date, no absolute configuration has been assigned for the aplysinopsin dimers. However, the relative stereochemistry of all of them has been determined except for dictazole A (**8**)⁶⁶ and dictazolines B (**13**) and C (**14**) (Figure 2 and 6, in sections 1 and 2.1.3).^{66, 78, 105} Remarkably, in these three cases, the C9 spiranic chiral center remains unassigned due to the lack of N14-appended methyl group, into the corresponding creatinine, essential for the ROESY correlation. Indeed, this ROESY correlation (Figure 10) is systematically used to establish the relative stereochemistry of these intricate polycyclic compounds. An additional stereochemical feature encountered within these two families is worth comment. In fact, many of these natural alkaloids are described with low values of optical rotation. Given these observations, one could call into question their true enantiopurity^{76, 77} as well as their symmetric architectures, namely: possible C_2 -symmetric axis or *meso* structure.⁶⁵ Obviously, this age old technique (*i.e.*, optical rotation measurement) is now, arguably, the least sensitive method in the analytical toolbox available for the natural products chemist.

Moreover, there is no assurance that the optical rotation value obtained for a natural product is consistent with a single enantiomer. Therefore, the enantiopurity assessment of new natural products must today benefit from complementary analyses implemented in common practice (*e.g.*, chiral chromatographic separation or NMR experiments using chiral Lanthanide shift reagents¹⁰⁶). Hence, based on the several examples covered above, it appears clearly that the striking structural complexity of those fascinating natural products continues to challenge the state-of-the-art methods in structure elucidation leading to more sharpened practices and sceptical eyes regarding past reports within the natural products chemist community.

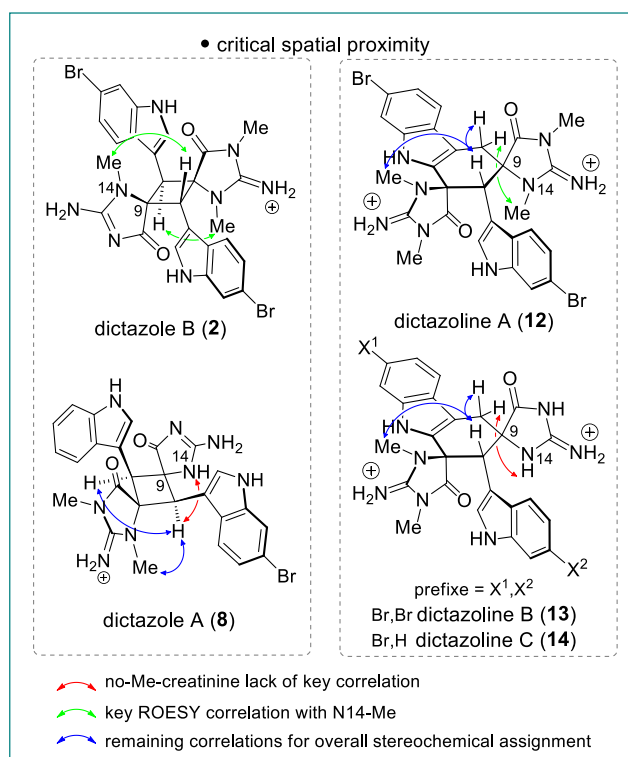


Figure 10: Critical ROESY correlations for stereochemical determination relies on.

2.3 The crucial question of the "biological origin" of both groups of alkaloids

Before any chemist conjectures concerning biosynthetic hypothesis (especially in the field of natural substances of marine origin), one should take into account their "biological origin". Indeed, marine invertebrates are holobionts formed of obligate symbiotic associations between microorganisms (bacteria and fungi) within the hosting invertebrates.¹⁰⁷ This point will not be discussed herein in details. Nevertheless, the question "who possesses the genes?" (*i.e.* the host or an associated microorganism) is essential as this precision will condition the nature of the enzymatic machinery and its regulation as far as biosynthetic chemistry is concerned. Hence, in a 1999 pioneering work, Kerr *et al.*¹⁰⁸ proposed l-histidine and l-proline as precursors of stevensine (archaeocytes cell cultures from *Teichaxinella morchella* – now *Axinella corrugata* – Axinellidae incubated with U-¹⁴C-labeled amino-acids). More recently, Al-Mourabit, Thomas and coworkers demonstrated in 2011,¹⁰⁹ by the first *in vivo* study conducted with marine sponges, the unambiguous incorporation of l-proline and l-lysine in oroidin (**3**) (*Axinella damicornis*, Axinellidae, U-¹⁴C-labeled amino-acids). Meanwhile and in between, Richelle-Maurer reported in 2003 a great abundance of oroidin (**3**) and sceptrin (**1**) in the spherulous cells of the ectosome of *Agelas conifera*, Agelasidae).¹¹⁰ This experimental dataset converges towards an *ipse* invertebrate origin.

While the situation seems quite clear concerning the origin of PIAs, the case of aplysinopsins is more speculative. But, regarding their presence in different phyla (Cnidaria, Porifera, Mollusca), an endosymbiotic origin is likely despite any experimental data published up to now. We, thereby, rely on verbatim quotes from different authors.¹¹¹

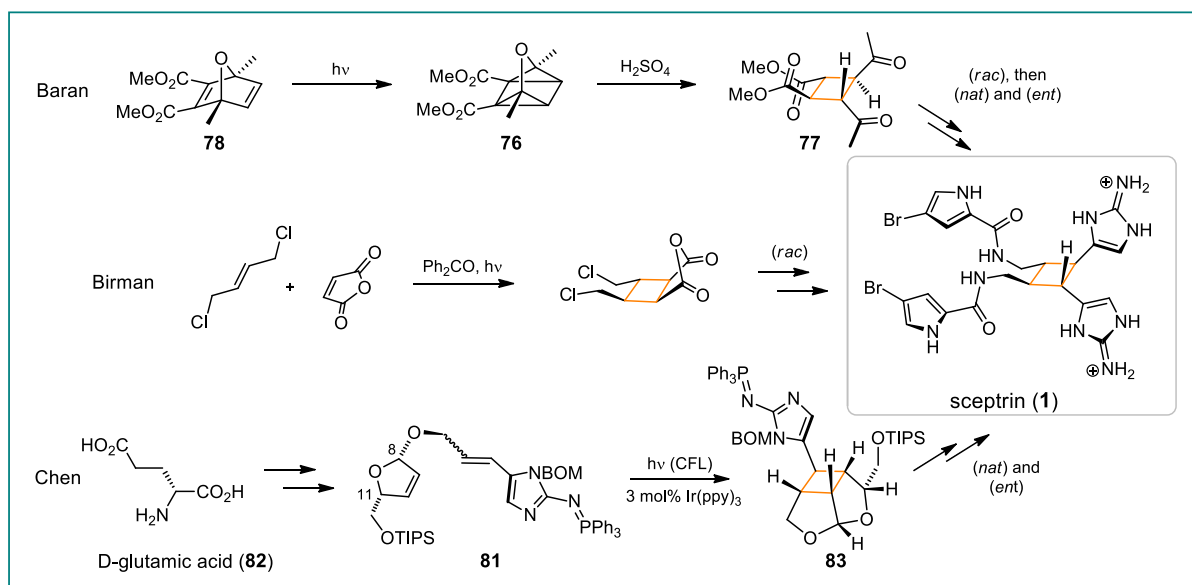
3 Bio-inspired syntheses of cyclobutane-centered alkaloid dimers and related congeners

Representing challenging targets, many of the dimeric alkaloids belonging to the PIAs and aplysinopsins family of natural products have been targeted by total synthesis since their isolation. Bio-inspired syntheses related to these two classes of alkaloids will be reported herein.

3.1 Chronological focus on sceptrin's syntheses

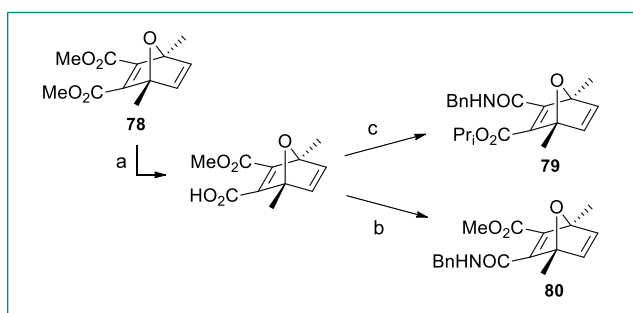
Sceptrin (**1**), undeniably the iconic figure, was the first dimer of the series to be obtained by total synthesis. However, in spite of initial attempts carried out by Faulkner, Clardy and later by Baran groups, the bio-inspired pairing of the natural monomer hymenidin (**42**) by [2+2] photocycloaddition remains unsolved to this day.^{56, 112} Because of these synthetic setbacks and several isolation data, this biosynthetic hypothesis, which will be discussed later on, has been questioned. Temporarily turning away from biosynthetic considerations, Baran *et al.* succeeded in the first total synthesis of sceptrin (**1**) in 2004.¹¹² This starting event paved the way for the epic story of PIA dimers as we know it more than a decade later. Their short

synthesis features a notable 3-oxaquadricyclane (**76**) rearrangement. This step generates the desired *trans,trans,trans*-cyclobutane **77** needed to complete a very concise and practical synthesis of (±)-sceptrin (**1**) (Scheme 2).



Scheme 2: Total syntheses of sceptrin (**1**), shaping the cyclobutane core. CFL: Compact Fluorescent Lamp.

In the same year, Birman *et al.* achieved a second synthesis of sceptrin alkaloids. This time, an early intermolecular [2+2] photochemical cycloaddition followed by several steps (to some extent comparable to Baran's synthetic route) have been used.¹¹³ The Baran group also reported the enantioselective version of its synthesis allowing the access to both sceptrin enantiomers. Here, an enzymatic desymmetrization of the oxaquadricyclane precursor (**78**) and its straightforward conversion into the two *pseudo*-enantiomers (**79-80**) were the key improvements (Scheme 3).¹⁰¹



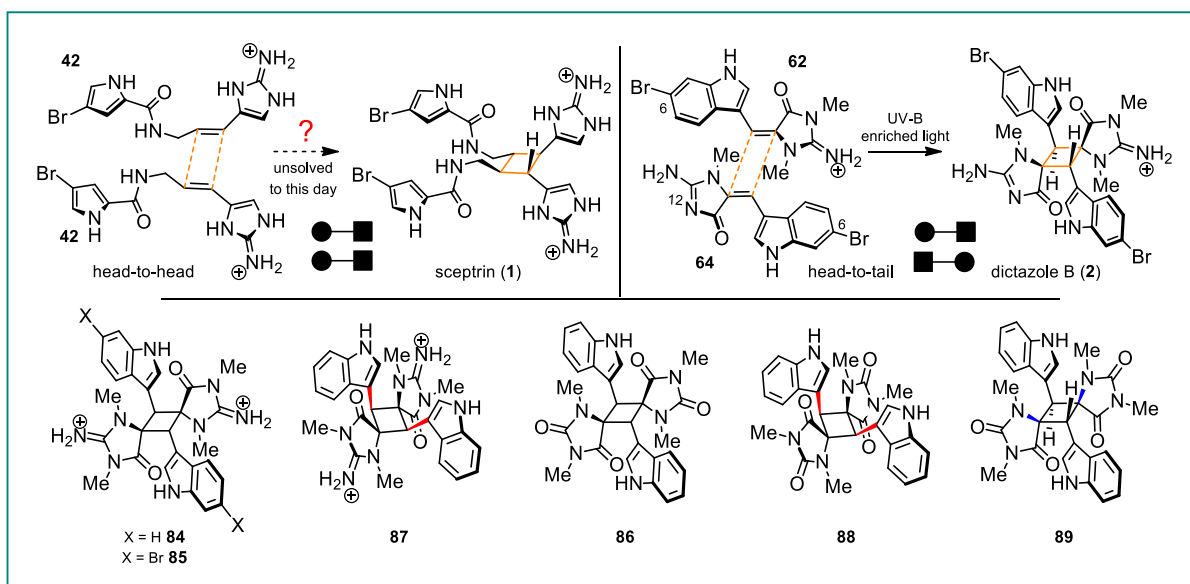
Scheme 3: Enantioselective synthesis of Baran's precursors of sceptrin (**1**).

At this time, the respective absolute configuration of both synthetic enantiomers were attributed by analogy with the structure of Faulkner and Clardy's crystal *via* ECD (Electronic Circular Dichroism) spectra comparisons (*vide supra*).⁵⁶ Finally, over 2014 and 2015, Chen *et al.* reported a novel enantioselective synthesis of both sceptrin enantiomers which led to the revision of its absolute stereochemistry.^{91, 92} The term "biomimetic" would be overstated here because the key intermediate **81** of this synthesis is very far from potential natural equivalents (Scheme 2). Nonetheless, their approach is based on the mechanistic mimicry of a proposed SET biogenetic pathway for PIA dimers. Their initial source of chirality is l- or d-glutamic acid

(**82**) (for *ent* or *nat* sceptrin respectively). Then, the syntheses rely on a key photoredox catalyzed intramolecular [2+2] cycloaddition developed by Yoon.^{114, 115} Irradiation of fully protected *cis*-C8/C11 substrate **81** in presence of a catalytic amount of Ir(ppy)₃ afforded **83**, a rigid, cagelike product, for which the relative stereochemistry was therefore easily assigned by NMR. Hence, these syntheses have been the first to be carried out with predetermined absolute configurations. Combining this unprecedented advantage with circular dichroism analyses, the completion of this work culminated with the stereochemical reassignment of sceptrin (**1**) and its analogs. This revision was also confirmed by the use of anomalous scattering of X-ray on a suitable crystal. Additionally, the Chen group accomplished the total syntheses of bromosceptrin (**26**) and dibromosceptrin (**27**) along with nakamuric acid (**33**) through a closely related approach.^{92, 116} Beyond the synthetic achievements brought respectively by these various strategies, each one features a remarkable manner to build the cyclobutane core of these alkaloids.

3.2 Dictazoles, a successful pairing of aplysinopsins

A broader view on these two families of natural products is useful. It reveals that, sharing their central cyclobutane structural motif with this emblematic structure, dictazoles are obvious counterparts of sceptrin (**1**) in the aplysinopsin series. Notably, while sceptrin (**1**) is a *head-to-head* dimer, dictazoles A (**8**) and B (**2**) are *head-to-tail* cyclobutane shaped dimers. Regardless of fine distinctions of this kind, the highly substituted cyclobutane core of dictazoles represented once again a challenging synthetic target and another source of inspiration for biomimicry. Despite initial efforts of the Baran group to apply their cyclobutane C-H functionalization method to these marine alkaloids, this approach up to now failed to provide a synthetic route to dictazoles.¹¹⁷ Here, nature's ease to build intricate structures served as a guide to design a reliable access to these marine alkaloids. Indeed, a well known principle adopted by nature to build complex natural products is the dimerization and oligomerization of monomers.¹¹⁸ In fact, the simple pairing of monomeric precursors represents the ideal path to form the corresponding dimers as previously stated for hymenidin (**42**) and sceptrin (**1**). Guided by these biosynthetic considerations, Poupon, Evanno *et al.* have adopted this fundamental approach to harness, at its best, the intrinsic reactivity of aplysinopsin monomers. Their synthesis of dictazole B (**2**) is based on a diastereoselective [2+2] photocycloaddition between 6-bromo-aplysinopsin (**62**) and 6-bromo-12-*nor*-aplysinopsin (**64**), two natural monomers of the series. This biomimetic total synthesis was achieved *via* heterodimerization of unprotected natural precursors (Scheme 4).¹¹⁹ Nonetheless, the overall study provided a substantial array of analogous *spiro*-fused cyclobutanes. In addition to centrosymmetric compounds (**84-86**) contrasting with the pseudo-symmetric structure of dictazole B (**2**), some very minor stereoisomers (**87-89**) formed during the process have also been characterized.¹²⁰ The biogenetic implications related to these *pseudo*-natural products will be discussed afterward.



Scheme 4 : Biomimetic total synthesis of dictazole B (**2**) and valuable cyclobutane analogs.

3.3 Pivotal substances of consistent synthetic networks

But now, after the foregoing statement of their syntheses, a shift in perception about the aforementioned cyclobutane-centered alkaloids is required. Beyond their appealing structures and established endgame target status, they (*i.e.* sceptrins and dictazoles) should be and actually have been considered as synthetic gateways to other members of their families (Figure 2).

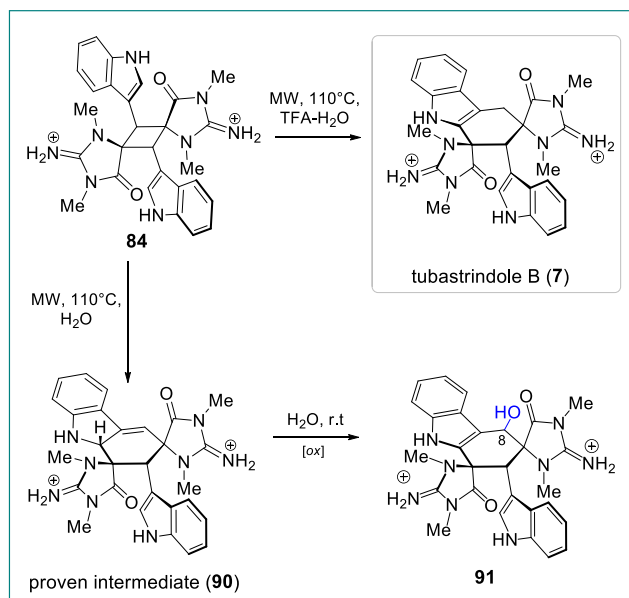
Objectively, they are both located at the centre of synthetic networks. Hence, inspired by structural similarities and disparate biosynthetic considerations, synthetic chemists connected and mapped a significant number of their presupposed cousins. Herein after, the idea is to uncover this bio-inspired network through a progressive "link-by-link" analysis.

3.3.1 Connecting dictazoles to their close relatives: cycloaplysino-psins, dictazolines and tubastrindoles

In this vein, as a sequel to their initial report of the biomimetic synthesis of dictazole B (**2**), Poupon, Evanno *et al.* put forward a biosynthetic hypothesis, namely: "the aplysins' cascade". In this pathway, dictazoles would be considered as precursors of structurally related dimers: the tetrahydrocarbazole containing alkaloids. Harnessing the intrinsic reactivity of a centrosymmetric dictazole-type cyclobutane (**84**), they succeeded, *via* the ring expansion of this precursor, in the first total synthesis of tubastrindole B (**7**).¹²¹

Furthermore, a simple omission of the Brønsted acid catalyst led to a postulated biosynthetic intermediate (**90**) (Scheme 5). Subsequently, this transient entity spontaneously

undergoes an oxidation followed by a regioselective hydroxylation at C8 in water. This reaction sequence provided the accurately functionalized compound **91** featuring another natural pattern (see **10-11** and **20**). These results emphasized how intimate are the synthetic connections between all these natural products (and in a broader sense, their respective skeletons). Also, enabled by the sole chemical reactivity of several aplysinopsin-derived compounds, this work furnishes tangible clues in favor of the postulated biosynthetic cascade detailed in the next section.



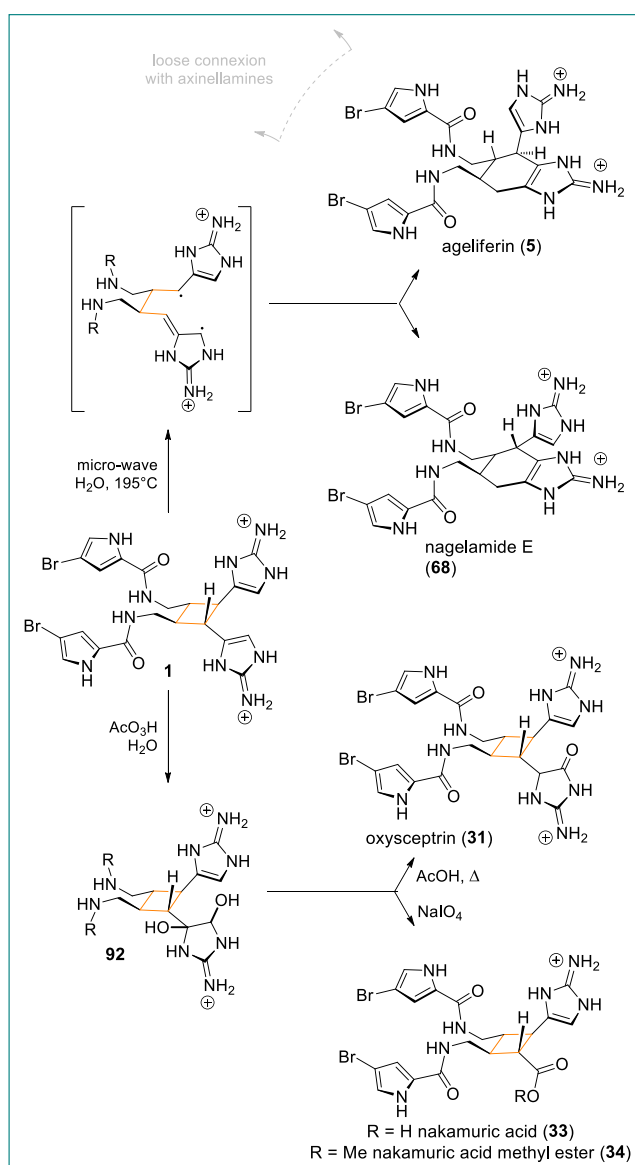
Scheme 5 : Bio-inspired synthesis of tubastrindole B (**7**) and related outcomes.

A comparable transformation has been reported on sceptrin (**1**) by the Baran group in 2004 showing once again the similarities between the two series.¹²² In fact, this latter ring-expansion of sceptrin (**1**) has obviously inspired Poupon, Evanno *et al.* at least in terms of conditions (a short but intense micro-waves irradiation reaction in water).

3.3.2 Sceptrin, at the crossroads of a primary network

In the case of sceptrin (**1**), this cyclobutane ring expansion revealed its underlying synthetic links with two other natural dimers of the family: ageliferin (**5**) and epimeric nagelamide E (**68**). Notably, after having proposed an ionic mechanism, Baran and Houk groups provided computational evidence in favor of a radical mechanism instead (Scheme 6).¹²³ At this stage, biogenetic hypotheses were making of sceptrin (**1**) a pivotal metabolite naturally diverging into other PIAs. This prompted Baran *et al.* to harness its innate properties for the synthesis of such congeners. They decided to oxidize sceptrin, despite its inherent difficulty to be manipulated while unprotected, in order to explore its unaltered reactivity. In doing so, they achieved, with a high level of biomimicry, the synthesis of oxysceptrin (**31**), nakamuric acid (**33**) and nakamuric acid methylester (**34**) *via* the key dihydroxylated 2-aminoimidazole moiety of **92**¹²⁴ (Scheme 6). Therefore, they unearthed another subset of sceptrin-connected pyrrole imidazole alkaloids with, this time, a higher state of oxidation.

3.3.3 Synthesis of a secondary network of sceptrin-related products



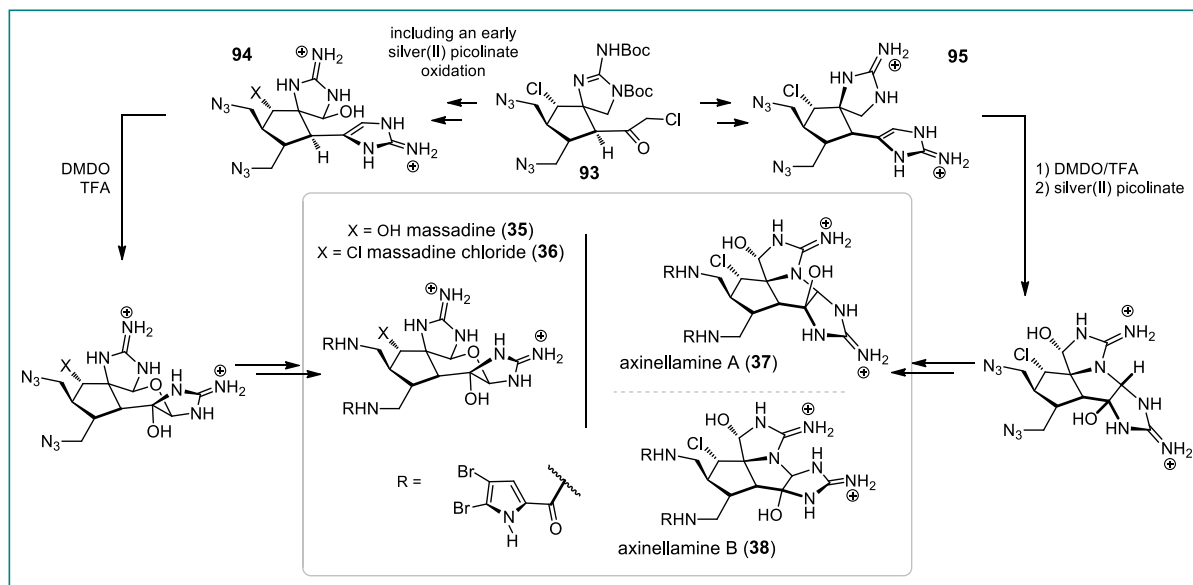
Scheme 6: Primary synthetic network around sceptrin (1).

various number of bromines (see section 2). Anyhow, even if their biosynthesis remains an enigma, these other PIA dimers are bound together by biosynthetic proposals which engendered many total syntheses.

First, inspired by a divergent cascade resting on a proposed axinellamine precursor detailed later,⁸⁸ the Baran group reported the total syntheses of axinellamines and massadines (Scheme 7). During this study, they used a common diazide building-block (**93**) and very similar intermediates **94** and **95** to mimic the proposed cascade and shape both of the desired skeletons. Depending on the chosen oxidative sequence, they have been able to synthesize either axinellamines A (**37**) and B (**38**) or massadine (**35**) and massadine chloride (**36**). A

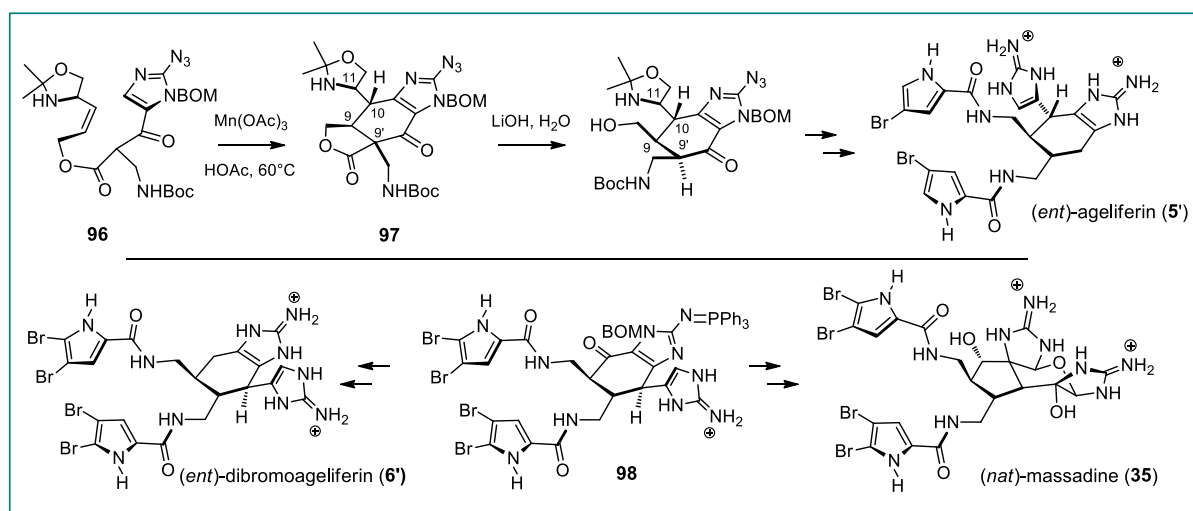
Besides this primary network around sceptrin (**1**), a secondary set of related PIA dimers could be connected to this latter through ageliferins and axinellamines. Indeed, inspired by the Kinzel-Scheuer hypothesis,¹²⁵ the Baran group formed an epimeric pre-axinellamine-like compound by ring contraction of ageliferin (**5**). In 2013, the Harran group also reported reverse outcomes: a total synthesis of ageliferin (**5**) relying on the ring-expansion of a halogen deficient axinellamine.^{124, 126, 127} Moreover, in this study, a C₂-symmetric dispacamide dimer served as a bio-inspired precursor for the obtention of ageliferin (**5**) by a spirocyclization-reduction-rearrangement sequence. This approach exploits the reactivity of an "early dimer" to subsequently form a distinct "final dimer" of interest. Hence, it follows a practical and clever concept recently discussed by Snyder and adopted by us later in our analysis.¹¹⁸ Taken together, these achievements make a link between ageliferin (**5**) and the larger space of axinellamines and massadines. However, this connection is called into question by the systematic tetrabromination of axinellamines and massadines whereas sceptrins and ageliferins have been described with

simple switch of the DMDO/TFA and silver(II) picolinate oxidation steps in the overall synthetic routes allowed this synthetic trick.^{128, 129}



Scheme 7 : Baran's divergent access to axinellamines, massadines and stylissadines.

Besides, in a completely distinct move based on a bio-inspired divergent approach, the Chen group carried out the total synthesis of (*ent*)-ageliferin (**5'**). They succeeded *via* a singular 5-*exo*-trig/6-*endo*-trig, Mn(OAc)₃ triggered, radical cyclization of **96** into **97** to mimic a Single Electron Transfer (SET) mechanism (Scheme 8).¹³⁰⁻¹³²

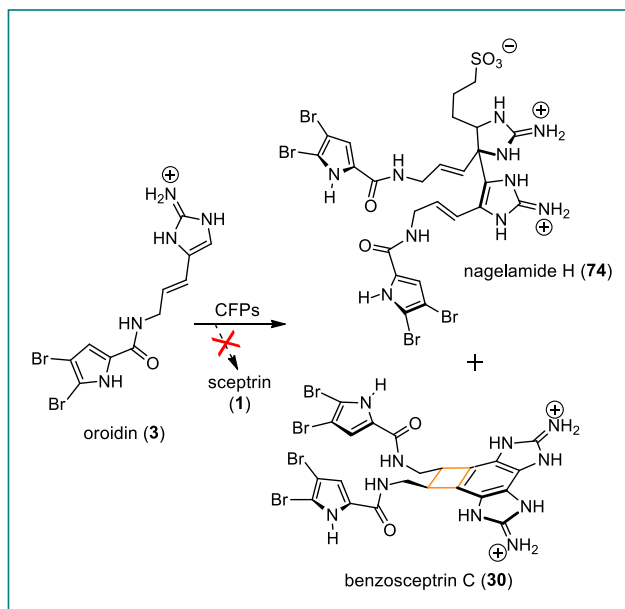


Scheme 8 : Chen's evidence of the antipodal relation between ageliferins and massadines.

Indeed, starting from the unique precursor (**98**), Chen *et al.* also completed the enantioselective total synthesis of both (*ent*)-dibromoageliferin (**6'**) and (*nat*)-massadine (**35**) bringing thereby a compelling evidence of the antipodal relation between the two alkaloid subgroups.⁹¹ Thus, this formerly unified collection of natural products should now be

considered as separated subsets of pyrrole imidazole alkaloid dimers and this with major biosynthetic consequences.

The Molinski group investigated the opposing view to the preceding studies and a [2+2] photochemical origin for sceptrins and the related alkaloids. They studied an enzymatic hypothesis using cell-free enzyme preparations (CFPs) coming from freshly collected sponges (*Stylissa carabica*, *Agelas conifera* and *Agelas sceptrum*). Then, they performed the "metabiosynthesis"¹³³ of benzosceptrin C (**30**) and nagelamide H (**74**) via the ideal pairing of oroidin (**3**) (Scheme 9).^{134, 135} Thus, beyond this highly-desired homodimerization of oroidin (**3**), Molinski *et al.* provided compelling evidence that specific oxidoreductases would be responsible of a SET-mediated oxidative biosynthesis of dimeric PIAs from clathrocin (**43**), hymenidin (**42**) and oroidin (**3**) precursors.



Scheme 9 : Metabiosynthesis of PIA dimers.

Several experimental outcomes of this study also have to be pointed out. First, even though sceptrin (**1**) is a major alkaloid of the sponges from which the CFPs are prepared, it is not generated under such "*in vitro*" conditions. This imposes to qualify the biosynthetic consequences of the results stated above. However, after alteration of the sponges' cells, the loss of homeostatic conditions is probably inducing disregulated, overoxidizing processes. Besides this, lower optical activities observed for these synthetic compounds raises fascinating questions about the chiral induction along the biosynthesis of PIAs which doesn't seem to be assured by these sole enzymes. Finally, it is somewhat disappointing that sceptrin (**1**) is not transformed into any congener under the reported conditions.

4 Biosynthetic hypotheses : photochemical [2+2], SET enzymatic catalysis and spontaneity at work

The ubiquitous diversity and complexity generation is a fundamental tool for the plasticity of Nature. Definitely, when considering evolution as an infinite selection process in a constantly changing system, one of the elementary events of the overall random phenomenon must be, at a molecular level, the steady generation of diverse metabolites. And indeed, a detailed analysis of the existing plethora of specialized metabolites reveals some principles adopted by nature to shape complex molecules. One tactic employed by nature to forge complex alkaloids at minimal energetical or metabolic cost is the pairing of simple units into

dimeric counterparts.^{118, 136} Yet, as previously stated, PIA and aplysinopsin-derived alkaloid families both include a significant number of dimeric representatives. In fact, all of the intricate natural products subjected to our analysis herein are obviously related to monomeric units (*i.e.* clathrodin (**43**), hymenidin (**42**) or oroidin (**3**) and various aplysinopsin monomers (**4**, **62** or **63** for example)). In the previous sections, an in-depth study of their isolation and synthetic records was summarized. This dataset was mandatory in a quest to decipher the mechanisms at work in the natural formation of these marine alkaloids. A cursory view on these data highlights a strong similarity between the two families. Indeed, the marine origin, the occurrence in sessile organisms (*i.e.* sponges or stony corals), the presence of guanidino groups and the comparable central cores of the considered structures are as many common features. At first sight, they would incite to unify the reasoning. Nonetheless, a closer look at the literature summarized in section 2 brings to light notable points which have influenced past synthetic works. Moreover, different biogenetic pathways could distinctly explain the generation of these singular groups of alkaloids. In conjunction with assertions coming from structural data and isolation reports, bio-inspired synthetic achievements may represent a valuable source of arguments to develop biosynthetic rationals.

From here, in both cases, a unique biosynthetic hypothesis may be formulated capitalizing on the manifold information brought by the preceding sections. In this dichotomic biogenetic development centered on cyclobutane-containing marine alkaloid dimers, the aplysinopsin family of alkaloids will be the first to be depicted.

4.1 Dictazoles and the aplysinopsins' cascade

Here, the chronology has its importance. Cycloaplysinopsins have been isolated earlier than dictazoles (Figure 5, *i.e.* tetrahydrocarbazole dimers before cyclobutane ones). Thus, the first hypotheses of Mancini argued that a Diels-Alder type reaction between two aplysinopsin monomers may explain their formation in nature. The existence of such Diels-Alderase enzymes is still controversial nowadays. Yet, this hypothesis, seemingly inspired by a classical synthetic disconnection approach, had the merit to propose a biosynthetic intermediate and pave the way for future questioning notably in terms of mechanisms (*e.g.* enzymatic or not, involvement of radical cationic Diels-Alder intermediates, a SET pathway or a pure cycloaddition).

4.1.1 Proposed biosynthetic scenarios to date

The isolation of dictazoles (**2**, **8**) by Williams *et al.* in 2010 constituted an unexpected development and led to reconsider this primary statement.⁶⁶ Two competing hypotheses are, since then, put forward. First, a divergent pathway in which either dictazoles or cycloaplysinopsins might be formed by formal [2+2] or [4+2] cycloadditions respectively (Figure 11). Secondly, a one-way cascade where dictazoles are versatile dimers *en route* towards their cycloaplysinopsin counterparts. In this context, critical data have to be noted from the isolation reports in the aplysinopsin series. Although few scaffolds have been described in this family of

alkaloids, the actual stereochemical diversity observed in the series is substantial. Indeed, many diastereoisomeric cores (*i.e.* in which the relative stereochemistry of the appended units

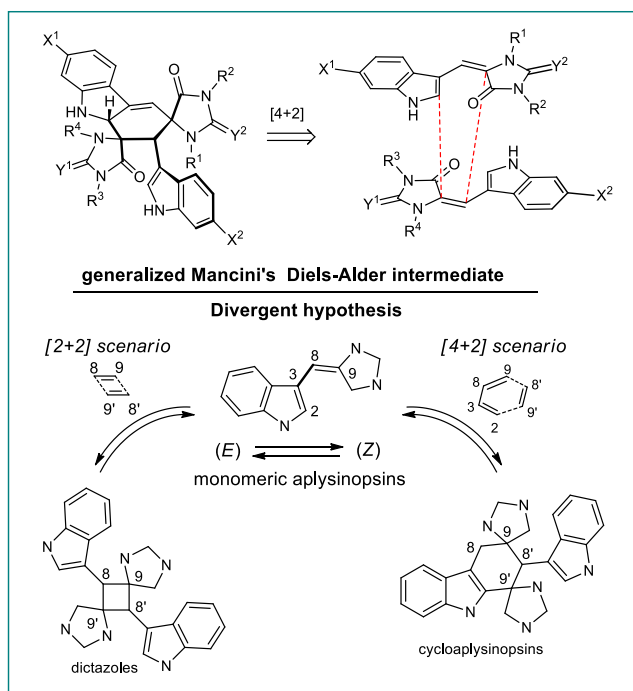


Figure 11 : Seminal biosynthetic hypotheses in the aplysinopsin series.

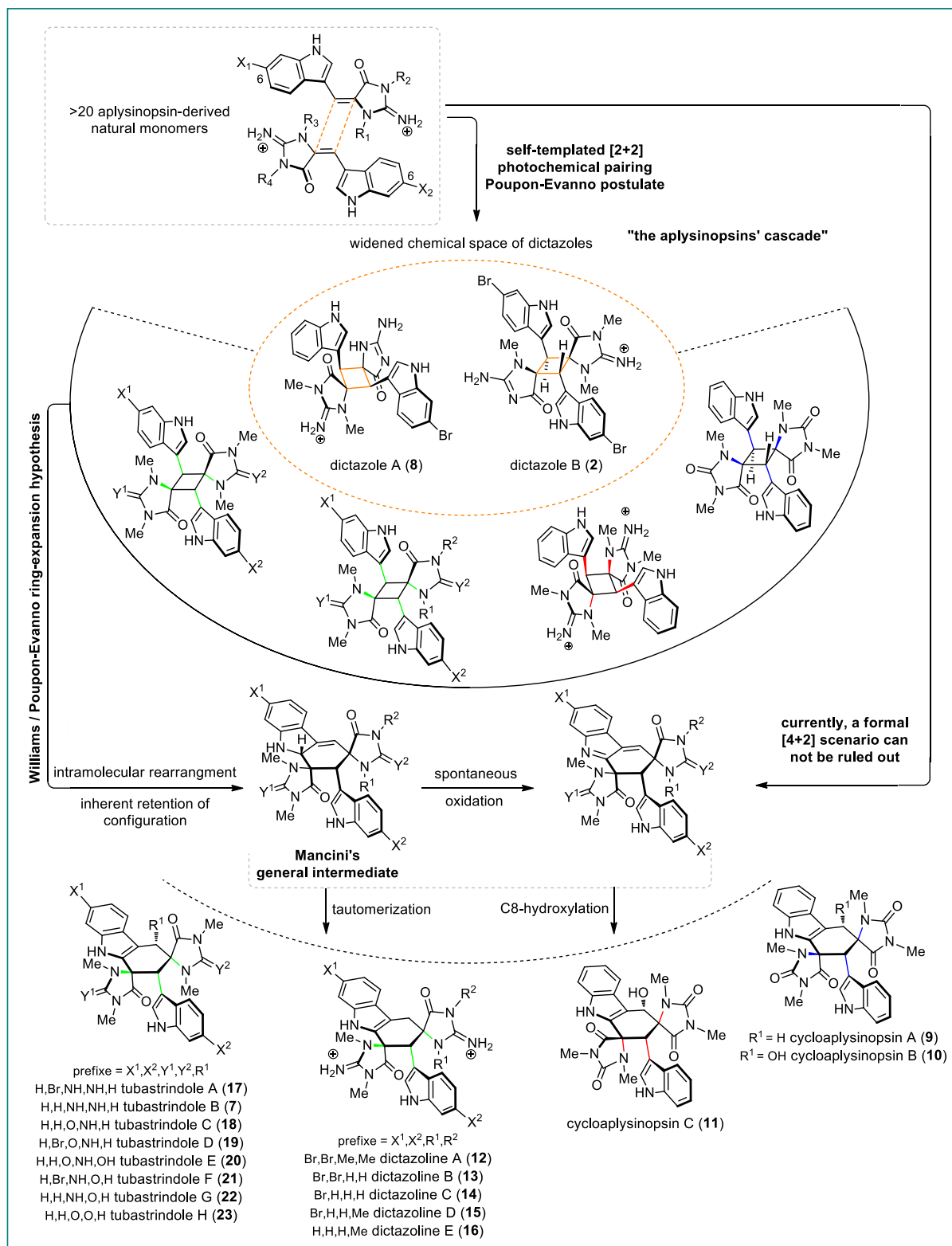
is highly variable) coexist. This, reinforced by the naturally occurring scalemic of cycloaplysinopsins A (**9**) and B (**10**), tend to discredit an efficient enzymatic catalysis and favor a scenario mainly involving the intrinsic reactivity of monomeric aplysinopsins.⁷⁶ The existence of natural racemic, scalemic, diastereoisomeric or epimeric mixtures of some natural products is known and very often considered as a remanance of their more or less spontaneous (*i.e.* non-enzymatic) formation.¹³⁷⁻¹⁴¹ Also, in spite of its presumed lack of regio- and stereoselectivity, a [2+2] photochemical cycloaddition could be supported by the fact that all the aplysinopsin dimers have been isolated from marine organisms coming from shallow waters (*i.e.* within reach of sunlight). Hence,

this body of evidence may constitute a plea for the photochemical, intrinsically controlled (*i.e.* by the innate reactivity of aplysinopsins) pathway. Still, the weaknesses related to selectivity need to be harshly questioned. Even if this conclusion seems relevant for the dictazole series, it should not be generalized. Indeed, given the collection depth of some dimeric PIAs (up to -260 m), the latter are probably out of the reach of sunlight (see section 4.2).

4.1.2 Dictazoles and the evidence of the inherent selectivity of the aplysinopsin series

This time, the answer has been experimental and led to the last hypothesis to date. The Poupon, Evanno group, supporting the aplysinopsins' cascade postulate, based its synthesis on unchanged aplysinopsin monomers. In this work, they harnessed the raw reactivity of aplysinopsins and have shown that the anticipated lack of regioselectivity (observed in many [2+2] photocycloadditions) was in fact inherently overcome in this case.¹¹⁹ Furthermore, beyond the success of a [2+2] photocycloaddition between aplysinopsyne monomers, the conclusive synthesis of dictazole B (**2**) and several analogs (**84-89**) revealed an unforced diastereoselective process (Scheme 4, section 3). Thereby, they validated the first step of the scenario. Also, they demonstrated that self-templation of aplysinopsins is sufficient to drive the reaction exclusively towards natural skeletons. As suggested first by Williams and then by Poupon and Evanno, the second step of the cascade could be the ring-expansion of dictazole-type precursors into their respective

cycloaplysinopsin-type natural counterparts (*i.e.* cycloaplysinopsins, tubastrindoles or dictazolines) (Scheme 10).



Scheme 10 : Biosynthetic hypothesis explaining the formation of all the natural aplysinopsin-derived alkaloid dimers.

After preliminary reports of Williams *et al.* the Poupon, Evanno group succeeded experimentally and conceptually in the quest of unifying the cascade. And they have done so with their total synthesis of tubastrindole B (**7**) from an unnatural, centrosymmetric dictazole-type precursor (**84**) (Scheme 5, section 3). Notably, this ring-expansion occurs with full retention of configuration. Therefore, the chiral information carried by the monomers is conserved over the entire cascade. Moreover, along this biomimetic synthetic work, the postulated biosynthetic intermediate of Mancini (**90**) has also been isolated (even if its emergence is not resting on a Diels-Alder cycloaddition). Its fugacity pointed its biosynthetic intermediate status and outlined a spontaneous and selective biosynthetic pathway towards hydroxylated aplysinopsin dimers (such as **10**, **11** and **20**). The two main pillars of the aplysinopsins' cascade (*i.e.* i) a [2+2] photocycloaddition followed by ii) an ionic intramolecular rearrangement). But beyond these key steps and their biochemical relevance, the proper design of unnatural dictazole-type compounds to form natural products with a high level of biomimicry and unforced selectivity is somewhat surprising and must be questioned. One could indeed envision that these synthetic products, which have not been isolated to date, may be natural themselves. In this context, they could constitute a larger space of natural dictazole precursors for the corresponding cycloaplysinopsin-type natural products. The latter idea is enriched by another outcome of this free expression of aplysinopsins' reactivity. Indeed, the minor "unnatural" dictazole-type compounds characterised during the study (**87-89**) are still *head-to-tail* dimers. And there is more: they possess the complete array of relative stereochemistry needed to explain the formation of all the dimeric compounds of the aplysinopsin family of alkaloids (Scheme 10).¹²⁰ Therefore, the currently admitted aplysinopsins' cascade hypothesis stated above is resting on minimal enzymatic influence counterbalanced by undeniable reactive predispositions of aplysinopsins. Hence, the source of chirality should be questioned regarding the weak control of this parameter and the apparent spontaneity of the processes at work in this biogenetic pathway.

Finally, the metabolic situation of cyclobutanic dictazoles amid their marine alkaloid family could be considered as follow. From the perspective of nature's origami and architectural tactics, Snyder distinguished two strategies. First, the formation of early dimers subsequently modified, sometimes considerably, to form final entities. And a second one: the late pairing, sometimes by striking reaction sequences, of fully functionalized monomers into final natural dimers.¹³⁶ Following these concepts, dictazoles may found themselves singular metabolites combining a natural, final status and a central, intermediate status of early dimers undergoing ring-distortions to form the final cycloaplysinopsin-type alkaloids. This status, and the overall considerations exposed for dictazoles, raise similar questions for sceptrin (**1**). The second part of our diptych analyzing the origins of cyclobutane-centered marine alkaloid dimers will logically be driven by these issues.

4.2 Biosynthetic situation of sceptrin among the PIA dimers

Getting through the mirror, as previously enunciated with dictazoles, an analogy with sceptrin (**1**) could suggest at first sight a very similar cascade placing this compound at the

center of its metabolic network. Motivated by such hypotheses, Baran *et al.* uncovered a synthetic network centered on sceptrin (**1**) as presented in the previous section (Scheme 6). This network seems biosynthetically relevant at least for a subset of alkaloids including a restricted array of natural products.¹⁴² However, although a comparable photochemical postulate has been initially put forward in the case of sceptrin (**1**) and its congeners, both experimental setbacks and the deeper waters from which they originate call into question this idea.

4.2.1 Seminal clues in favor of an enzymatic control

Besides this, stereochemical data provided by the isolation reports bring critical clues in favor of a well-controlled enzymatic pathway. Indeed, the considered PIA dimers have all been described as enantiomerically pure compounds, with a high level of homogeneity across the different subgroups of alkaloids. Before mechanistic considerations, a broader view on the different biosynthetic hypotheses formulated for this class of alkaloids would be beneficial here. Baran's paradigm set aside (Figure 12), all of the hypotheses proposed for the genesis of PIA dimers related to sceptrins rest on divergent pathways. As early as 2001, Al Mourabit *et al.* detailed their biosynthetic theory into an insightful report. In their postulate, key tautomeric forms of hymenidin-type monomers (**99** and **100** in our case) justifies their ambivalent reactivity. Then, in a purely ionic formalism, the formation of a single C7-C7' bond to build a key multifaceted dimeric intermediate (**101**) set the stage for a larger divergent pathway with many ramifications (Figure 12).^{4, 54}

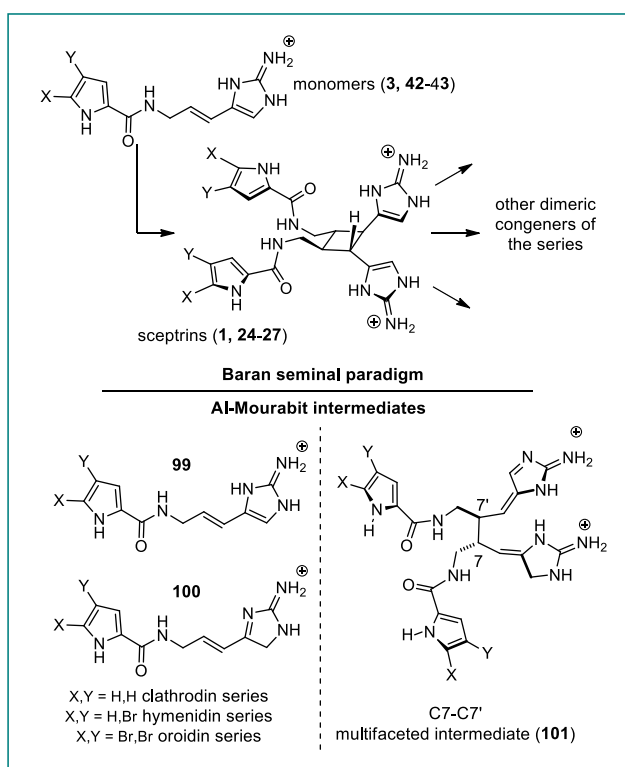
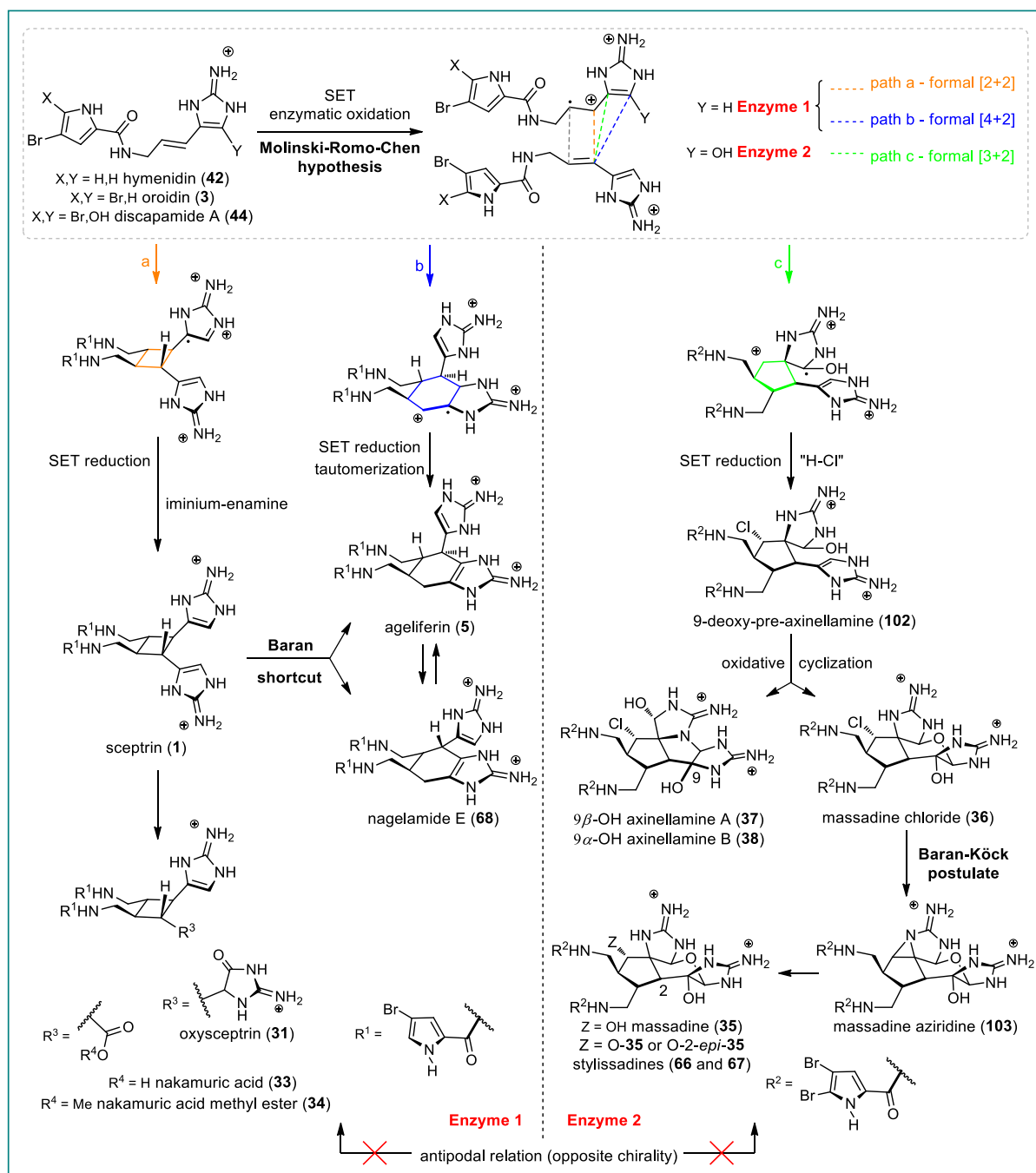


Figure 12 : Initial biosynthetic hypotheses related to PIAs.

4.2.2 A diverging cascade relying on SET enzymatic catalysis

The impressive metabiosynthetic study of Molinski, Romo *et al.* evoked before brought compelling experimental evidence of the enzymatic SET mediated generation of the PIA

dimers considered herein.^{134, 135} Confirming the divergent scenario anticipated, this latter work nonetheless imposed a mechanistic shift involving reversible SET elementary steps.



Scheme 11 : Biosynthetic hypothesis for the formation of dimeric PIAs related to sceptrin (**1**) including the last developments.

In the same vein, the Chen group considerably impacted the admitted scheme by a stereochemical bounce. Indeed, *via* several enantioselective, radical-mediated syntheses of sceptrins, massadine and other close congeners, they have demonstrated the antipodal nature of two subsets of dimers. Thus, sceptrins, ageliferins and analogs on one side are clearly separated of massadines and axinellamines on the other side.^{91, 92} Given this, an early stage enzymatic stereodivergence is required to explain the biogenesis of the alkaloids (Scheme 11).

Nonetheless, the Baran shortcut between sceptrins and agelifेरins is still valid after the latter shift.¹²² Under the present lighting, sceptrin (**1**) should be considered, in respect with Snyder concepts, as a final dimer of a diverging pathway. Still, its dual status, somewhat comparable to the one of dictazoles, resides to lower extent in its oxidized cousins (*i.e.*, **31-34**) as well as the Baran shortcut towards agelifेरin (**5**) and nagelamide E (**68**). In addition to the aforementioned metabolic arborescence, a biosynthetic link has been proposed by Baran and Köck between axinellamines, massadines and stylissadines. A 9-deoxy-pre-axinellamine precursor (**102**) together with a beautiful aziridine-based (**103**) reactive path explain the formation of the last scaffolds.^{143, 88}

4.2.3 The remaining questions

Several weaknesses of the beautiful works emphasized herein constitute once again an occasion to put the last hypotheses to date into perspective. In their seminal work, Molinski *et al.* noted an erosion of enantiopurity of the produced compounds.^{134, 135} This implies that, in addition to the specialized oxido-reductases at work here, a complementary *in vivo* intervention is needed to drive accurately the enantio-induction observed in nature. Moreover, the absence of formation of sceptrin (**1**) under their experimental conditions may not be sufficient to definitively turn off the feasibility of a hymenidin (**42**) photochemical pairing into sceptrin (**1**) which still might be challenged in the future. In a similar and salutary Cartesian doubt, the shorter history of dictazoles and the aplysinopsin alkaloids family might not be set in stone. The bigger picture offered by the epic story of sceptrin (**1**) and PIAs still demonstrates that the test of time is certainly (and obviously) the best way to assess the currently admitted hypothesis. Probably, surprising discoveries on the aplysinopsin alkaloids family are yet to come (*e.g.* metabiosynthetic studies or the discovery of novel congeners on one side and new developments in bio-inspired chemistry on the other).¹⁴⁴ Finally, along this biosynthetic case study and the previous discussions, diversity has been repeatedly evocated but never properly treated. This critical notion underpins ideas detailed herein and will guide the conclusive part of this review.

5 Conclusive remarks

Up to this point, the coverage of cyclobutane-centered marine alkaloid dimers has guided the reader through a maze of scientific data. This permitted to point up some decisive information serving a global biosynthetic analysis designed as a tutorial merging of the two alkaloid families. From here, a fundamental difference has been uncovered in the respective biosyntheses of aplysinospin-derived alkaloids and PIA or at least, in their currently admitted hypothetical versions. Snyder's concepts of early and final dimers enriches the interpretation of this comparison and highlights the generation of diversity in the considered series.

Indeed, sceptrin (**1**) seems to be formed during a divergent pathway as an endgame dimer of one of existing biosynthetic ramifications (see section 4.2). In spite of this isolated

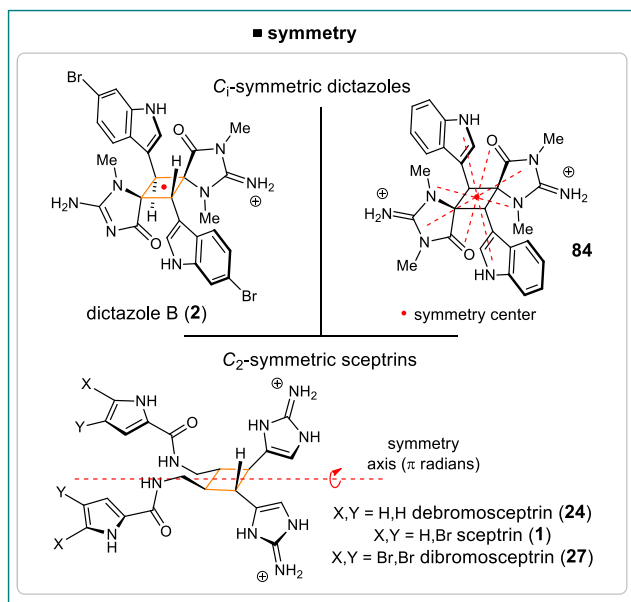


Figure 13 : Symmetrical features of dictazoles and sceptrins.

situation, its scaffold served as a starting point for additional diversifications in a limited chemical space. Given their different status of early dimers, dictazoles can be considered as springboards for structural diversity in their family of natural products (see section 4.1). In general, early dimers according to Snyder's sense are obvious metabolic crossroads of secondary metabolites which set the stage for the generation of unprecedented skeletons and novel functionalization patterns. In the meantime, they are natural vectors fostering the exploration of uncharted chemical spaces and thereby, the rise of potential functional advantages.

The emergence of diversity is always an entangled multifactorial process in nature. Nevertheless, beyond basic variations (such as the different number of bromines or methyl groups incorporated), some diversity-generating principles encountered in nature have clearly been identified in our two case studies. The dimerization of monomeric precursors is widespread and the most obvious here. As a multiple bond forming process, its parameters govern the variability of the newly created scaffolds and the engendered stereochemical diversity. Moreover, the pairing limits (because of the bridging bonds) the degree of freedom of the overall structures. Hence, it induces a double structural transition from flexibility to rigidity and from planeity to three-dimensional architectures. Yet, in addition to this main phenomenon, various processes can still be pointed out as key diversity initiators.

First, symmetry-breaking is very powerful, especially when the considered structures have privileged geometrical features. For the sceptrin series, a single axis of C_2 -symmetry is present on the *head-to-head* dimers (Figure 13). In the case of dictazoles, the *head-to-tail* topology creates perfectly centrosymmetric compounds (like **84**). Such products also shed light on a similar *pseudo*-symmetry for dictazole B (**2**). It is well known that harnessing the symmetry of a target could be beneficial for the synthetic chemist.

However, Snyder also reported that even the tiniest dissymmetry render the considered *pseudo*-symmetric compound far more difficult to synthesize.¹⁴⁵ Both ring-distorsion and peripheral desymmetrization proved to be at work for PIAs and aplysinopsin dimers (see Figure 14).

One last tool contrasting with the high stakes chemoselectivity in total synthesis is versatility. Clusters of natural products with different scaffolds can indeed be forged by divergent pathways starting from common precursors.¹⁴⁶ The coexistence of several reactivities paves the way for statistical diversification as for axinellamines, massadines and stylissadines (Figure 15). Numerous examples taken from the literature also match with the aforementioned processes.¹⁴⁷

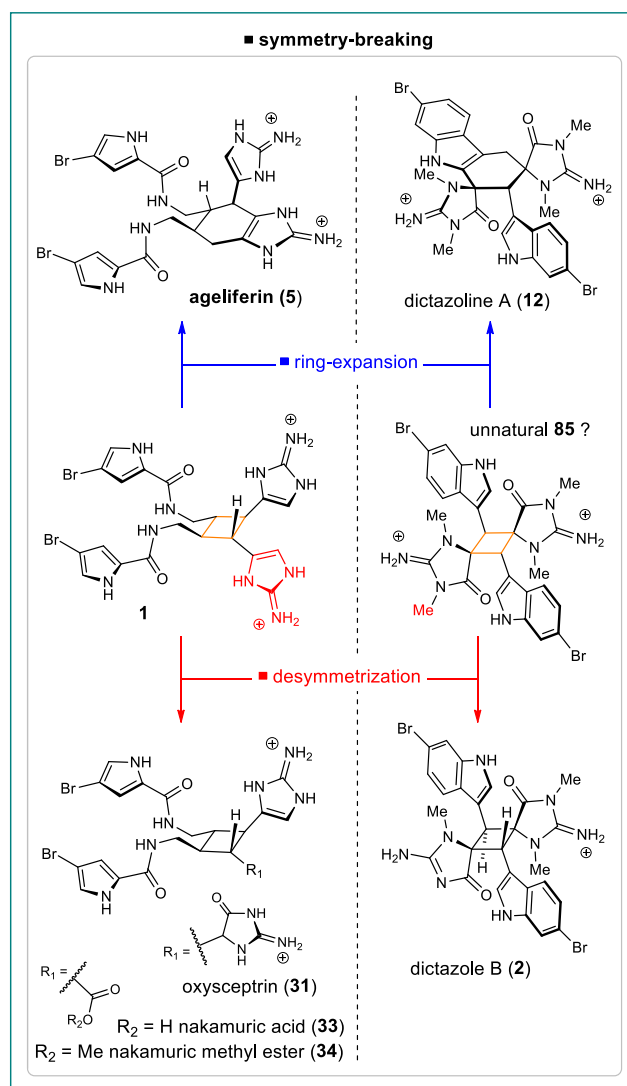


Figure 14 : Symmetry-breaking as a source of diversity in the two series.

The aim of this report was to provide a perspective on the situation of cyclobutane-centered marine alkaloids.

These natural substances have drawn the attention of a substantial community in the field over the last decades. Isolation, structure elucidation, biosynthetic pathways, diversity as well as their inspiring target status are among the aspects of these singular entities treated herein. Both synthetic and biosynthetic networks based on all of the previous criteria have finally been exposed. Still, hyphenated biosynthetic studies are now needed to deduce the level of enzymatic control during the *in vivo* assembly of such unique molecular architectures.

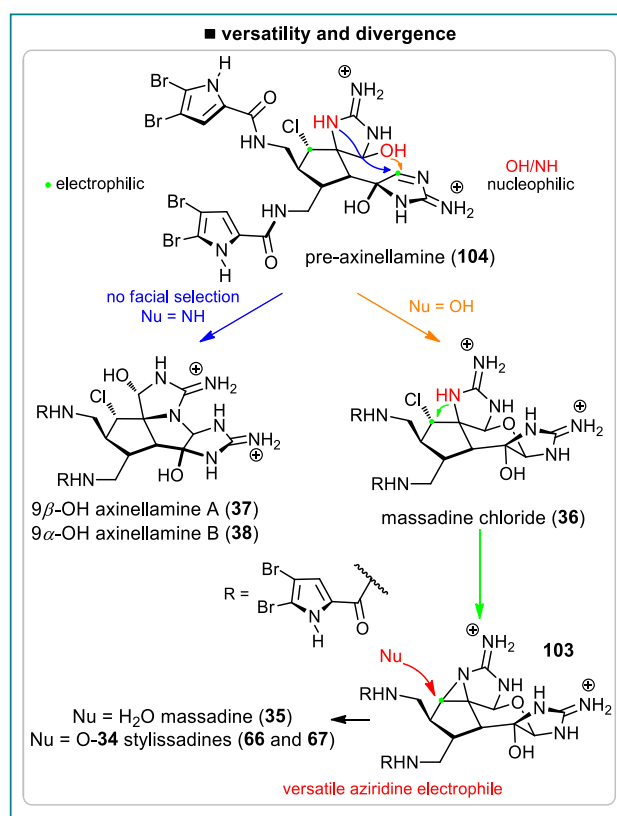


Figure 15 : Versatility as a source of diversity, example of pre-axinellamine (**104**).

References

1. Alkaloids which feature a cyclobutane ring built by the pairing of monomeric units are called "cyclobutane-centered" alkaloids.
2. H. Hoffmann and T. Lindel, *Synthesis*, 2003, **2003**, 1753-1783.
3. D. Bialonska and J. Zjawiony, *Mar. Drugs*, 2009, **7**, 166-183.
4. A. Al-Mourabit, M. A. Zancanella, S. Tilvi and D. Romo, *Nat. Prod. Rep.*, 2011, **28**, 1229-1260.
5. D. E. Jacquot and T. Lindel, *Curr. Org. Chem.*, 2005, **9**, 1551-1565.
6. M. Köck, A. Grube, I. B. Seiple and P. S. Baran, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, **46**, 6586-6594.
7. S. M. Weinreb, *Nat. Prod. Rep.*, 2007, **24**, 931-948.

8. B. Forte, B. Malgesini, C. Piutti, F. Quartieri, A. Scolaro and G. Papeo, *Mar. Drugs*, 2009, **7**, 705-753.
9. Emily M. Boyd and J. Sperry, *Chem. N. Z.*, 2010, **74**, 109-112.
10. S. Forenza, L. Minale, R. Riccio and E. Fattorusso, *J. Chem. Soc. D: Chem. Comm.*, 1971, 1129-1130.
11. P. R. Burkholder and G. Sharma, *Lloydia*, 1969, **32**, 466.
12. J. T. Gautschi, S. Whitman, T. R. Holman and P. Crews, *J. Nat. Prod.*, 2004, **67**, 1256-1261.
13. E. Hao, J. Fromont, D. Jardine and P. Karuso, *Molecules*, 2001, **6**, 130-141.
14. J. Kobayashi, Y. Ohizumi, H. Nakamura and Y. Hirata, *Experientia*, 1986, **42**, 1176-1177.
15. J. J. Morales and A. D. Rodríguez, *J. Nat. Prod.*, 1991, **54**, 629-631.
16. L. Chevolot, S. Padua, B. Ravi, P. Blyth and P. Scheuer, *Heterocycles*, 1977, **7**, 891-894.
17. C. Jiménez and P. Crews, *Tetrahedron Lett.*, 1994, **35**, 1375-1378.
18. F. Cafieri, E. Fattorusso, A. Mangoni and O. Tagliatela-Scafati, *Tetrahedron Lett.*, 1996, **37**, 3587-3590.
19. F. Cafieri, R. Carnuccio, E. Fattorusso, O. Tagliatela-Scafati and T. Vallefucio, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1997, **7**, 2283-2288.
20. H. Uemoto, M. Tsuda and J. i. Kobayashi, *J. Nat. Prod.*, 1999, **62**, 1581-1583.
21. E. Fattorusso and O. Tagliatela-Scafati, *Tetrahedron Lett.*, 2000, **41**, 9917-9922.
22. A. Aiello, M. D'Esposito, E. Fattorusso, M. Menna, W. E. G. Müller, S. Perović-Ottstadt and H. C. Schröder, *Bioorg. Med. Chem.*, 2006, **14**, 17-24.
23. C. Vergne, J. Appenzeller, C. Ratinaud, M.-T. Martin, C. Debitus, A. Zaparucha and A. Al-Mourabit, *Org. Lett.*, 2008, **10**, 493-496.
24. T. Hertiani, R. Edrada-Ebel, S. Ortlepp, R. W. M. van Soest, N. J. de Voogd, V. Wray, U. Hentschel, S. Kozytska, W. E. G. Müller and P. Proksch, *Bioorg. Med. Chem.*, 2010, **18**, 1297-1311.
25. S. S. Ebada, M. H. Linh, A. Longeon, N. J. de Voogd, E. Durieu, L. Meijer, M.-L. Bourguet-Kondracki, A. N. B. Singab, W. E. G. Müller and P. Proksch, *Nat. Prod. Res.*, 2014, **29**, 231-238.

26. G. M. Sharma and P. R. Burkholder, *J. Chem. Soc. D: Chem. Comm.*, 1971, 151-152.
27. G. Sharma and B. Magdoff-Fairchild, *J. Org. Chem.*, 1977, **42**, 4118-4124.
28. G. de Nanteuil, A. Ahond, J. Guilhem, C. Poupat, E. T. H. Dau, P. Potier, M. Pusset, J. Pusset and P. Laboute, *Tetrahedron*, 1985, **41**, 6019-6033.
29. G. R. Pettit, J. McNulty, D. L. Herald, D. L. Doubek, J.-C. Chapuis, J. M. Schmidt, L. P. Tackett and M. R. Boyd, *J. Nat. Prod.*, 1997, **60**, 180-183.
30. M. D'Ambrosio, A. Guerriero, C. Debitus, O. Ribes, J. Pusset, S. Leroy and F. Pietra, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, 1993, 1305-1306.
31. A. Guerriero, M. D'Ambrosio, G. Chiasera and F. Pietra, *Helv. Chim. Acta*, 1994, **77**, 1895-1902.
32. T. W. Hong, D. R. Jiménez and T. F. Molinski, *J. Nat. Prod.*, 1998, **61**, 158-161.
33. S. Tilvi, C. Moriou, M.-T. Martin, J.-F. Gallard, J. Sorres, K. Patel, S. Petek, C. Debitus, L. Ermolenko and A. Al-Mourabit, *J. Nat. Prod.*, 2010, **73**, 720-723.
34. A. Grube and M. Köck, *J. Nat. Prod.*, 2006, **69**, 1212-1214.
35. M. Tsuda, T. Yasuda, E. Fukushi, J. Kawabata, M. Sekiguchi, J. Fromont and J. i. Kobayashi, *Org. Lett.*, 2006, **8**, 4235-4238.
36. G. M. Sharma, J. S. Buyer and M. W. Pomerantz, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, 1980, 435-436.
37. G. Cimino, S. De Rosa, S. De Stefano, L. Mazzearella, R. Puliti and G. Sodano, *Tetrahedron Lett.*, 1982, **23**, 767-768.
38. I. Kitagawa, M. Kobayashi, K. Kitanaka, M. Kido and Y. Kyogoku, *Chem. Pharm. Bull.*, 1983, **31**, 2321-2328.
39. K. F. Albizati and D. J. Faulkner, *J. Org. Chem.*, 1985, **50**, 4163-4164.
40. F. J. Schmitz, S. P. Gunasekera, V. Lakshmi and L. M. V. Tillekeratne, *J. Nat. Prod.*, 1985, **48**, 47-53.
41. J. Kobayashi, Y. Ohizumi, H. Nakamura, Y. Hirata, K. Wakamatsu and T. Miyazawa, *Experientia*, 1986, **42**, 1064-1065.
42. J. Kobayashi, H. Nakamura and Y. Ohizumi, *Experientia*, 1988, **44**, 86-87.
43. G. R. Pettit, C. L. Herald, J. E. Leet, R. Gupta, D. E. Schaufelberger, R. B. Bates, P. J. Clewlow, D. L. Doubek, K. P. Manfredi, K. Rützler, J. M. Schmidt, L. P. Tackett, F. B. Ward, M. Bruck and F. Camou, *Can. J. Chem.*, 1990, **68**, 1621-1624.

44. K. Inaba, H. Sato, M. Tsuda and J. i. Kobayashi, *J. Nat. Prod.*, 1998, **61**, 693-695.
45. C. Eder, P. Proksch, V. Wray, K. Steube, G. Bringmann, R. W. M. van Soest, Sudarsono, E. Ferdinandus, L. A. Pattisina, S. Wiryowidagdo and W. Moka, *J. Nat. Prod.*, 1999, **62**, 184-187.
46. S. A. Fedoreyev, N. K. Utkina, S. G. Ilyin, M. V. Reshetnyak and O. B. Maximov, *Tetrahedron Lett.*, 1986, **27**, 3177-3180.
47. M. Assmann, R. W. M. van Soest and M. Köck, *J. Nat. Prod.*, 2001, **64**, 1345-1347.
48. M. Assmann and M. Köck, *znc*, 2002, **57**, 153.
49. M. Kuramoto, N. Miyake, Y. Ishimaru, N. Ono and H. Uno, *Org. Lett.*, 2008, **10**, 5465-5468.
50. S. A. Fedoreyev, S. G. Ilyin, N. K. Utkina, O. B. Maximov, M. V. Reshetnyak, M. Y. Antipin and Y. T. Struchkov, *Tetrahedron*, 1989, **45**, 3487-3492.
51. R. G. Linington, D. E. Williams, A. Tahir, R. van Soest and R. J. Andersen, *Org. Lett.*, 2003, **5**, 2735-2738.
52. M. Fujita, Y. Nakao, S. Matsunaga, M. Seiki, Y. Itoh, J. Yamashita, R. W. M. van Soest and N. Fusetani, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 15700-15701.
53. C. Vergne, N. Boury-Esnault, T. Perez, M.-T. Martin, M.-T. Adeline, E. Tran Huu Dau and A. Al-Mourabit, *Org. Lett.*, 2006, **8**, 2421-2424.
54. A. Al Mourabit and P. Potier, *Eur. J. Org. Chem.*, 2001, **2001**, 237-243.
55. X. Wang, Z. Ma, X. Wang, S. De, Y. Ma and C. Chen, *Chem. Comm.*, 2014, **50**, 8628-8639.
56. R. P. Walker, D. J. Faulkner, D. Van Engen and J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, **103**, 6772-6773.
57. A. Cipres, D. P. O'Malley, K. Li, D. Finlay, P. S. Baran and K. Vuori, *ACS Chem. Biol.*, 2010, **5**, 195-202.
58. T. Lindel, H. Hoffmann, M. Hochgürtel and J. R. Pawlik, *J Chem Ecol*, **26**, 1477-1496.
59. V. S. Bernan, D. M. Roll, C. M. Ireland, M. Greenstein, W. M. Maiese and D. A. Steinberg, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1993, **32**, 539-550.
60. R. Rosa, W. Silva, G. E. Motta, A. D. Rodríguez, J. J. Morales and M. Ortiz, *Experientia*, **48**, 885-887.

61. Various biological activities have been reported for the aplysinopsin series ranging from antidepressant to antimicrobial properties, see ref 3.
62. P. A. Keifer, R. E. Schwartz, M. E. S. Koker, R. G. Hughes, D. Rittschof and K. L. Rinehart, *J. Org. Chem.*, 1991, **56**, 2965-2975.
63. X. Shen, T. L. Perry, C. D. Dunbar, M. Kelly-Borges and M. T. Hamann, *J. Nat. Prod.*, 1998, **61**, 1302-1303.
64. C. Eder, P. Proksch, V. Wray, R. W. M. van Soest, E. Ferdinandus, L. A. Pattisina and Sudarsono, *J. Nat. Prod.*, 1999, **62**, 1295-1297.
65. J. Appenzeller, S. Tilvi, M.-T. Martin, J.-F. Gallard, H. El-bitar, E. T. H. Dau, C. Debitus, D. Laurent, C. Moriou and A. Al-Mourabit, *Org. Lett.*, 2009, **11**, 4874-4877.
66. J. Dai, J. I. Jiménez, M. Kelly and P. G. Williams, *J. Org. Chem.*, 2010, **75**, 2399-2402.
67. R. Kazlauskas, P. T. Murphy, R. J. Quinn and R. J. Wells, *Tetrahedron Lett.*, 1977, **18**, 61-64.
68. G. Guella, I. Mancini, H. Zibrowius and F. Pietra, *Helv. Chim. Acta*, 1989, **72**, 1444-1450.
69. K. Kondo, J. Nishi, M. Ishibashi and J. i. Kobayashi, *J. Nat. Prod.*, 1994, **57**, 1008-1011.
70. E. G. L. Koh and H. Sweatman, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 2000, **251**, 141-160.
71. S. Aoki, Y. Ye, K. Higuchi, A. Takashima, Y. Tanaka, I. Kitagawa and M. Kobayashi, *Chem. Pharm. Bull.*, 2001, **49**, 1372-1374.
72. N. L. Segraves and P. Crews, *J. Nat. Prod.*, 2005, **68**, 1484-1488.
73. A. J. Kochanowska, K. V. Rao, S. Childress, A. El-Alfy, R. R. Matsumoto, M. Kelly, G. S. Stewart, K. J. Sufka and M. T. Hamann, *J. Nat. Prod.*, 2008, **71**, 186-189.
74. N. Cachet, L. Loffredo, O. O. Vicente and O. P. Thomas, *Phytochemistry Lett.*, 2013, **6**, 205-208.
75. T. Iwagawa, M. Miyazaki, H. Okamura, M. Nakatani, M. Doe and K. Takemura, *Tetrahedron Lett.*, 2003, **44**, 2533-2535.
76. I. Mancini, G. Guella, H. Zibrowius and F. Pietra, *Tetrahedron*, 2003, **59**, 8757-8762.
77. T. Iwagawa, M. Miyazaki, Y. Yokogawa, H. Okamura, M. Nakatani, M. Doe, Y. Morimoto and K. Takemura, *Heterocycles*, 2008, **75**, 2023-2028.
78. J. Dai, J. I. Jiménez, M. Kelly, S. Barnes, P. Lorenzo and P. Williams, *J. Nat. Prod.*, 2008, **71**, 1287-1290.

79. M. Meyer, F. Delberghe, F. Liron, M. Guillaume, A. Valentin and M. Guyot, *Nat. Prod. Res.*, 2009, **23**, 178-182.
80. P. A. K. Keifer, M. E. S.; Schwartz, R. E.; Hughes, R. G., and D. R. Jr.; Rittschof, K. L. , Presented at the 26th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1986.
81. K. L. Rinehart, *Pure Appl. Chem.*, 1989, **61**, 525-528.
82. J. i. Kobayashi, M. Tsuda, T. Murayama, H. Nakamura, Y. Ohizumi, M. Ishibashi, M. Iwamura, T. Ohta and S. Nozoe, *Tetrahedron*, 1990, **46**, 5579-5586.
83. D. H. Williams and D. J. Faulkner, *Tetrahedron*, 1996, **52**, 5381-5390.
84. T. Endo, M. Tsuda, T. Okada, S. Mitsunashi, H. Shima, K. Kikuchi, Y. Mikami, J. Fromont and J. i. Kobayashi, *J. Nat. Prod.*, 2004, **67**, 1262-1267.
85. S. Urban, P. de Almeida Leone, A. R. Carroll, G. A. Fechner, J. Smith, J. N. A. Hooper and R. J. Quinn, *J. Org. Chem.*, 1999, **64**, 731-735.
86. These compounds should not be confused with the axinellamines isolated by Reynolds et al., Bascombe, K. C.; Peter, S. R.; Tinto, W. F.; Bissada, S. M.; McLean, S.; Reynolds, W. F. *Heterocycles* 1998, **48**, 1461-1464.
87. S. Nishimura, S. Matsunaga, M. Shibazaki, K. Suzuki, K. Furihata, R. W. M. van Soest and N. Fusetani, *Org. Lett.*, 2003, **5**, 2255-2257.
88. A. Grube, S. Immel, P. S. Baran and M. Köck, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, **46**, 6721-6724.
89. A. Grube and M. Köck, *Org. Lett.*, 2006, **8**, 4675-4678.
90. M. S. Buchanan, A. R. Carroll, R. Addepalli, V. M. Avery, J. N. A. Hooper and R. J. Quinn, *J. Org. Chem.*, 2007, **72**, 2309-2317.
91. Z. Ma, X. Wang, X. Wang, R. A. Rodriguez, C. E. Moore, S. Gao, X. Tan, Y. Ma, A. L. Rheingold, P. S. Baran and C. Chen, *Science*, 2014, **346**, 219-224.
92. X. Wang, Y. Gao, Z. Ma, R. A. Rodriguez, Z.-X. Yu and C. Chen, *Org. Chem. Front.*, 2015, **2**, 978-984.
93. W. C. Hamilton, *Acta Crystallogr.*, 1965, **18**, 502-510.
94. J. M. Bijvoet, A. F. Peerdeman and A. J. van Bommel, *Nature*, 1951, **168**, 271-272.
95. H. D. Flack, *CHIMIA Int. J. Chem.*, 2014, **68**, 26-30.
96. P. G. Jones, *Chem. Soc. Rev.*, 1984, **13**, 157-172.

97. D. Rogers, *Acta Crystallogr., Sect. A*, 1981, **37**, 734-741.
98. H. D. Flack, *Acta Crystallogr., Sect. A*, 1983, **39**, 876-881.
99. R. W. W. Hooft, L. H. Straver and A. L. Spek, *J. App. Crystallogr.*, 2008, **41**, 96-103.
100. S. Parsons, T. Wagner, O. Presly, P. A. Wood and R. I. Cooper, *J. App. Crystallogr.*, 2012, **45**, 417-429.
101. P. S. Baran, K. Li, D. P. O'Malley and C. Mitsos, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2006, **45**, 249-252.
102. D. P. O'Malley, K. Li, M. Maue, A. L. Zografos and P. S. Baran, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 4762-4775.
103. T. Yasuda, A. Araki, T. Kubota, J. Ito, Y. Mikami, J. Fromont and J. i. Kobayashi, *J. Nat. Prod.*, 2009, **72**, 488-491.
104. G. Guella, I. Mancini, H. Zibrowius and F. Pietra, *Helv. Chim. Acta*, 1988, **71**, 773-782.
105. The relative stereochemistry of C9 in dictazolines B (**13**) and C (**14**) was tentatively assigned as the same for dictazoline A (**12**) on the basis of a comparison of the carbon chemical shifts.
106. L. M. Sweeting, D. C. Crans and G. M. Whitesides, *J. Org. Chem.*, 1987, **52**, 2273-2276.
107. S. Egan, T. Thomas, *Front. Microbiol.*, 2015, 585, doi: 10.3389/fmicb.2015.00585.
108. P. Andrade, R. Willoughby, S. A. Pomponi, R. G. Kerr, *Tetrahedron Lett.*, 1999, **40**, 4775-4778.
109. G. Genta-Jouve, N. Cachet, S. Holderith, F. Oberhansli, J.-L. Teyssié, R. Jeffree, A. Al-Mourabit, O. P. Thomas, *ChemBioChem*, **2011**, *12*, 2298-2301.
110. E. Richelle-Maurer, M. J. De Kluijver, S. Feio, S. Gaudêncio, H. Gaspar, R. Gomez, R. Tavares, G. Van de Vyver, R. W. M. Van Soest, *Biochem. System. Ecol.*, 2003, **31**, 1073-1091.
111. Among others, "The multiple sources of aplysinopsins suggest a common microbial origin, but, to date, no cellular localization study came to confirm this hypothesis", see *Phytochemistry Lett.*, 2013, **6**, 205-208.
112. P. S. Baran, A. L. Zografos and D. P. O'Malley, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 3726-3727.
113. V. B. Birman and X.-T. Jiang, *Org. Lett.*, 2004, **6**, 2369-2371.
114. Z. Lu and T. P. Yoon, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012, **51**, 10329-10332.

115. T. P. Yoon, *ACS Catal.*, 2013, **3**, 895-902.
116. X. Wang and C. Chen, *Tetrahedron*, 2015, **71**, 3690-3693.
117. W. R. Gutekunst and P. S. Baran, *J. Org. Chem.*, 2014, **79**, 2430-2452.
118. S. A. Snyder, A. M. ElSohly and F. Kontes, *Nat. Prod. Rep.*, 2011, **28**, 897-924.
119. A. Skiredj, M. A. Beniddir, D. Joseph, K. Leblanc, G. Bernadat, L. Evanno and E. Poupon, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2014, **53**, 6419-6424.
120. A. Skiredj, M. A. Beniddir, D. Joseph, G. Bernadat, L. Evanno and E. Poupon, *Synthesis*, 2015, **47**, 2367-2376.
121. A. Skiredj, M. A. Beniddir, D. Joseph, K. Leblanc, G. Bernadat, L. Evanno and E. Poupon, *Org. Lett.*, 2014, **16**, 4980-4983.
122. P. S. Baran, D. P. O'Malley and A. L. Zografos, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2004, **43**, 2674-2677.
123. B. H. Northrop, D. P. O'Malley, A. L. Zografos, P. S. Baran and K. N. Houk, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2006, **45**, 4126-4130.
124. D. P. O'Malley, K. Li, M. Maue, A. L. Zografos and P. S. Baran, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 4762-4775.
125. R. B. Kinnel, H.-P. Gehrken, R. Swali, G. Skoropowski and P. J. Scheuer, *J. Org. Chem.*, 1998, **63**, 3281-3286.
126. H. Ding, A. G. Roberts and P. G. Harran, *Chem. Sci.*, 2013, **4**, 303-306.
127. H. Ding, A. G. Roberts and P. G. Harran, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012, **51**, 4340-4343.
128. D. P. O'Malley, J. Yamaguchi, I. S. Young, I. B. Seiple and P. S. Baran, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2008, **47**, 3581-3583.
129. S. Su, I. B. Seiple, I. S. Young and P. S. Baran, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 16490-16491.
130. X. Tan and C. Chen, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2006, **45**, 4345-4348.
131. X. Wang, X. Wang, X. Tan, J. Lu, K. W. Cormier, Z. Ma and C. Chen, *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, **134**, 18834-18842.
132. Notably, Chen's attempts to synthesize the axinellamine core resulted once again (just like for Baran) in the epimeric formation of the spirobicyclic motif.

133. The term metabiosynthesis is used to define cell-free, enzymatic reactions conducted on substrates to give natural products (or analogs). This term supposes the recourse to the biosynthetic machinery of the organism but not under "real life" conditions.
134. E. P. Stout, Y.-G. Wang, D. Romo and T. F. Molinski, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012, **51**, 4877-4881.
135. E. P. Stout, B. I. Morinaka, Y.-G. Wang, D. Romo and T. F. Molinski, *J. Nat. Prod.*, 2012, **75**, 527-530.
136. T. C. Sherwood, A. H. Trotta and S. A. Snyder, *J. Am. Chem. Soc.*, 2014, **136**, 9743-9753.
137. S. L. Drew, A. L. Lawrence and M. S. Sherburn, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2013, **52**, 4221-4224.
138. R. S. Harvey, E. G. Mackay, L. Roger, M. N. Paddon-Row, M. S. Sherburn and A. L. Lawrence, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2015, **54**, 1795-1798.
139. P. D. Brown, A. C. Willis, M. S. Sherburn and A. L. Lawrence, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2013, **52**, 13273-13275.
140. P. Ellerbrock, N. Armanino and D. Trauner, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2014, **53**, 13414-13418.
141. T. Wang and T. R. Hoye, *Nat. Chem.*, 2015, **7**, 641-645.
142. The evocated ensemble includes : clathrocin (**43**), hymenidin (**42**), oroidin (**3**), oxysceptrin (**31**), ageliferin (**5**), nagelamide E (**68**), nakamuric acid (**33**) and nakamuric methylester (**34**).
143. With a structure very similar to donnazoles. J. Muñoz, C. Moriou, J.-F. Gallard, P. D. Marie and A. Al-Mourabit, *Tetrahedron Lett.*, 2012, **53**, 5828-5832.
144. Q. Wang, X. Tang, X. Luo, N. J. de Voogd, P. Li and G. Li, *Org. Lett.*, 2015, **17**, 3458-3461.
145. S. A. Snyder, *Nature*, 2010, **465**, 560-561.
146. One of the most striking example of tolerated versatility for a secondary metabolite is resveratrol. This very simple polyphenol is at the origin of an incredible diversity of related dimers and oligomers with manifolds patterns of connectivity. M. H. Keylor, B. S. Matsuura and C. R. J. Stephenson, *Chem. Rev.* 2015, **115**, 8976-9027.
147. See the following examples of ring-distorsion or desymmetrization synthetic endeavors taken from the very recent litterature, including donor-acceptor cyclobutanes. (a) B. R. Balthaser, M. C. Maloney, A. B. Beeler, J. A. Porco and J. K. Snyder, *Nat. Chem.*, 2011, **3**,

969-973. (b) R. W. Huigens Iii, K. C. Morrison, R. W. Hicklin, T. A. Flood Jr, M. F. Richter and P. J. Hergenrother, *Nat. Chem.*, 2013, **5**, 195-202. (c) R. J. Rafferty, R. W. Hicklin, K. A. Maloof and P. J. Hergenrother, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2014, **53**, 220-224. (d) H.-U. Reissig and R. Zimmer, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2015, **54**, 5009-5011. (e) A. D. Gammack Yamagata, S. Datta, K. E. Jackson, L. Stegbauer, R. S. Paton and D. J. Dixon, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2015, **54**, 4899-4903. (f) D. Kalaitzakis, D. Noutsias and G. Vassilikogiannakis, *Org. Lett.*, 2015, **DOI**: 10.1021/acs.orglett.5b01693.

5.3. Perspectives biosynthétiques et biomimétiques.

Cet article d'analyse bibliographique constitue l'aboutissement d'une étude expérimentale ponctuée de plusieurs synthèses totales biomimétiques. En effet, le recours à des précurseurs naturels ou très proches des composés connus constitue un outil puissant. Cela permet de comprendre en profondeur les relations synthétiques qui peuvent exister entre les différents congénères d'une famille donnée de substances naturelles.

La formulation d'hypothèses biosynthétiques est une façon de valoriser le travail réalisé et montre la dimension transversale des stratégies biomimétiques. En effet, ces dernières ont des conséquences biologiques et d'écologie chimique.

Enfin, cette étude dichotomique a permis de mettre en perspective les hypothèses formulées dans un contexte plus large d'une seconde famille d'alcaloïdes marins. Cette vision élargie a également été l'occasion de faire l'"état de l'art" des techniques d'élucidation structurales et de synthèses bio-inspirées appliquées à ces deux familles de métabolites secondaires.

Bien entendu, des études biosynthétiques complètes ainsi que l'isolement de nouveaux composés naturels ou encore la réalisation d'autres synthèses bio-inspirées viendront enrichir (en confirmant ou infirmant d'ailleurs) les hypothèses discutées ci-avant.

6. Exploration de la catalyse à l'ADN dans la cascade des aplysinopsines.

6.1. Introduction : structure, catalyse et intérêt biomimétique.

6.1.1 Structure de l'ADN.

L'ADN se situe au cœur du paradigme biologique actuel. La connaissance de sa structure a permis l'émergence de la génétique contemporaine. Or, ce développement est à l'origine de notre ère biotechnologique. En effet, les sciences, et ce dans de nombreux domaines, sont fortement influencées par des disciplines telles que la génomique, le génie génétique et encore bien d'autres courants médicaux ou scientifiques inféodés à l'étude du génome ou de l'ADN.

La découverte de la structure en double hélice de l'ADN par Watson et Crick il y a maintenant plus de soixante ans constitue le point de départ de cette épopée.⁴³ Cette structure double brin supramoléculaire résulte de l'appariement des différentes bases de l'ADN *via* des liaisons hydrogènes. Les bases puriques (A-Adénine (**150**) et G-Guanine (**151**)) se lient aux bases pyrimidiques (T-Thymine (**152**) et C-Cytosine (**153**)) par deux et trois liaisons hydrogène respectivement pour former les paires de bases de l'ADN (A-T et G-C) (Figure 22).

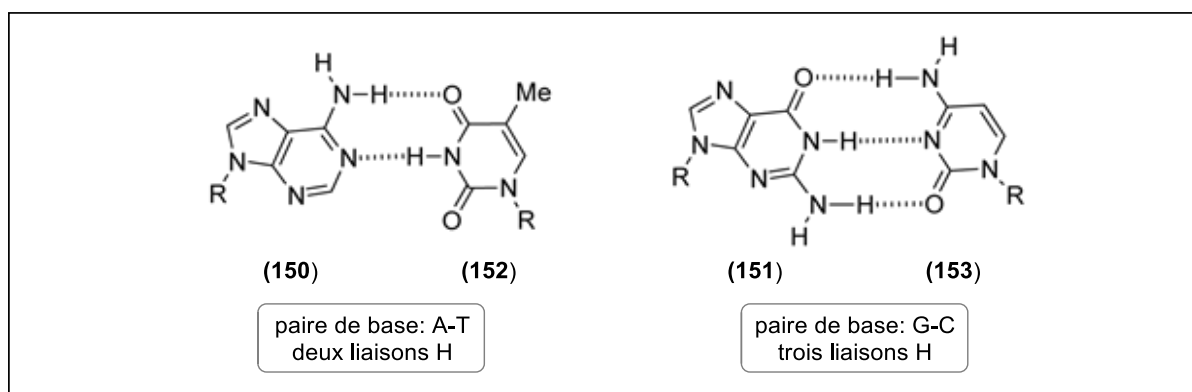


Figure 22 : Liaisons hydrogène et paires de bases de l'ADN.

La structure décrite par Watson et Crick en double hélice droite dite ADN-B est la conformation prédominante de ce biopolymère. Cette structure emblématique se caractérise par la présence d'un petit et d'un grand sillon. Le diamètre de l'hélice est d'environ 20 Å alors qu'un tour d'hélice est réalisé tous les 34 Å. Par ailleurs, la structure classique en double hélice droite de l'ADN-B décrite ci-avant n'est pas la seule. En effet, d'autres formes existent comme l'ADN-A qui est une double hélice droite déformée (Figure 23), l'ADN-Z qui est une double hélice gauche ou encore l'ADN-G dit "G-quadruplexes" par exemples (Figure 24).

⁴³ J. D. Watson and F. H. C. Crick ; *Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid* ; *Nature* **1953**, 171, 737-738.

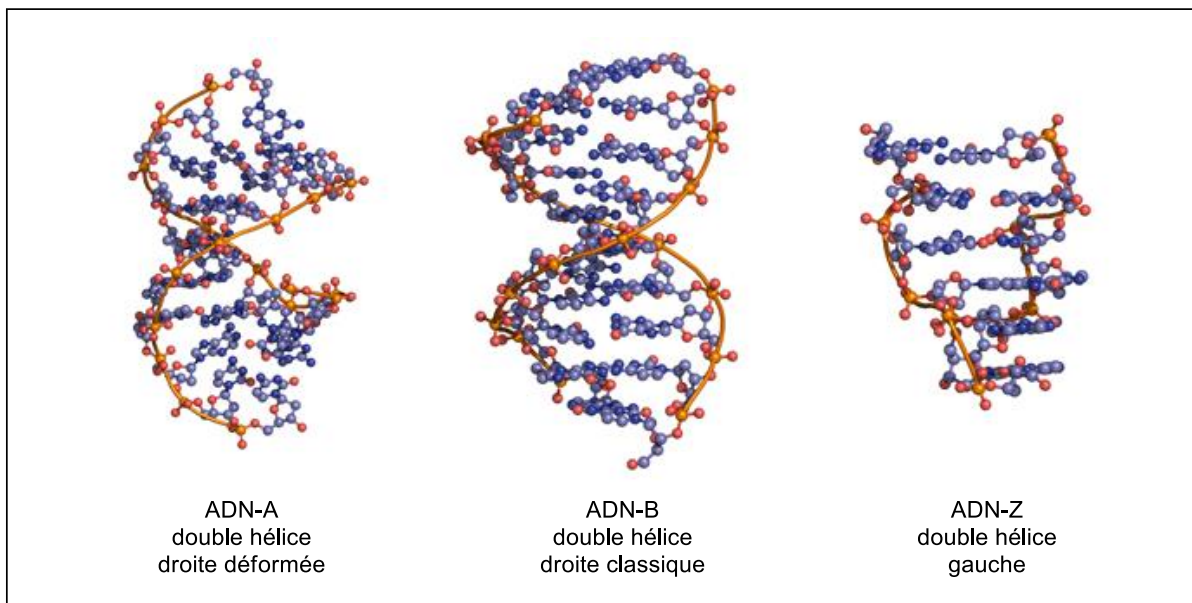


Figure 23 : Structures bicaténares de l'ADN.⁴⁴

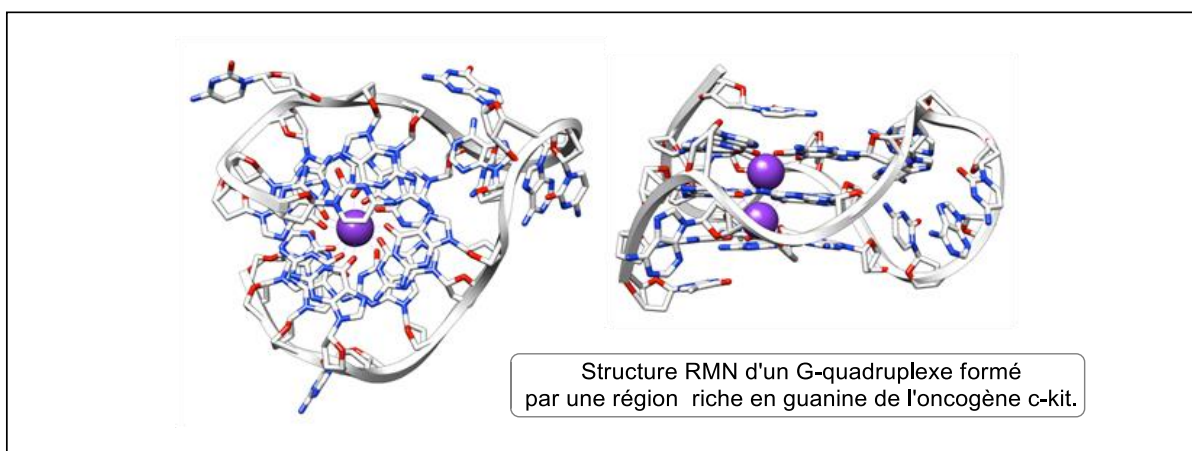


Figure 24 : Exemple de G-quadruplexe.⁴⁵

Enfin, on peut noter que l'ADN sous sa forme hybridée (double brin) est assez stable.

⁴⁴ Figure adaptée du site internet : <http://www.atdbio.com/>, une entreprise fondée par les Prof. Tom Brown ainsi que les Dr. Dorcas Brown, Dr. Tom Brown Jr. Et Dr. Asha Brown.

⁴⁵ S.-T. D. Hsu, P. Varnai, A. Bugaut, A. P. Reszka, S. Neidle and S. Balasubramanian ; *A G-Rich Sequence within the c-kit Oncogene Promoter Forms a Parallel G-Quadruplex Having Asymmetric G-Tetrad Dynamics*; *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 13399-13409.

6.1.2. L'ADN, un biopolymère utilisé en catalyse asymétrique.

La catalyse asymétrique est un domaine très prolifique de la chimie organique.⁴⁶ Parmi la myriade de stratégies développées, la plupart ont recours à des ligands chiraux complexes organisés autour de métaux sur lesquels repose l'induction de chiralité du système catalytique.

Des approches alternatives ont conduit au développement de l'organocatalyse et des biotransformations. Dans le cas de l'organocatalyse, c'est directement le chassis du composé organique utilisé comme catalyseur (comme la proline ou d'autres composés chiraux) qui est à l'origine de l'induction chirale.⁴⁷ Les biotransformations, quant à elles, mettent à profit la structure tridimensionnelle et l'activité catalytique d'enzymes pour catalyser des transformations assez peu diverses mais très sélectives.⁴⁸

Dans cet écosystème catalytique éclectique, des catalyseurs mettant à la fois à profits les propriétés catalytiques des métaux de transitions et les chassis chiraux des biopolymères ont été développés. On parle de catalyseurs "biohybrides". Différents biopolymères tels que des peptides, des protéines ou des acides nucléiques peuvent être utilisés à cette fin. Parmi ceux-ci, l'ADN est un candidat tout à fait adapté en raison de sa stabilité, de son architecture chirale bien définie et de sa disponibilité commerciale notamment.

On peut noter que des brins d'ADN de tailles et de compositions (séquences) variables sont disponibles. Il est commode de se procurer directement de l'ADN de saumon ou de veau purifiés (st-ADN et ct-ADN respectivement) pour un prix tout à fait abordable (137 €/g) au regard des faibles quantités nécessaires à la réalisation des expérimentations.

La compatibilité de l'ADN avec la conduite de réactions chimiques avait été démontrée par la formation racémique de produits d'aldolisations, de réactions de Henry ou encore d'additions de Michael.⁴⁹ Alors, il était nécessaire de maîtriser le transfert de l'information chirale portée par l'ADN afin de réaliser des transformations énantiosélectives. Cela a été réalisé par différentes approches qui sont résumées ci-après.⁵⁰

La tactique la plus évidente est l'approche dite covalente. Celle-ci consiste à greffer directement un ligand sur l'ADN. Les structures d'ADN modifiées de ce type peuvent être obtenues de deux manières distinctes : par synthèse nucléotidique *via* des nucléotides modifiés ou par modification post-synthétiques d'ADN (Schéma 35).

⁴⁶ R. E. Gawley and J. Aubé (Eds.); *Principles of Asymmetric Synthesis (2nd Ed.)*; Elsevier; 2012.

⁴⁷ D. W. C. MacMillan; *The advent and development of organocatalysis*; *Nature* **2008**, 455, 304-308.

⁴⁸ a) A. J. J. Straathof, S. Panke and A. Schmid; *The production of fine chemicals by biotransformations*; *Curr. Opin. Biotech.* **2002**, 13, 548-556. b) K. Faber; *Biotransformations in Organic Chemistry: A Textbook (6th Ed.)*; Springer ; 2011.

⁴⁹ a) G. Sun, J. Fan, Z. Wang and Y. Li; *A Novel DNA-Catalyzed Aldol Reaction*; *Synlett* **2008**, 2008, 2491-2494. b) J. Fan, G. Sun, C. Wan, Z. Wang and Y. Li; *Investigation of DNA as a catalyst for Henry reaction in water*; *Chem. Commun.* **2008**, 3792-3794. c) M. De Rosa, S. Di Marino, A. M. D'Ursi, M. Strianese and A. Soriente; *Genomic salmon testes DNA as a catalyst for Michael reactions in water*; *Tetrahedron* **2012**, 68, 3086-3091.

⁵⁰ a) A. J. Boersma, R. P. Megens, B. L. Feringa and G. Roelfes; *DNA-based asymmetric catalysis*; *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 2083-2092. b) A. Rioz-Martínez and G. Roelfes; *DNA-based hybrid catalysis*; *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2015**, 25, 80-87.

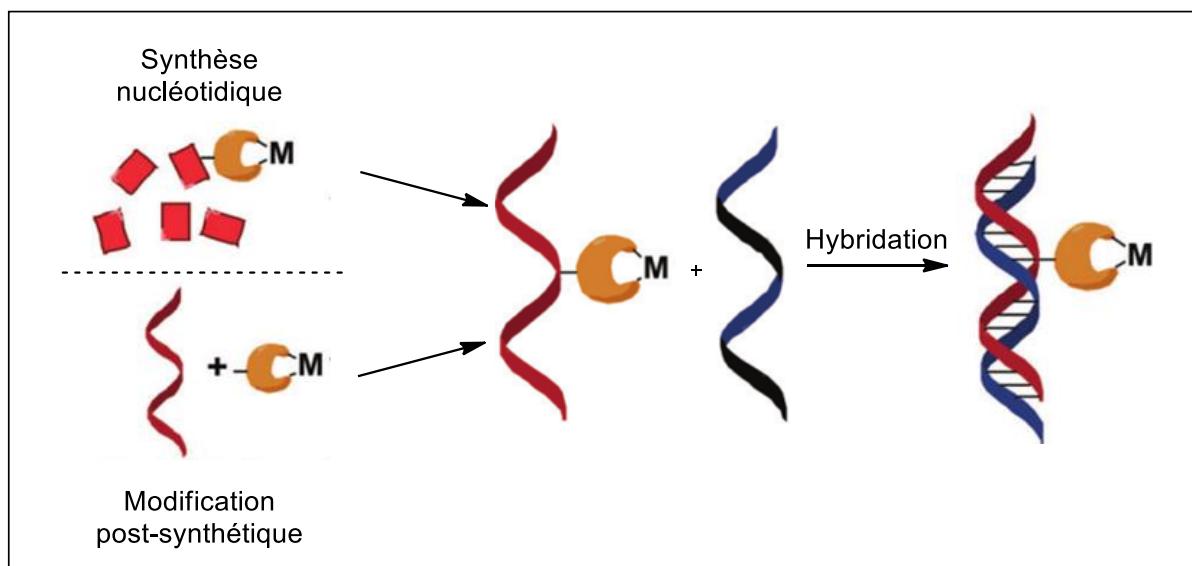


Schéma 35 : Approche covalente d'ancrage de ligands sur l'ADN.⁵¹

Néanmoins, la stratégie qui sera considérée par la suite, et donc développée ici, est l'approche non covalente. Dans ce contexte, ce sont des interactions supramoléculaires qui sont responsables de l'interaction entre le ligand ou même un substrat et l'ADN. En effet, c'est alors la capacité de l'ADN à interagir avec les substances organiques diverses qui est mise à profit. Différents mécanismes sont alors à l'œuvre. On peut citer ici des modes d'ancrages, ou tout du moins, des types d'interactions telles que l'intercalation (par interaction π ; π -stacking) ou la liaison aux sillons (via des liaisons hydrogène) (Figure 25).

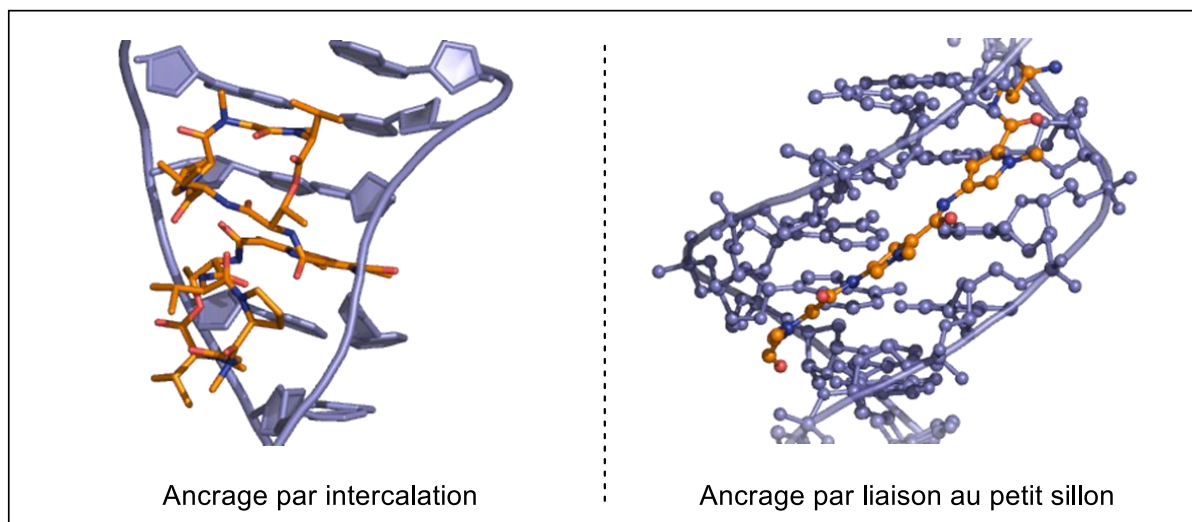


Figure 25 : Représentation des modes d'ancrages supramoléculaires dans l'ADN.

Il faut néanmoins garder à l'esprit que les interactions non-covalentes entre les petites molécules et l'ADN peuvent être de natures variées. Elles permettent ainsi d'envisager plusieurs approches.⁵² Cela rappelle également qu'il faut rester ouvert et vigilant lorsque des

⁵¹ Figure adaptée de la référence 50a : A. J. Boersma, R. P. Megens, B. L. Feringa and G. Roelfes; *DNA-based asymmetric catalysis*; *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 2083-2092.

⁵² L. Strekowski and B. Wilson; *Noncovalent interactions with DNA: An overview*; *Mutat. Res.* **2007**, 623, 3-13.

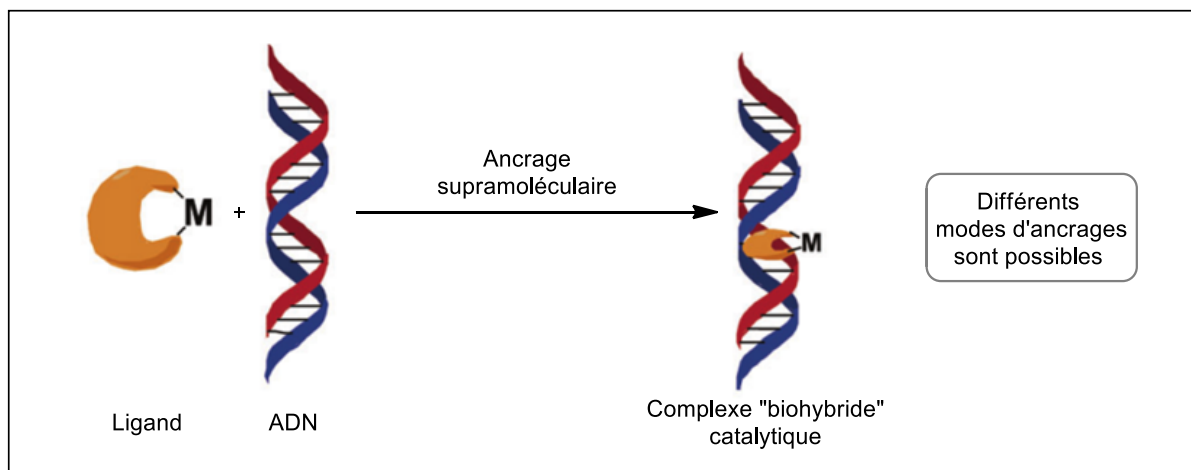


Schéma 36).

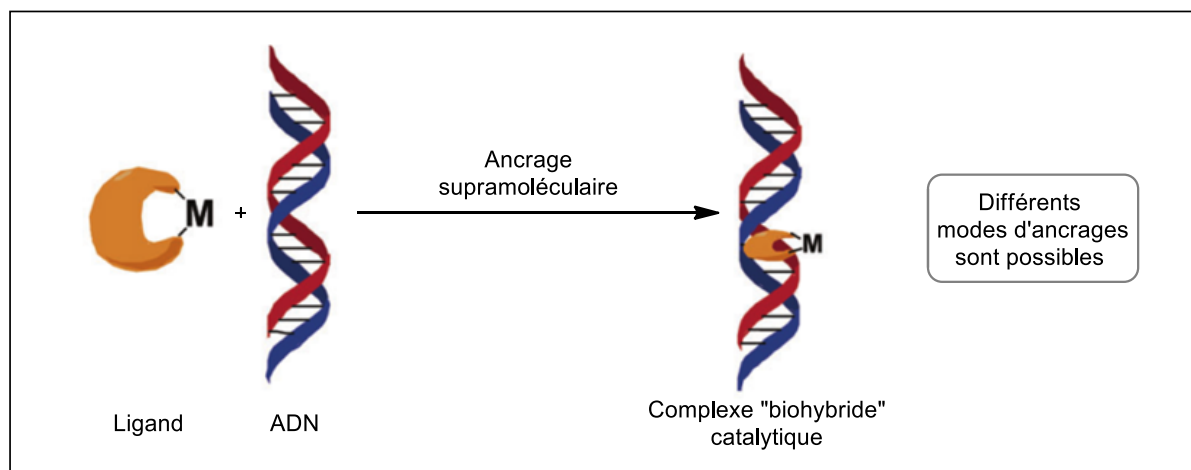


Schéma 36 : Approche non covalente.

L'efficacité de l'ADN dans le cadre de catalyses "biohybrides" a été démontrée à plusieurs reprises au cours des dix dernières années. Le trio ADN-métal-ligand est celui classiquement utilisé dans les travaux développés jusqu'à maintenant. La molécule liant l'ADN au substrat doit donc aussi comporter un site capable de complexer le métal qui catalyse la réaction (Figure 26).

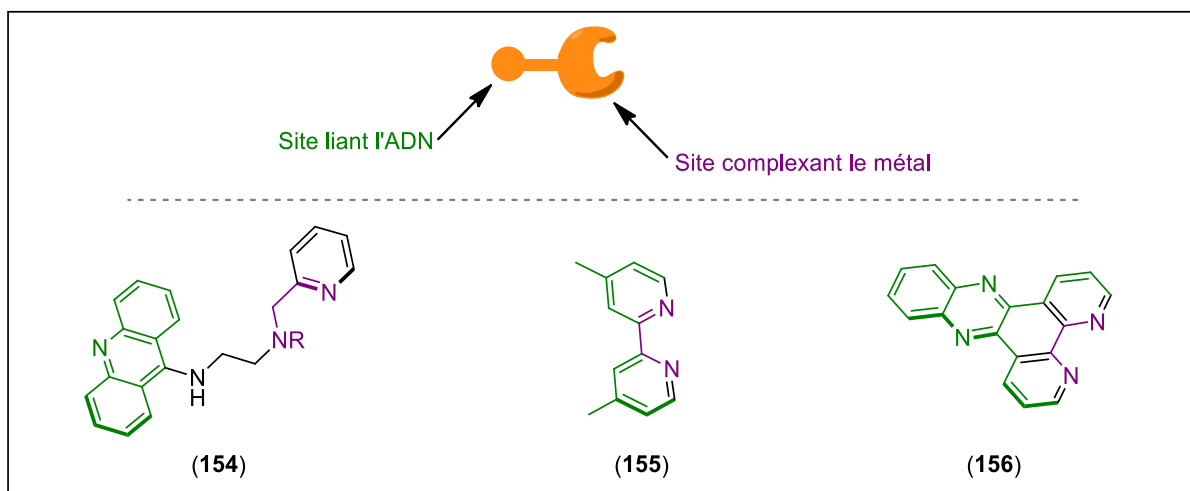


Figure 26 : Représentation de ligands bifonctionnels pour la catalyse biohybride à l'ADN.

En 2005, Roelfes et Feringa furent les premiers à démontrer la faisabilité de la catalyse à l'ADN. Alors, en utilisant le nitrate de cuivre (II) comme source de métal, ils réalisèrent une réaction de Diels-Alder asymétrique entre le cyclopentadiène (**157**) et l'azachalcone **158** pour former l'adduit **159** correspondant.⁵³ Les ligands utilisés sont bifonctionnels. Une partie de la molécule est vouée à s'intercaler dans l'ADN alors que le motif 2-aminométhyl-pyridine (aussi nommé 2-picolylamine) bidentate viendrait chélater le cuivre (voir la structure de **154**, Figure 26 et Schéma 37).

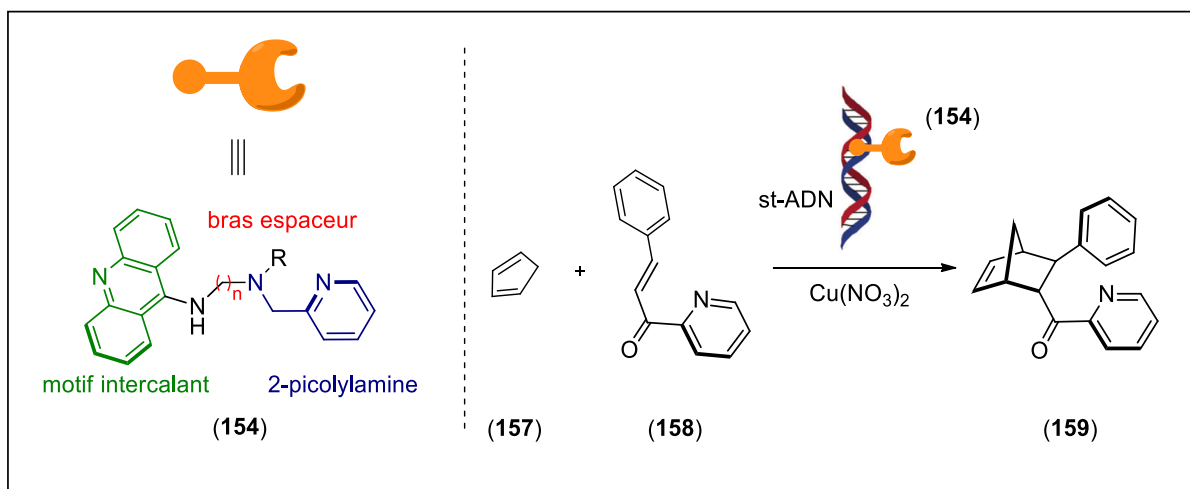
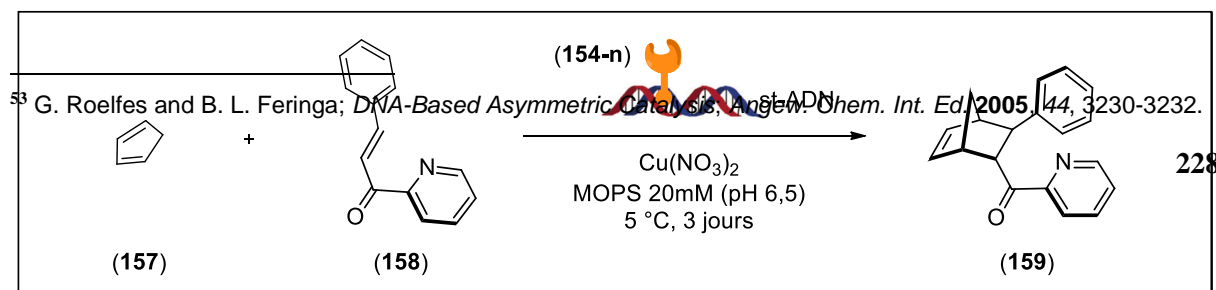


Schéma 37 : Première réaction de Diels-Alder en présence d'ADN et de ligands modulables.

La présence d'un bras espaceur a permis de mesurer son influence en plus de la fonctionnalisation du ligand (par un noyau 1-méthylnaphthalène ou un groupement 3,5-diméthoxybenzyle). Dans tous les cas, un mélange de produits *endo/exo* est formé avec une forte prédominance du produit *endo* (de l'ordre de 98 %). Un racémique est obtenu lorsque l'ADN est utilisé seul. L'influence du ligand est donc importante puisque des excès énantiomériques substantiels sont observés lorsque ceux-ci sont présents (Tableau 1).



Entrée	Groupe R	Ligand	Bras espaceur	Ratio <i>endo/exo</i>	ee (<i>endo</i>)	ee (<i>exo</i>)
1		154-1	n = 2	96/4	48 (+)	37 (+)
2		154-2	n = 3	98/2	49 (-)	18 (-)
3		154-3	n = 4	98/2	33 (-)	19 (-)
4		154-4	n = 5	97/3	< 5 (-)	< 5 (-)
5		154-5	n = 2	92/8	37 (+)	78 (+)
6		154-6	n = 3	98/2	37 (+)	7 (+)

Tableau 1 : Première Diels-Alder catalysées à l'ADN.

Lorsque la longueur du bras espaceur est supérieure à trois carbones, l'excès énantiomérique décroît (entrées 2-4). Avec un bras court de deux carbones, l'énantiosélectivité s'inverse (entrée 1). Il en est de même lorsque le 3,5-diméthoxybenzyle est présent sur le ligand par exemple (entrées 5 et 6).

La quête d'une meilleure énantiométrie a conduit Roelfes et Feringa à développer une seconde génération de ligands testés en présence de st-ADN. Au cours de cette étude, le recours à un bras espaceur a été abandonné au profit de ligands fusionnant les propriétés de chélation du métal et d'intercalation (Figure 27).⁵⁴

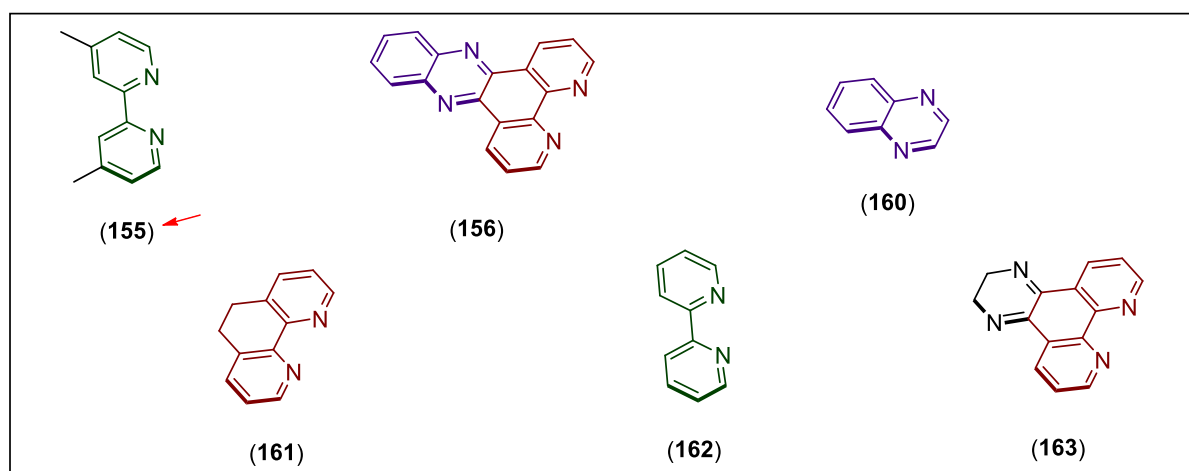


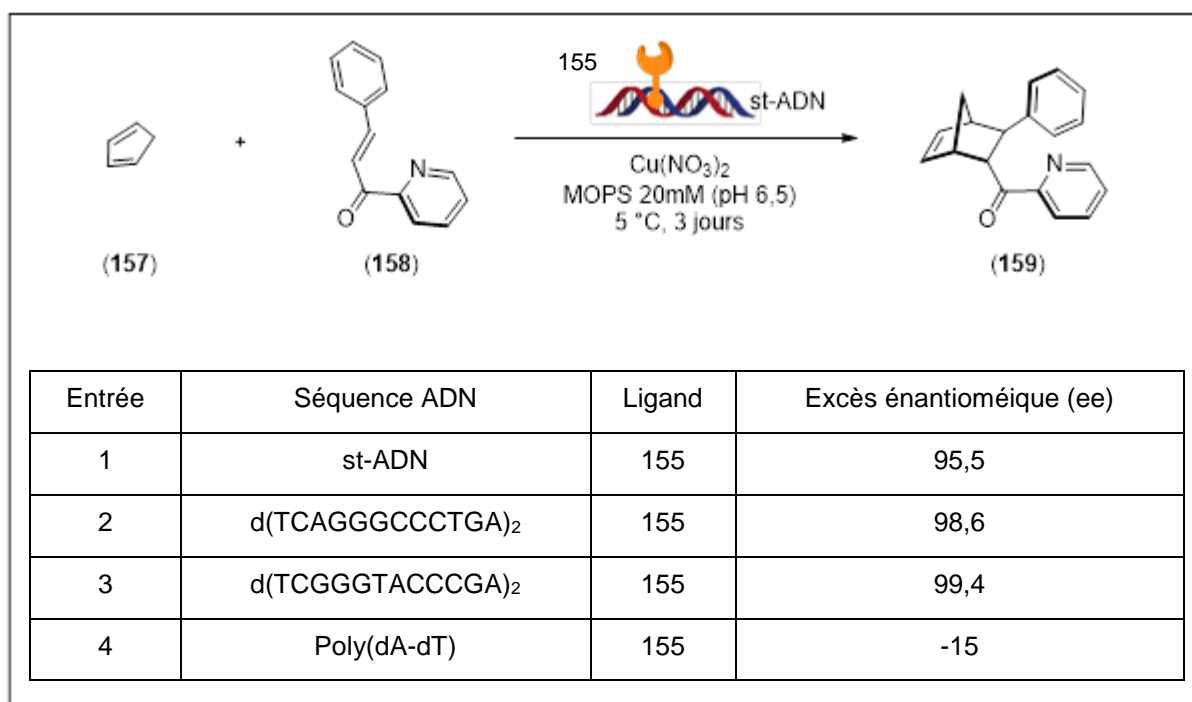
Figure 27 : Structures des ligands de seconde génération.

⁵⁴ G. Roelfes, A. J. Boersma and B. L. Feringa; *Highly enantioselective DNA-based catalysis*; *Chem. Commun.* **2006**, 635-637.

Des ligands dérivés de la quinoxaline (**160**), de la phénanthroline (**161**) et de la 2,2'-bipyridine (bipy) (**162**) ont été testés (comme **155**, **156**, **161**, **162** et **163**). Le meilleur ligand identifié était alors la 4,4'-diméthyl-2,2'-bipyridine (dmbipy) (**155**) avec un ratio *endo/exo* supérieur à 99 % en faveur de l'isomère *endo* et un excès énantiomérique de 99 %. La performance indéniable de ce ligand vient compléter un système ternaire efficace : st-ADN/Cu(NO₃)₂/dmbipy **155**.

Les considérations mécanistiques ne seront pas discutées ici. On peut simplement mentionner les données suivantes. Avec les ligands **154-n** de première génération, la vitesse de la réaction décroît légèrement. À l'inverse, en présence de dmbipy (**155**), la vitesse est augmentée d'un rapport 58. Plus précisément, c'est la constante de vitesse de formation de l'énantiomère majoritaire qui est augmentée en présence d'ADN.⁵⁵

D'autre part, une caractéristique de l'ADN considéré a été passée sous silence jusqu'à maintenant : sa séquence. Celle-ci peut varier et cela a une influence sur l'énantiosélectivité. En effet, l'**environnement confiné** responsable de l'induction de chiralité observée est un micro-environnement local. Bien que la structure de l'ADN-B soit bien définie, le transfert de chiralité peut être sensible aux modifications structurales les plus infimes. Ainsi, plusieurs oligonucléotides synthétiques ont été testés par Roelfes et Feringa.⁵⁰ Cette étude démontre bien l'influence de la séquence sur l'excès énantiomérique observé. Avec la 4,4'-diméthyl-2,2'-bipyridine (**155**), l'ADN purifié de saumon (st-ADN) mène à un excès énantiomérique de 98,5 %. Celui-ci est presque aussi bon que ceux observés avec les séquences d(TCAGGGCCCTGA)₂ (ee = 98,6 %) et d(TCGGGTACCCGA)₂ (ee = 99,4 %) alors que les excès énantiomériques obtenus avec d'autres séquences sont moins bons (Tableau 2).



⁵⁵ a) A. J. Boersma, J. E. Klijn, B. L. Feringa and G. Roelfes; *DNA-Based Asymmetric Catalysis: Sequence-Dependent Rate Acceleration and Enantioselectivity*; *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11783-11790. b) F. Rosati, A. J. Boersma, J. E. Klijn, A. Meetsma, B. L. Feringa and G. Roelfes; *A Kinetic and Structural Investigation of DNA-Based Asymmetric Catalysis Using First-Generation Ligands*; *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9596-9605.

5	Poly(dG-dC)	155	78
---	-------------	-----	----

Tableau 2 : influence de la séquence d'ADN.

Ce résultat est étonnant étant donné le caractère aléatoire de la séquence du st-ADN ou plus précisément du grand nombre de sous-séquences qui le composent par définition. De plus, le ligand et le cuivre vont se lier par intercalation suivant les lois statistiques classiques. L'hypothèse avancée par Roelfe et Feringa est celle d'une cinétique favorable aux séquences les plus efficaces d'un point de vue chiral. En d'autres termes, les sous-séquences qui catalysent réellement la réaction énantiosélective le font également avec bien plus de rapidité et compensent donc l'aspect aléatoire imposé par l'utilisation d'ADN non synthétiques comme le st-ADN ou le ct-ADN.⁵⁰

Outre le trio ADN-métal-ligand, les conditions réactionnelles ont aussi leur importance. Ainsi, le milieu aqueux tamponné par du MOPS (acide 3-(N-morpholino)propanesulfonique) à 20 mM est systématiquement utilisé pour réaliser ces transformations en présence d'ADN. Des travaux complémentaires de Roelfes ont permis de montrer que l'ajout de co-solvants miscibles à l'eau tels que le méthanol, le DMF ou le DMSO à hauteur du tiers du volume n'avait pas d'impacte sur l'excès énantiomérique observé (Tableau 3).⁵⁶ La réciproque n'est pas vraie en ce qui concerne les solvants organiques non (ou seulement partiellement) miscibles à l'eau qui conduisent à la précipitation de l'ADN.

Entrée	Co-solvant	Conversion	Excès énantiomérique (ee)
1	-	100	90
2	DMF	100	99
3	DMSO	100	99
4	MeOH	100	99
5	THF	34	99
6	CH ₂ Cl ₂	0	-

Tableau 3 : Influence du co-solvant.

⁵⁶ R. P. Megens and G. Roelfes; *Organic co-solvents in aqueous DNA-based asymmetric catalysis*; *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 1387-1393.

Avant d'en finir avec cette réaction de Diels-Alder inaugurale, on peut mentionner que l'utilisation de G-quadruplexe est aussi envisageable comme l'ont montré les groupes de Li et de Moses.⁵⁷ De plus, cette réaction initialement développée avec l'azachalcone **158** a été étendue à des substrats de type acyl-imidazole dérivés de **164**.⁵⁸

Une fois ce contexte posé, on peut évoquer les différentes applications existantes de la catalyse à l'ADN. Sur le même modèle (du système ternaire ADN-Cu(NO₃)₂-dmbipy), d'autres réactions énantiosélectives ont en effet pu être développées. Entre autres, diverses additions 1,4 ont pu être réalisées. Des réactions de Friedel-Craft *inter-* et *intra-*moléculaire ainsi que des additions de Michael et oxa-Michael énantiosélectives ont été développées avec succès.⁵⁹ Reposant à nouveau sur un système catalytique semblable, l'hydratation énantiosélective d'étones, la résolution cinétique d'époxydes ou encore la fluoration asymétrique ont enfin été décrites (Schéma 38).⁶⁰

⁵⁷ a) S. Roe, D. J. Ritson, T. Garner, M. Searle and J. E. Moses; *Tuneable DNA-based asymmetric catalysis using a G-quadruplex supramolecular assembly*; *Chem. Commun.* **2010**, 46, 4309-4311. b) C. Wang, G. Jia, J. Zhou, Y. Li, Y. Liu, S. Lu and C. Li; *Enantioselective Diels–Alder Reactions with G-Quadruplex DNA-Based Catalysts*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 9352-9355.

⁵⁸ D. A. Evans, K. R. Fandrick and H.-J. Song; *Enantioselective Friedel–Crafts Alkylations of α,β -Unsaturated 2-Acyl Imidazoles Catalyzed by Bis(oxazoliny)pyridine–Scandium(III) Triflate Complexes*; *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 8942-8943.

⁵⁹ a) A. J. Boersma, B. L. Feringa and G. Roelfes; *Enantioselective Friedel–Crafts Reactions in Water Using a DNA-Based Catalyst*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 3346-3348. b) S. Park, K. Ikehata, R. Watabe, Y. Hidaka, A. Rajendran and H. Sugiyama; *Deciphering DNA-based asymmetric catalysis through intramolecular Friedel–Crafts alkylations*; *Chem. Commun.* **2012**, 48, 10398-10400. c) D. Coquière, B. L. Feringa and G. Roelfes; *DNA-Based Catalytic Enantioselective Michael Reactions in Water*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 9308-9311. d) R. P. Megens and G. Roelfes; *DNA-based catalytic enantioselective intermolecular oxa-Michael addition reactions*; *Chem. Commun.* **2012**, 48, 6366-6368.

⁶⁰ a) A. J. Boersma, D. Coquière, D. Geerdink, F. Rosati, B. L. Feringa and G. Roelfes; *Catalytic enantioselective syn hydration of enones in water using a DNA-based catalyst*; *Nature Chem.* **2010**, 2, 991-995. b) N. Shibata, H. Yasui, S. Nakamura and T. Toru; *DNA-Mediated Enantioselective Carbon-Fluorine Bond Formation*; *Synlett* **2007**, 2007, 1153-1157. c) E. W. Dijk, B. L. Feringa and G. Roelfes; *DNA-based hydrolytic kinetic resolution of epoxides*; *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, 19, 2374-2377.

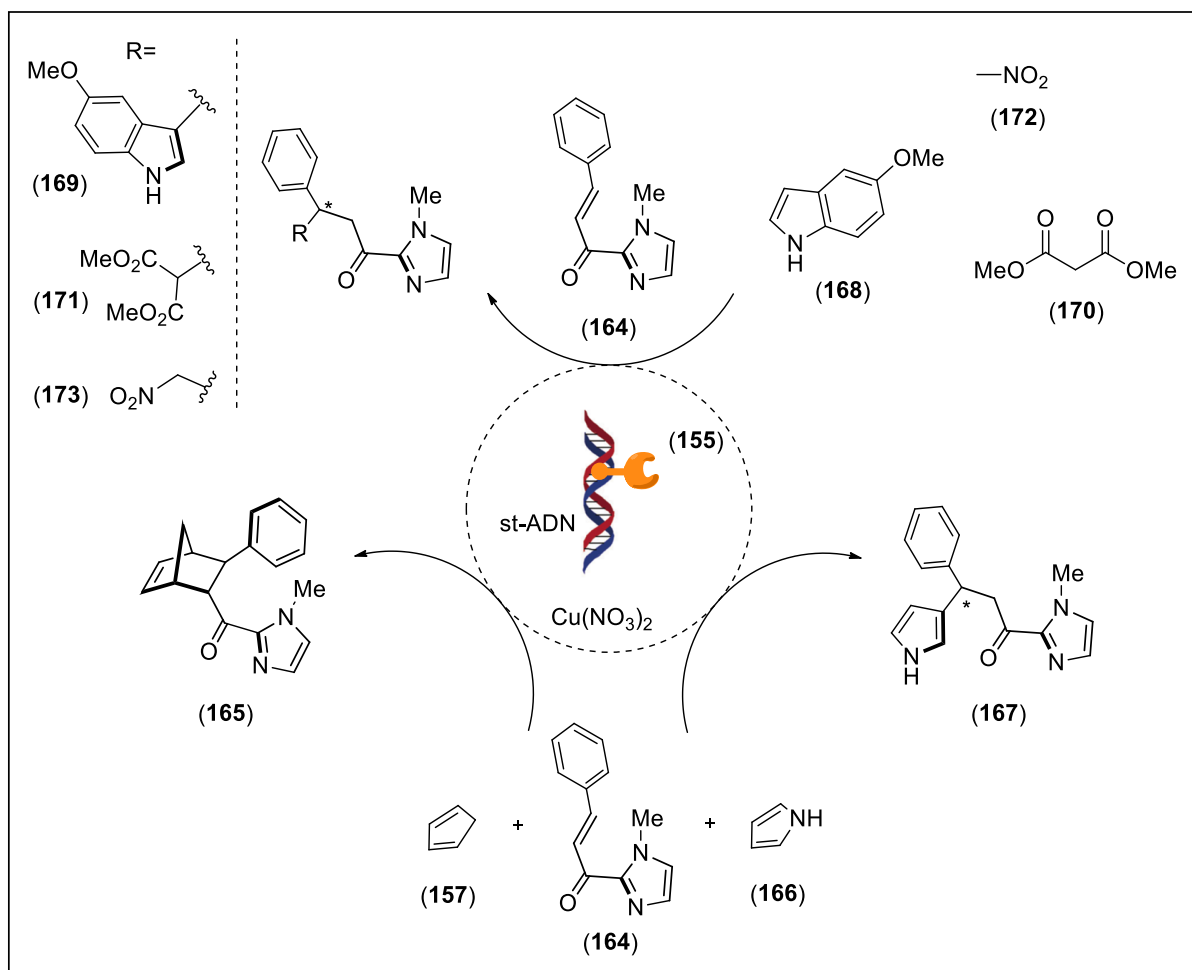


Schéma 38 : Développement de plusieurs réactions catalysées à l'ADN.

Plus récemment, le groupe d'Arsenyadis s'est investi dans la thématique et a montré que l'utilisation de *L*-ADN (*pseudo*-biopolymère issu de nucléotides non naturels construits autour de *L*-désoxyridose) pouvait induire une chiralité inverse à celle du *D*-ADN classique sur plusieurs des réactions rapportées ci-avant. Le *L*-ADN duplexe se structure en double hélice gauche (en somme, le reflet parfait de l' *D*-ADN décrit par Watson et Crick dans un miroir) alors que sa fonction reste inchangée (Tableau 4).⁶¹

Les applications liées à cette catalyse à l'ADN sont encore en devenir. On peut prendre l'exemple du développement d'ADN supporté qui est très prometteur.⁶² Enfin, la maîtrise des modes d'ancrage alternatifs ouvriront vraisemblablement la voie à bien d'autres possibilités. Dans cette logique, on peut citer par exemple le recours à des substances se liant au petit sillon de l'ADN comme les ligands Hoechst.⁶³

⁶¹ J. Wang, E. Benedetti, L. Bethge, S. Vohhoff, S. Klussmann, J.-J. Vasseur, J. Cossy, M. Smietana and S. Arseniyadis; *DNA vs. Mirror-Image DNA: A Universal Approach to Tune the Absolute Configuration in DNA-Based Asymmetric Catalysis*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 11546-11549.

⁶² E. Benedetti, N. Duchemin, L. Bethge, S. Vohhoff, S. Klussmann, J.-J. Vasseur, J. Cossy, M. Smietana and S. Arseniyadis; *DNA-cellulose: an economical, fully recyclable and highly effective chiral biomaterial for asymmetric catalysis*; *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 6076-6079.

⁶³ K. Amirbekyan, N. Duchemin, E. Benedetti, R. Joseph, A. Colon, S. A. Markarian, L. Bethge, S. Vohhoff, S. Klussmann, J. Cossy, J.-J. Vasseur, S. Arseniyadis and M. Smietana; *Design, Synthesis, and Binding Affinity*

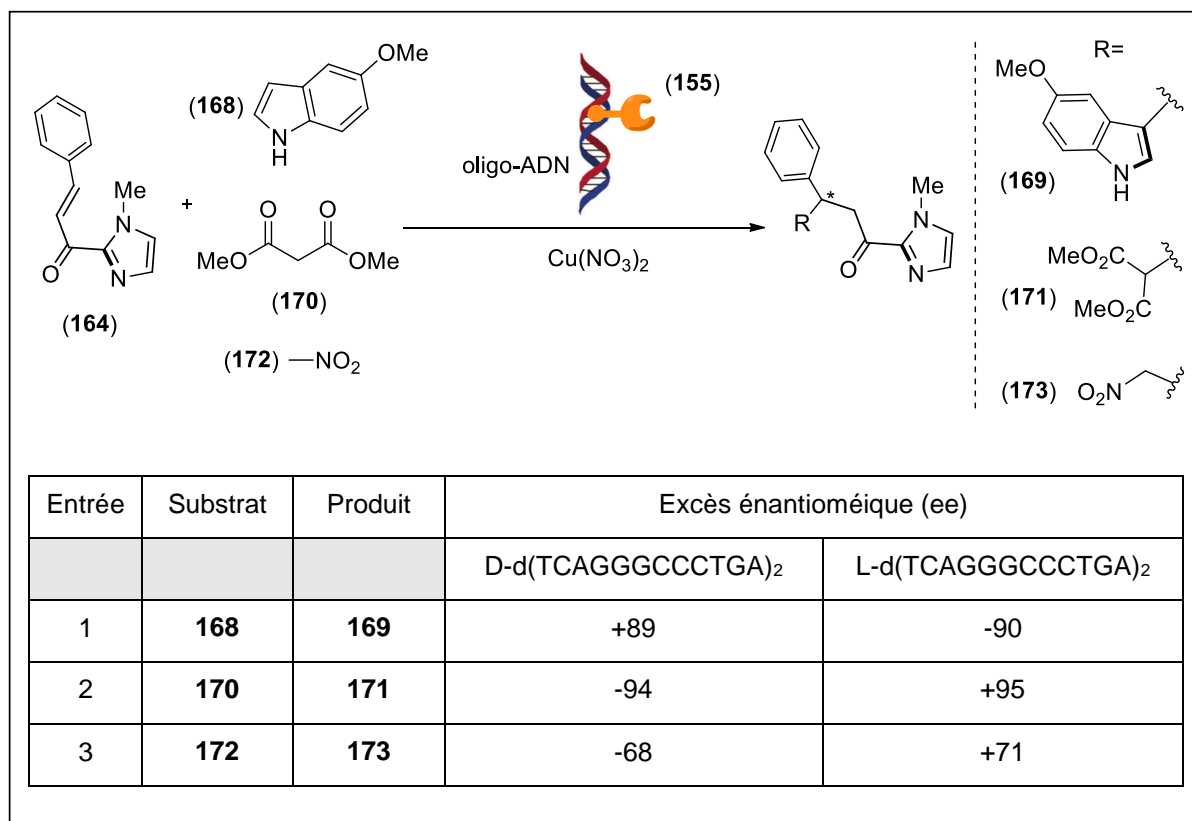


Tableau 4 : Preuve de concept de l'utilisation du L-ADN (oligomère contrôlé) en catalyse.

6.1.3. Aspects biomimétiques et intérêts de l'approche dans la série aplysinopsine.

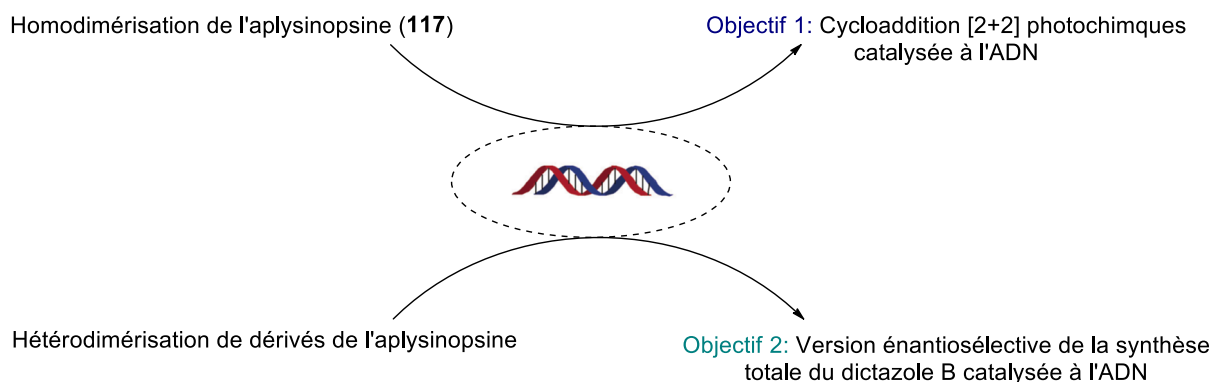
En tant que biomolécule chirale ayant montrée un pouvoir de transfert de chiralité y compris pour la rupture de symétrie et l'amplification chirale, l'ADN devient dès lors une pièce du puzzle des origines du vivant comme le soulève le Dr Stellios Arseniyadis en conclusion de son étude. Il présente donc un attrait particulier pour réaliser des investigations biomimétiques ou, *a minima*, pour servir d'outils dans des problématiques connotées biologiquement.

L'idée était alors de mettre à profit ce type de catalyse dans le contexte de notre étude de la famille des aplysinopsines. Rappelons que les aplysinopsines et leurs congénères dimériques sont des alcaloïdes d'origine marine. Ainsi, le milieu aqueux de la catalyse biohybride à l'ADN s'impose par une pertinence presque écologique. La possibilité d'utiliser des co-solvants très polaires miscibles à l'eau tels que le DMF était également très intéressante. En effet, la solubilité des aplysinopsines dans ce solvant est connue et ce paramètre peut vite devenir un casse-tête avec la plupart des autres systèmes catalytiques.

D'un point de vue structural, on pourrait imaginer que ces métabolites spécialisés présentent des interactions privilégiées avec l'ADN en raison de leur relative planéité, de la charge de la guanidine et du noyau indolique qui les composent. **Alors, le système ternaire**

Evaluation of Hoechst 33258 Derivatives for the Development of Sequence-Specific DNA-Based Asymmetric Catalysts; ACS Catal. **2016**, 6, 3096-3105.

ADN-métal-ligand serait peut-être relégué au second plan au profit des substrats eux-mêmes. L'objectif de ces travaux serait de montrer que la dimérisation de dérivés de l'aplysinopsine (**117**) est possible en milieux aqueux (ce qui n'est pas le cas jusqu'ici) grâce à l'ADN avec toutes les questions que cela soulève. Dans un premier temps, la faisabilité de la dimérisation par confinement dans le micro-environnement de l'ADN serait un résultat satisfaisant. Puis, dans un second temps, un système efficace permettrait de réaliser la synthèse énantiosélective du dictazole B (**138**) (et, par la même, de déterminer par dichroïsme circulaire la structure absolue du composé naturel).



Enfin, en termes de développement chimique, le succès de notre approche conduirait à étendre les applications de la catalyse à l'ADN vers une réactivité inédite de cycloaddition [2+2] photochimique.

6.2. Résultats et discussions.

6.2.1. Adaptation du système à l'aplysinopsine.

La poursuite des différents objectifs fondamentaux cités ci-avant a nécessité une adaptation expérimentale importante du système classique de catalyse à l'ADN par approche non covalente (section 6.1.). Plusieurs substances de la famille des aplysinopsines ont été obtenues par synthèse biomimétique dans le cadre de mon doctorat. La connaissance de cette série chimique, acquise au cours de ces travaux, était un atout indéniable et imposa certains ajustements.

En effet, la solubilité de ces alcaloïdes marins, très polaires, est par nature un obstacle lorsque ceux-ci doivent être manipulés. Dès lors, la présence d'un co-solvant comme le DMF ou le DMSO s'imposait. Pour être précis, la solubilisation des monomères utilisés (comme l'aplysinopsine **117**) est un défi. La proportion de co-solvant tolérée par le système catalytique de l'ADN en milieu tamponné se limite à un tiers du volume. Or, les aplysinopsines ne peuvent être solubilisées que dans du DMF ou du DMSO pur (aux concentrations requises). Ainsi, après avoir dissous le substrat dans du DMF par sonication, la solution tampon de MOPS à 20 mM est ajoutée lentement, ce qui garantit l'obtention d'une solution homogène de **117**.

Par ailleurs, les réactions ayant initialement permis la synthèse totale du dictazole B (**138**) et l'obtention de cyclobutanes similaires tels que **140** étaient conduites à l'air libre par

l'irradiation de solutions durant quelques heures. La transposition de ces expériences impose de revoir le dispositif pour plusieurs raisons. Tout d'abord, en présence d'ADN, une agitation douce du système est nécessaire en raison de la viscosité du milieu réactionnel et pour maintenir l'homogénéité du mélange. De plus, les temps réactionnels attendus peuvent être importants alors que la constance des concentrations relatives substrat-ADN-additif (l'additif pouvant être un ligand ou un réactif partenaire dont le rôle est investigué) est primordiale. Ainsi, le dispositif doit garantir un volume constant. Le contenant en question se doit aussi de laisser passer les UV, vecteurs indispensables de la réactivité photochimique désirée. L'utilisation de tubes en quartz (réalisés sur mesure par le verrier de la faculté) bouchés par des sceptums a permis de dépasser cette contrainte. On peut ajouter que la petite échelle des expérimentations a permis, *via* ces tubes en quartz et un montage adéquat, de conduire de nombreuses (jusqu'à 20) expériences de front. Ce dernier point est un avantage puisque des triplicats et des témoins ont donc pu être réalisés tout au long de l'étude afin d'écartier les doutes de faux positifs ou faux négatifs.

Enfin, la petite échelle des manipulations (0,2 à 0,4 mg) impose comme évoquée ci-avant un traitement analytique (par HPLC-UV-MS dans notre cas) des expérimentations. C'est l'ajout d'un témoin interne qui a permis d'obtenir des données quantitatives après la réalisation d'une gamme d'étalonnage de ce dernier.

6.2.2. Résultats expérimentaux.

L'idée qui motive cette étude sort du contexte méthodologique classique de la catalyse à l'ADN décrit précédemment. Néanmoins, le succès du projet se dessina rapidement avec la formation du dimère désiré **140** à partir de l'aplysinsine (**117**) dans les conditions décrites dans le Schéma 39 qui constitueront la base des expériences ultérieures. Alors, les essais suivants visèrent à établir l'utilité éventuelle de l'ADN ainsi que celle du couple ligand-cuivre dans la réaction observée. En l'absence d'ADN, la photocycloaddition ne se fait pas. Selon les cas, le monomère de départ peut être récupéré inchangé (ou simplement isomérisé) ou dégradé en formyl-indole (**174**) (Tableau 5, entrées 2 et 4). On note que la présence de dérivés du cuivre conduit systématiquement à la dégradation du monomère de départ **117** en formyl-indole (**174**) en l'absence de st-ADN. Cela montre que c'est bien l'ADN qui permet la dimérisation par [2+2] photochimique dans ces conditions (entrées 1 et 2). D'autre part, le système usuel qui associe le nitrate de cuivre à la dmbipy (**155**) améliore la réactivité mais n'est pas indispensable (entrée 5).

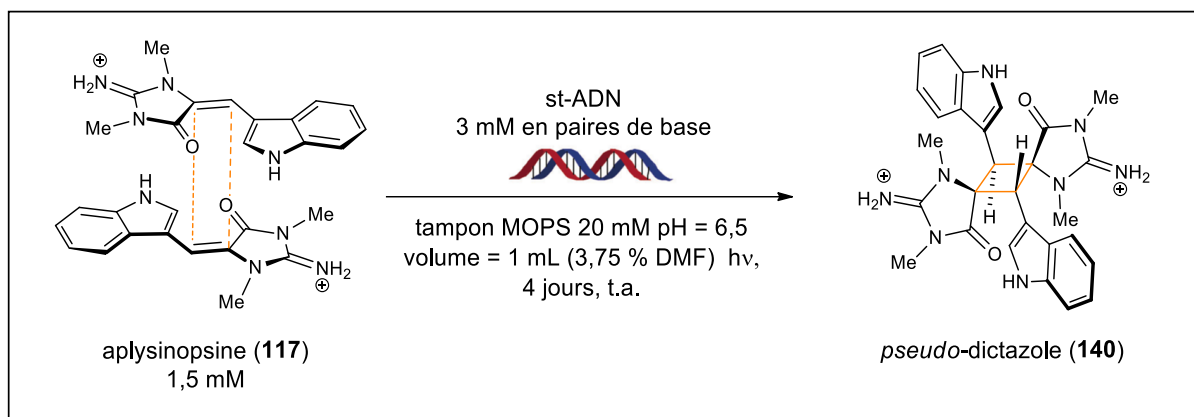


Schéma 39 : Photocycloaddition [2+2] de l'aplysinsine en présence d'ADN.

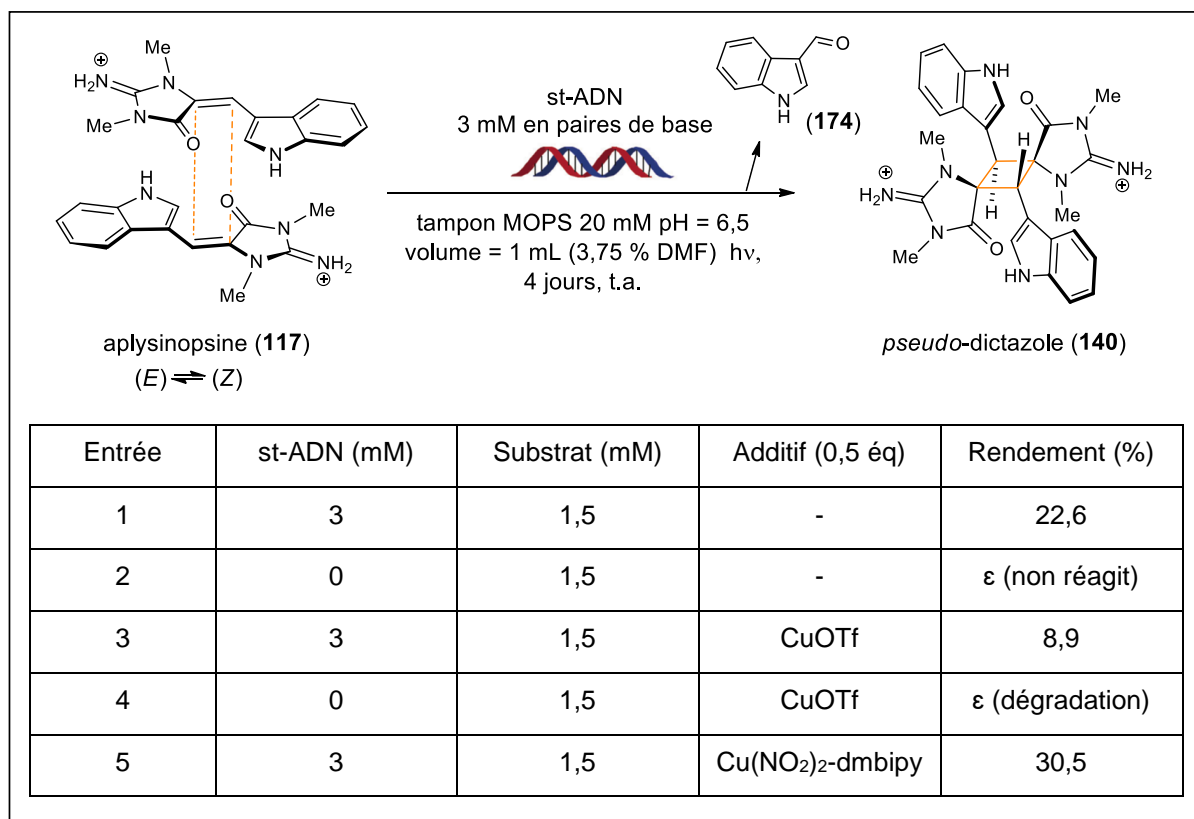


Tableau 5 : Témoins négatifs et dérivés du cuivre dans ce nouveau système réactionnel.

La concentration en monomère initiale a été établie comme étant optimale à 1,5 mM puisque le rendement de dimère obtenu décroît lorsque celle-ci augmente à 3 mM puis 4,5 mM (Tableau 6).

Entrée	st-ADN (mM)	Substrat (mM)	Additif (0,5 éq)	Rendement (%)
1	3	1,5	-	22,6
2	3	3	-	16,7
3	3	4,5	-	3,5

Tableau 6 : Variation de la concentration en monomère de départ.

On note que la viscosité augmente considérablement avec la concentration en monomère **117**, ce qui peut expliquer en partie la baisse de réactivité du système. De plus, la couleur jaune intense de l'aplysinsine (**117**) rend le milieu moins transparent à certaines concentrations.

L'influence du co-solvant a été évaluée. Seuls le DMF et le DMSO sont pertinents dans notre cas en raison des propriétés de solubilité de cette série chimique (comme évoqué plus tôt). Alors que le DMSO semble significativement améliorer la formation du dimère **140**, la présence d'une part croissante de DMF conduit au contraire à des rendements plus faibles (Tableau 7).

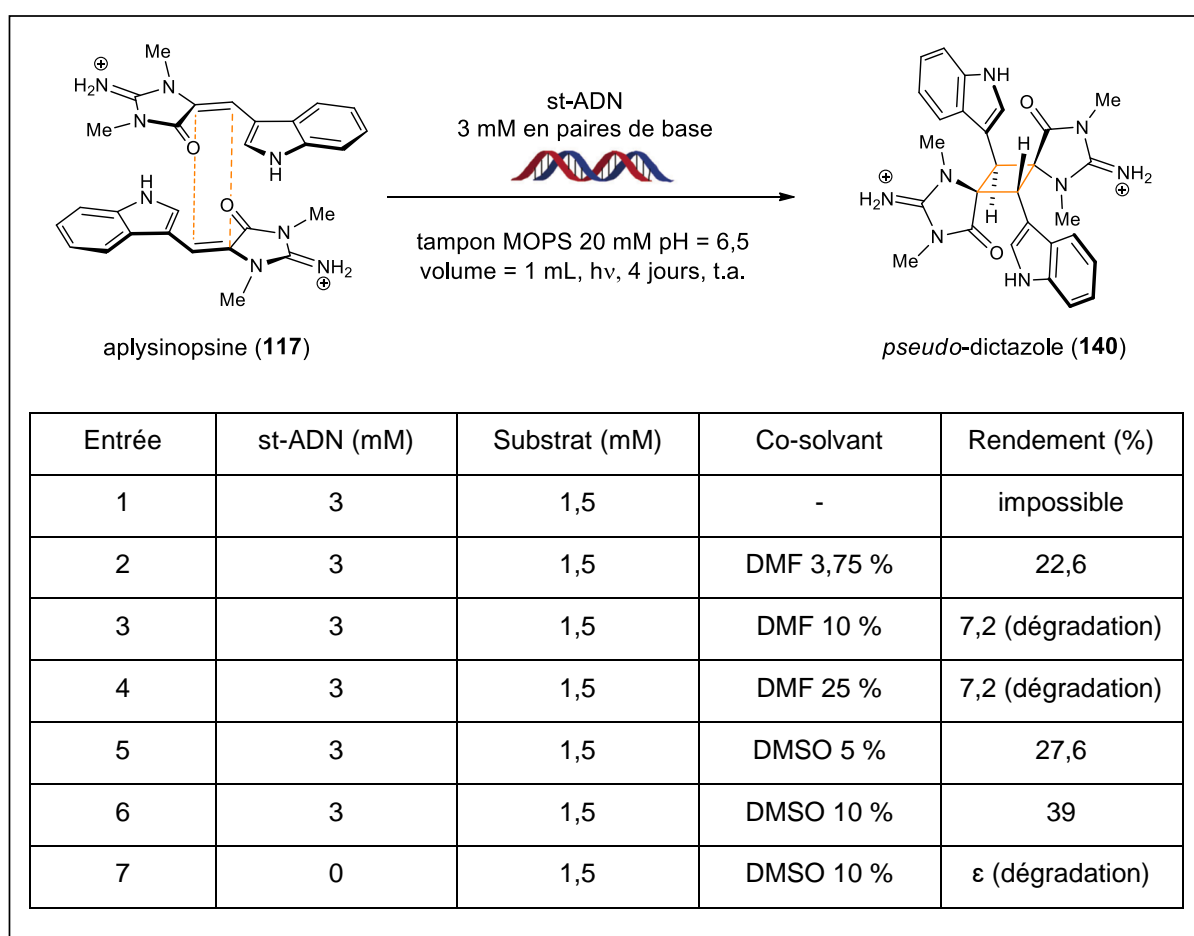


Tableau 7 : Influence du co-solvant.

En raison des résultats observés avec le CuOTf et le BiOTf₃ durant l'étude initiale de synthèse du dictazole B (**138**) (section 2.2.), une sélection d'acides de Lewis et de lanthanides compatibles avec des conditions aqueuses a été évaluée (Tableau 8).⁶⁴ Le CuOTf, le Cu(OTf)₂ et le Sc(OTf)₃ conduisent à une baisse du rendement. Le Bi(OTf)₃ n'affecte pas la réactivité du système. En revanche, l'Y(OTf)₃ et le La(OTf)₃ mènent à des rendements bien supérieurs

⁶⁴ S. Kobayashi, T. Busujima and S. Nagayama; *A Novel Classification of Lewis Acids on the Basis of Activity and Selectivity*; *Chem. Eur. J.* **2000**, 6, 3491-3494.

qui, soit dit en passant, sont bien au-delà de ceux obtenus au cours de l'étude initiale (sans ADN et par exposition direct à l'air libre de **117** dans une solution de DMF, chapitre 2).

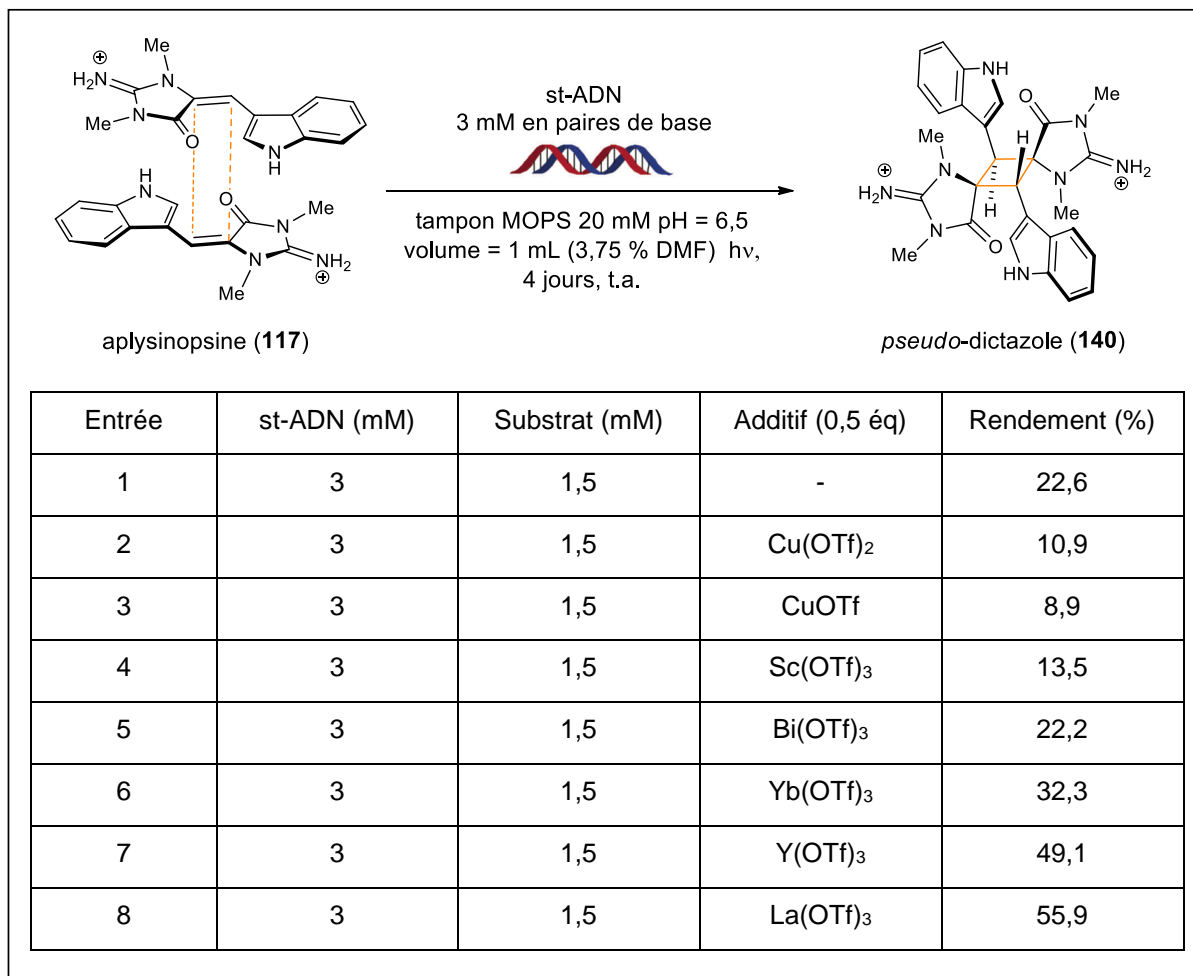


Tableau 8 : Apport des acides de Lewis et des lanthanides.

Entrée	st-ADN (mM)	Substrat (mM)	Diphosphate disodique (mM)	Rendement (%)
1	3	1,5	-	22,6
2	3	1,5	3	18,4
3	0	1,5	3	ε (dégradation)
4	3	1,5	12	16
5	0	1,5	12	ε (dégradation)

Tableau 9 : Compétition en présence de diphosphate.

Enfin, alors que la nature des interactions entre le monomère étudié **117** et l'ADN n'est pas connue, plusieurs explications sont possibles. On peut penser à une catalyse par confinement reposant sur différentes interactions telles que l'intercalation, des interactions π

avec les bases de l'ADN ou la formation de *pseudo*-paires d'ions avec la chaîne phosphate de la double hélice. Pour tester cette dernière hypothèse, des concentrations croissantes de diphosphates ont été ajoutés dans une logique de compétition avec les phosphates de l'ADN (en préparant des solutions sans MOPS) (Tableau 9). Cela conduit bien à une diminution des rendements même si l'influence du diphosphate en solution reste limitée. En effet, le monomère semble avoir un tropisme pour l'ADN malgré les fortes concentrations de diphosphate disodique appliquées. Cela montre que si celui-ci interagit avec les phosphates de l'ADN, la sélectivité de cette affinité est due à des caractéristiques spécifiques au squelette de l'ADN.

6.3. Perspectives.

6.3.1. Résultats complémentaires attendus.

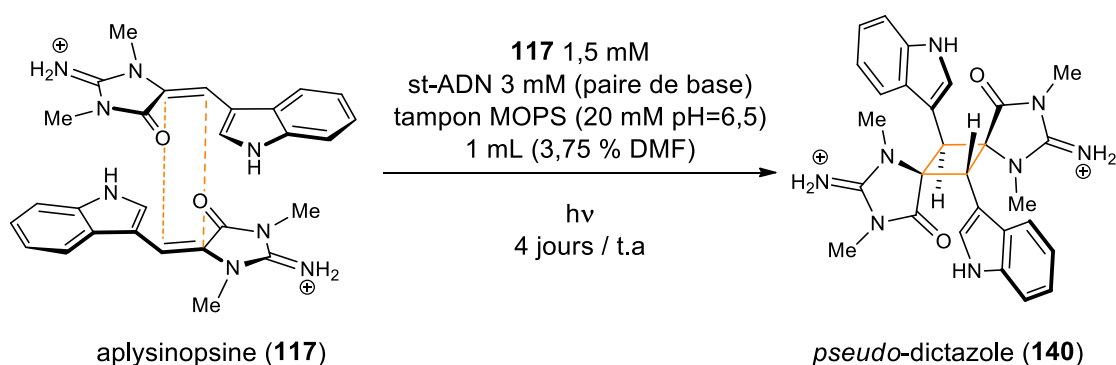
La preuve de concept est apportée par ces travaux qui viennent enrichir l'étude globale de réactivité des aplysinopsines. Ces résultats sont très encourageants et devront être étoffés par l'analyse d'autres paramètres tels que la force ionique ou la nature de l'interaction avec l'ADN afin de renforcer les données. Cela permettra de préciser le rôle joué par l'ADN dans cette nouvelle transformation tout en s'assurant de son importance (en vérifiant scrupuleusement les autres paramètres qui pourraient expliquer la dimérisation de **117**).

6.3.2. Extension des travaux vers de nouvelles directions.

Fort de ces résultats, nous cherchons désormais à exploiter la chiralité induite par l'ADN dans le but de réaliser une version asymétrique de notre synthèse du dictazole B (**138**). De plus, cela permettra d'établir la stéréochimie absolue de ce dernier par comparaison avec les données de dichroïsme circulaire fournies par les auteurs lors de son isolement. Par ailleurs, l'intégration de cette thématique aux projets du laboratoire en collaboration avec le Dr Stellios Arseniyadis est en cours. Ceci afin de consolider le développement de cette réactivité, de l'étendre à d'autres substrats et faire émerger d'autres concepts en chimie extractive et synthèse en mélange notamment.

6.4. Partie expérimentale.

■ Conditions classiques de dimérisation de l'aplysinopsine (**117**) en présence d'ADN.



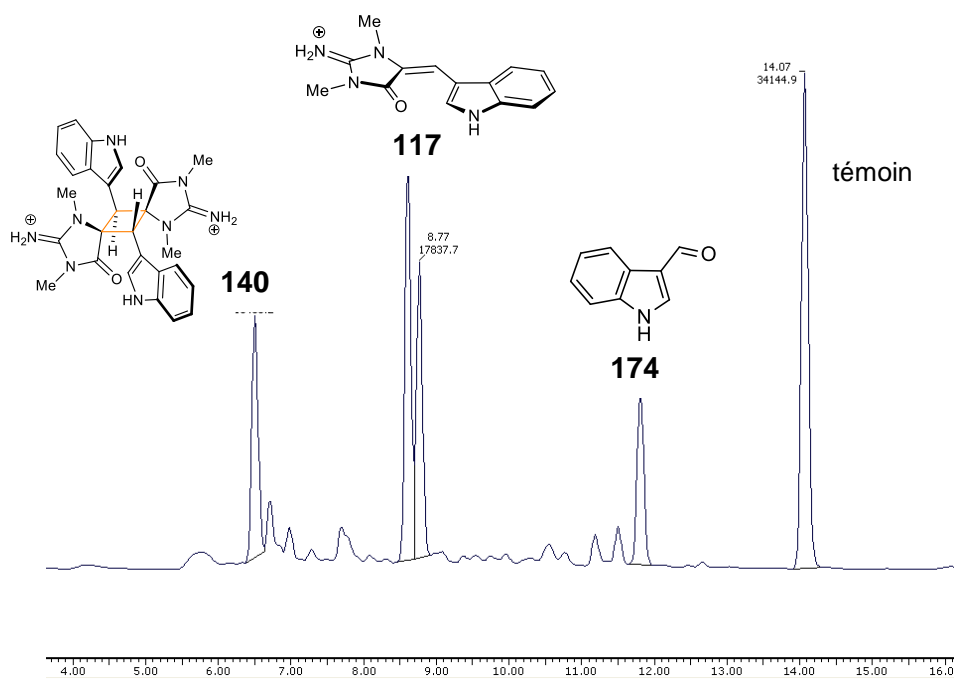
Préparation d'une solution à 3 mM de 117 : Après avoir pré-solubilisé **117** (11,5 mg) dans un minimum de DMF (750 μ L), l'addition lente du tampon MOPS (9,25 mL pour atteindre 10 mL de solution) donne la solution usuelle de **117** à 3 mM (dans le MOPS et 7,5 % de DMF).

Solution de témoin interne (parabenzotate d'éthyle) : 2,5 mg/mL (habituellement : 20 mg pour 8 mL).

Lancement d'expérience : Dans un tube en quartz, 0,5 mL d'une solution à 6 mM (3,9 mg/mL) (en paire de base) de st-ADN dans du tampon MOPS (avec 50 μ L de solution de témoin interne : 0,75 μ mole) est lentement ajoutée à 0,5 mL de la solution à 3 mM de **117**. Ensuite, après une légère agitation, le tube en quartz est scellé par un sceptum puis placé sur un dispositif rotatif lent (12 rotations par minute) lui-même placé en face d'une lampe émettant une lumière enrichie en UVB (chapitre 2).

Traitement final : L'évaporation du milieu réactionnel permet de resolubiliser exclusivement les substrats et produits de la réaction par de l'isopropanol (2 mL). Insoluble dans les alcools simples, l'ADN est ainsi éliminé après sonication (10 min). Enfin, Après centrifugation, le mélange réactionnel dépourvu d'ADN est directement analysé par HPLC-UV-MS.

Profil HPLC de l'expérience classique en présence de témoin interne :



7. Conclusion

La synthèse biomimétique a servi ici de prétexte à l'étude de la famille des aplysinopsines. En effet, la stratégie d'auto-construction par dimérisation adoptée au cours de ces travaux a permis d'obtenir plusieurs alcaloïdes complexes de la famille. D'abord, le dictazole B (**138**) a été synthétisé en une étape à partir de monomères naturels dérivés de

l'aplysinopsine (**117**) via une réaction de [2+2] photochimique. Ensuite, c'est le réarrangement intramoléculaire du cyclobutane de type dictazole **140** qui a conduit au tubastrindole B (**130**) et ouvert la voie vers le dernier squelette chimique de la famille. Ces dimères singuliers appartiennent par ailleurs à un groupe de métabolites spécialisés fascinants. Dans cet ensemble conceptuel, la complexité et la diversité des structures émergent par assemblage de précurseurs simples avec un haut degré de spontanéité. On peut citer ici des exemples présentés en introduction du chapitre 2 tels que la dibéfurine (**95**), la kingianine A (**97**) ou la ramonanine A (**108**) (Figure 28).

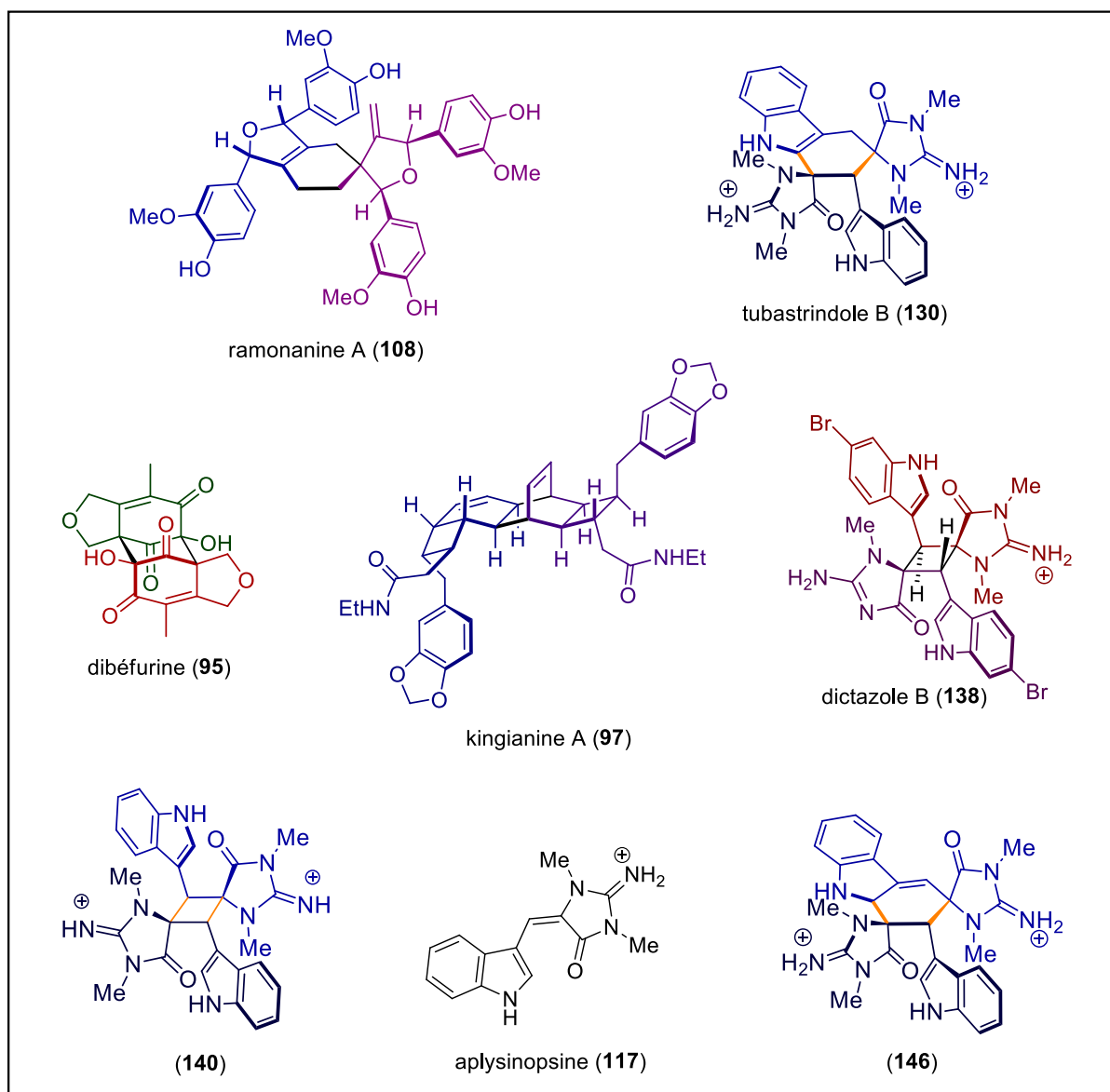


Figure 28 : Structures de dimères singuliers et de composés "presque naturels" des aplysinopsines.

De plus, l'obtention d'une petite collection de composés "presque naturels" et d'un intermédiaire biogénétique présumé (**146**) ont permis de développer une hypothèse de biogenèse se fondant sur la spontanéité et les réactivités chimiques observées au cours de l'étude. Les liens synthétiques et biosynthétiques forts qui semblent unir les congénères de cette famille d'alcaloïdes marins ont ainsi été analysés et mis en perspective par comparaison aux alcaloïdes de type pyrrole imidazole.

Enfin, la connaissance de cette série chimique a permis d'explorer de nouvelles approches. La catalyse à l'ADN s'est alors imposée comme une orientation originale, pertinente et ambitieuse pour la poursuite des travaux. L'application de l'approche à une réaction de [2+2] photocimique est un succès qui constitue une avancée dans le domaine de la catalyse à l'ADN. Et bien que les contraintes soient importantes, la perspective de réaliser une version asymétrique bio-inspirée (ou en tout cas bio-compatible) de notre synthèse du dictazole B (**138**) est motivante. Cela permettrait d'établir sa stéréochimie absolue qui reste indéterminée à ce jour.

Références du chapitre 2 :

- (30) a) T. Wezeman, K.-S. Masters and S. Bräse; *Double Trouble-The Art of Synthesis of Chiral Dimeric Natural Products*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 4524-4526. b) A. S. Paul, S. Christian, C. M. Jonathan, S. B. Andrew, S. Pallavi and E. M. John; *Biomimetic Approaches Towards The Synthesis of Complex Dimeric Natural Products*; *Curr. Pharm. Des.* **2016**, *22*.
- (31) a) A. Leverrier, M. E. T. H. Dau, P. Retailleau, K. Awang, F. Guéritte and M. Litaudon; *Kingianin A: A New Natural Pentacyclic Compound from Endiandra kingiana*; *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3638-3641. b) A. Leverrier, K. Awang, F. Guéritte and M. Litaudon; *Pentacyclic polyketides from Endiandra kingiana as inhibitors of the Bcl-xL/Bak interaction*; *Phytochemistry* **2011**, *72*, 1443-1452.
- (32) S. L. Drew, A. L. Lawrence and M. S. Sherburn; *Total Synthesis of Kingianins A, D, and F*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 4221-4224.
- (33) K. J. Chavez, X. Feng, J. A. Flanders, E. Rodriguez and F. C. Schroeder; *Spirocyclic Lignans from Guaiacum (Zygophyllaceae) Induce Apoptosis in Human Breast Cancer Cell Lines*; *J. Nat. Prod.* **2011**, *74*, 1293-1297.
- (34) M. K. Nobles; *A rapid test for extracellular oxydase in cultures of wood-inhabiting Hymenomyces*; *Can. J. Bot.* **1958**, *36*, 91-99.
- (35) J. F. Kratochvil, R. H. Burris, M. K. Seikel and J. M. Harkin; *Isolation and characterization of α -guaiaconic acid and the nature of guaiacum blue*; *Phytochemistry* **1971**, *10*, 2529-2531.
- (36) a) Première description de l'aplysinopsine (**117**) : R. Kazlauskas, P. T. Murphy, R. J. Quinn and R. J. Wells *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 61-64. b) Description des cycloaplysinopsines A (**121**) et B (**122**) : I. Mancini, G. Guella, H. Zibrowius, F. Pietra, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8757-8762. c) Description de la cycloaplysinopsine C (**123**) : M. Meyer, F. Delberghe, F. Liron, M. Guillaume, A. Valentin, M. Guyot, *Nat. Prod. Res.* **2009**, *23*, 178-182. d) Description des tubastrindoles A-C (**129-131**) : T. Isagawa, M. Miyazaki, H. Okamura, M. Nakatani, M. Doe, K. Takemura, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2533-2535. e) Description des tubastrindoles D-H (**132-136**) : T. Isagawa, M. Miyazaki, Y. Yokogawa, H. Okamura, M. Nakatani, M. Doe, Y. Morimoto, K. Takemura, *Heterocycles* **2008**, *75*, 2023-2028. f) Pour le tubastrindole B (**130**), voir aussi: W. Balansa, R. Islam, D. F. Gilbert, F. Fontaine, X. Xiao, H. Zhang, A. M. Piggott, J. W. Lynch, R. J. Capon, *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 4420-4425. g) Description des dictazolines A (**124**) and B (**125**) : J. Dai, J. I. Jiménez, M. Kelly, S. Barnes, P. Lorenzo, P. G. Williams, *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 1287-1290. h) Description des dictazolines

C-E (126-128) ainsi que les dictazoles A (137) et B (138) : J. Dai, J. I. Jiménez, M. Kelly, P. G. Williams, *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 2399–2402.

(37) G. Ciamician; *THE PHOTOCHEMISTRY OF THE FUTURE*; *Science* **1912**, 36, 385-394.

(38) T. Bach and J. P. Hehn; *Photochemical Reactions as Key Steps in Natural Product Synthesis*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 1000-1045.

(39) S. A. Snyder; *Organic chemistry: Symmetrizing the unsymmetrical*; *Nature* **2010**, 465, 560-561.

(40) A. Skiredj, M. A. Beniddir, D. Joseph, K. Leblanc, G. Bernadat, L. Evanno and E. Poupon; *Spontaneous Biomimetic Formation of (±)-Dictazole B under Irradiation with Artificial Sunlight*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 6419-6424.

(41) a) P. S. Baran, D. P. O'Malley and A. L. Zografos; *Sceptrin as a Potential Biosynthetic Precursor to Complex Pyrrole–Imidazole Alkaloids: The Total Synthesis of Ageliferin*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 2674-2677. b) B. H. Northrop, D. P. O'Malley, A. L. Zografos, P. S. Baran and K. N. Houk; *Mechanism of the Vinylcyclobutane Rearrangement of Sceptrin to Ageliferin and Nagelamide E*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 4126-4130.

(42) a) A. Al Mourabit and P. Potier; *Sponge's Molecular Diversity Through the Ambivalent Reactivity of 2-Aminoimidazole: A Universal Chemical Pathway to the Oroidin-Based Pyrrole-Imidazole Alkaloids and Their Palau'amine Congeners*; *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 2001, 237-243. b) A. Al-Mourabit, M. A. Zancanella, S. Tilvi and D. Romo; *Biosynthesis, asymmetric synthesis, and pharmacology, including cellular targets, of the pyrrole-2-aminoimidazole marine alkaloids*; *Nat. Prod. Rep.* **2011**, 28, 1229-1260.

(43) J. D. Watson and F. H. C. Crick ; *Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid* ; *Nature* **1953**, 171, 737-738.

(44) Figure adaptée du site internet : <http://www.atdbio.com/>, une entreprise fondée par les Prof. Tom Brown ainsi que les Dr. Dorcas Brown, Dr. Tom Brown Jr. Et Dr. Asha Brown.

(45) S.-T. D. Hsu, P. Varnai, A. Bugaut, A. P. Reszka, S. Neidle and S. Balasubramanian ; *A G-Rich Sequence within the c-kit Oncogene Promoter Forms a Parallel G-Quadruplex Having Asymmetric G-Tetrad Dynamics*; *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 13399-13409.

(46) R. E. Gawley and J. Aubé (Eds.); *Principles of Asymmetric Synthesis* (2nd Ed.); Elsevier; 2012.

(47) D. W. C. MacMillan; *The advent and development of organocatalysis*; *Nature* **2008**, 455, 304-308.

(48) a) A. J. J. Straathof, S. Panke and A. Schmid; *The production of fine chemicals by biotransformations*; *Curr. Opin. Biotech.* **2002**, 13, 548-556. b) K. Faber; *Biotransformations in Organic Chemistry: A Textbook* (6th Ed.); Springer ; 2011.

(49) a) G. Sun, J. Fan, Z. Wang and Y. Li; *A Novel DNA-Catalyzed Aldol Reaction*; *Synlett* **2008**, 2008, 2491-2494. b) J. Fan, G. Sun, C. Wan, Z. Wang and Y. Li; *Investigation of DNA as a catalyst for Henry reaction in water*; *Chem. Commun.* **2008**, 3792-3794. c) M. De Rosa,

S. Di Marino, A. M. D'Ursi, M. Strianese and A. Soriente; *Genomic salmon testes DNA as a catalyst for Michael reactions in water*; *Tetrahedron* **2012**, *68*, 3086-3091.

(50) a) A. J. Boersma, R. P. Megens, B. L. Feringa and G. Roelfes; *DNA-based asymmetric catalysis*; *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 2083-2092. b) A. Rioz-Martínez and G. Roelfes; *DNA-based hybrid catalysis*; *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2015**, *25*, 80-87.

(51) Figure adaptée de la référence 50a : A. J. Boersma, R. P. Megens, B. L. Feringa and G. Roelfes; *DNA-based asymmetric catalysis*; *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 2083-2092.

(52) L. Strekowski and B. Wilson; *Noncovalent interactions with DNA: An overview*; *Mutat. Res.* **2007**, *623*, 3-13.

(53) G. Roelfes and B. L. Feringa; *DNA-Based Asymmetric Catalysis*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3230-3232.

(54) G. Roelfes, A. J. Boersma and B. L. Feringa; *Highly enantioselective DNA-based catalysis*; *Chem. Commun.* **2006**, 635-637.

(55) a) A. J. Boersma, J. E. Klijn, B. L. Feringa and G. Roelfes; *DNA-Based Asymmetric Catalysis: Sequence-Dependent Rate Acceleration and Enantioselectivity*; *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11783-11790. b) F. Rosati, A. J. Boersma, J. E. Klijn, A. Meetsma, B. L. Feringa and G. Roelfes; *A Kinetic and Structural Investigation of DNA-Based Asymmetric Catalysis Using First-Generation Ligands*; *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9596-9605.

(56) R. P. Megens and G. Roelfes; *Organic co-solvents in aqueous DNA-based asymmetric catalysis*; *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 1387-1393.

(57) a) S. Roe, D. J. Ritson, T. Garner, M. Searle and J. E. Moses; *Tuneable DNA-based asymmetric catalysis using a G-quadruplex supramolecular assembly*; *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 4309-4311. b) C. Wang, G. Jia, J. Zhou, Y. Li, Y. Liu, S. Lu and C. Li; *Enantioselective Diels–Alder Reactions with G-Quadruplex DNA-Based Catalysts*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 9352-9355.

(58) D. A. Evans, K. R. Fandrick and H.-J. Song; *Enantioselective Friedel–Crafts Alkylations of α,β -Unsaturated 2-Acyl Imidazoles Catalyzed by Bis(oxazoliny)pyridine–Scandium(III) Triflate Complexes*; *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8942-8943.

(59) a) A. J. Boersma, B. L. Feringa and G. Roelfes; *Enantioselective Friedel–Crafts Reactions in Water Using a DNA-Based Catalyst*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3346-3348. b) S. Park, K. Ikehata, R. Watabe, Y. Hidaka, A. Rajendran and H. Sugiyama; *Deciphering DNA-based asymmetric catalysis through intramolecular Friedel–Crafts alkylations*; *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 10398-10400. c) D. Coquière, B. L. Feringa and G. Roelfes; *DNA-Based Catalytic Enantioselective Michael Reactions in Water*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 9308-9311. d) R. P. Megens and G. Roelfes; *DNA-based catalytic enantioselective intermolecular oxa-Michael addition reactions*; *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 6366-6368.

(60) a) A. J. Boersma, D. Coquière, D. Geerdink, F. Rosati, B. L. Feringa and G. Roelfes; *Catalytic enantioselective syn hydration of enones in water using a DNA-based catalyst*; *Nature Chem.* **2010**, *2*, 991-995. b) N. Shibata, H. Yasui, S. Nakamura and T. Toru; *DNA-Mediated Enantioselective Carbon-Fluorine Bond Formation*; *Synlett* **2007**, *2007*, 1153-1157.

c) E. W. Dijk, B. L. Feringa and G. Roelfes; *DNA-based hydrolytic kinetic resolution of epoxides*; *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, 19, 2374-2377.

(61) J. Wang, E. Benedetti, L. Bethge, S. Vonhoff, S. Klussmann, J.-J. Vasseur, J. Cossy, M. Smietana and S. Arseniyadis; *DNA vs. Mirror-Image DNA: A Universal Approach to Tune the Absolute Configuration in DNA-Based Asymmetric Catalysis*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 11546-11549.

(62) E. Benedetti, N. Duchemin, L. Bethge, S. Vonhoff, S. Klussmann, J.-J. Vasseur, J. Cossy, M. Smietana and S. Arseniyadis; *DNA-cellulose: an economical, fully recyclable and highly effective chiral biomaterial for asymmetric catalysis*; *Chem. Commun.* **2015**, 51, 6076-6079.

(63) K. Amirbekyan, N. Duchemin, E. Benedetti, R. Joseph, A. Colon, S. A. Markarian, L. Bethge, S. Vonhoff, S. Klussmann, J. Cossy, J.-J. Vasseur, S. Arseniyadis and M. Smietana; *Design, Synthesis, and Binding Affinity Evaluation of Hoechst 33258 Derivatives for the Development of Sequence-Specific DNA-Based Asymmetric Catalysts*; *ACS Catal.* **2016**, 6, 3096-3105.

(64) S. Kobayashi, T. Busujima and S. Nagayama; *A Novel Classification of Lewis Acids on the Basis of Activity and Selectivity*; *Chem. Eur. J.* **2000**, 6, 3491-3494.

Chapitre 3 :

Exploitation de "réseaux moléculaires"
pour l'exploration de mélanges
biomimétiques complexes.

Chapitre 3 Exploitation de "réseaux moléculaires" pour l'exploration de mélanges biomimétiques complexes.

1. Présentation de l'approche : alcaloïdes générés en mélanges complexes et réseaux moléculaires.

1.1. Sélection et biogenèse d'alcaloïdes des genres *Nitraria* et *Myrioneuron*.

Bien que les genres *Nitraria* et *Myrioneuron* ne soient pas apparentés d'un point de vue taxonomique, ceux-ci peuvent être rapprochés en raison des nombreux alcaloïdes que les espèces de plantes qu'ils comprennent produisent. En effet, la biogenèse de ces métabolites semble faire intervenir un métabolisme bien particulier de la L-lysine (**175**).⁶⁵

La voie métabolique principale considérée ici est initiée par la décarboxylation de la L-lysine (**175**) en cadavérine (**176**), une diamine symétrique en C₅. La désamination oxydative de **176** conduit au 5-aminopentanal (**177**) qui est un composé instable. Celui-ci se cyclise rapidement en tétrahydropyridine qui existe en équilibre sous une forme imine **178** et une forme énamine **179**. Ces deux précurseurs forment alors la tétrahydroanabasine (**180**) par dimérisation. Enfin, une réaction de *retro*-Michael puis une désamination oxydative conduisent au composé pivot **181** (Schéma 40).

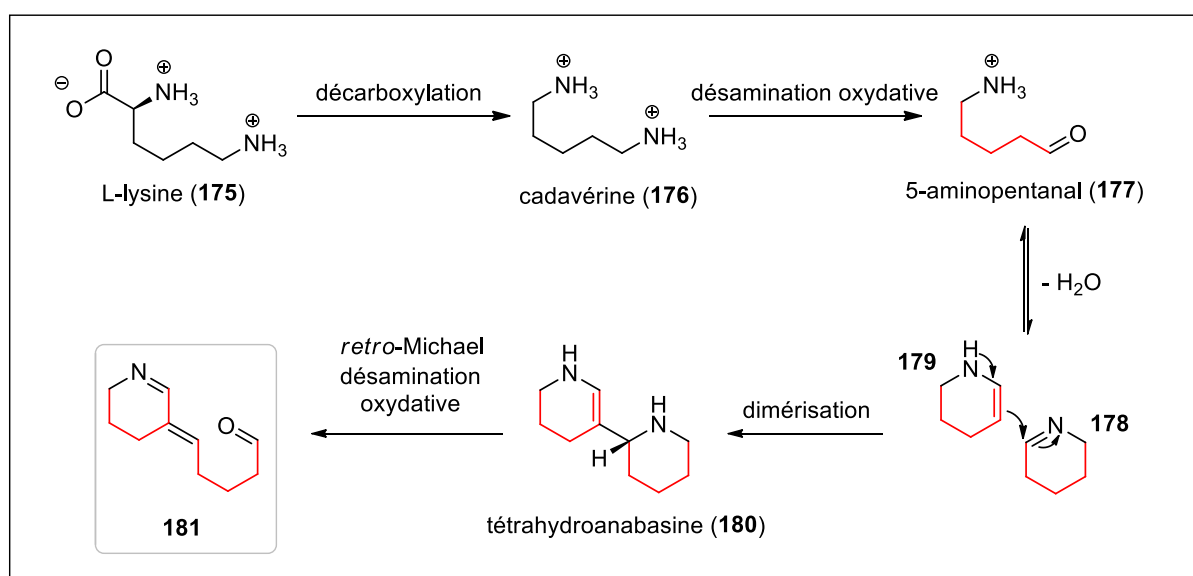


Schéma 40 : Métabolisme de la L-lysine (**175**) et unités en C₅.

À partir de ces précurseurs biosynthétiques simples, une grande variété d'alcaloïdes polycycliques est générée *in vivo* dans les parties aériennes de ces végétaux. Il n'est pas question de les inventorier ici. Leur grand nombre et l'abondance des squelettes existants n'éclaireraient pas le lecteur sur les idées développées par la suite. Ainsi, seules quelques structures emblématiques sont consignées ici afin de faire apparaître les précurseurs en C₅

⁶⁵ a) E. Gravel and E. Poupon; *Biosynthesis and biomimetic synthesis of alkaloids isolated from plants of the Nitraria and Myrioneuron genera: an unusual lysine-based metabolism*; *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 32-56. b) Chapitre 1 de: E. Poupon and B. Nay (Eds.); *Biomimetic Organic Synthesis*; Wiley-VCH; 2011.

sur ces alcaloïdes. La nitramine (**182**), la nitramine (**183**), le myrioneurinol (**184**) et le myrifabral A (**185**) illustrent idéalement la diversité des squelettes rencontrés (Figure 29).⁶⁶

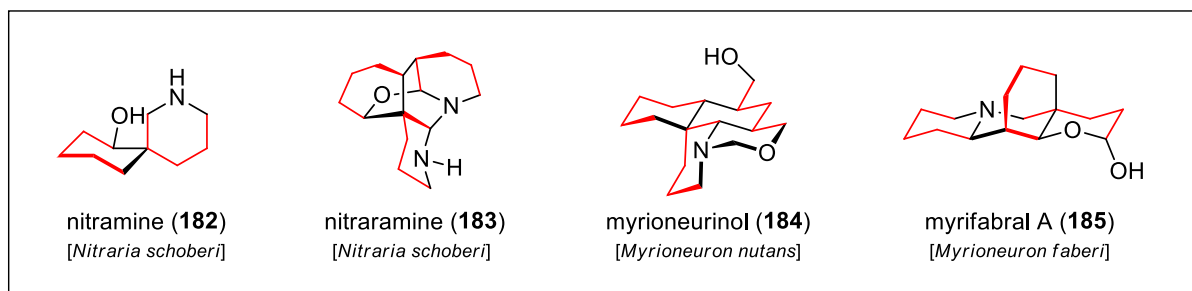


Figure 29 : Structures diverses d'alcaloïdes polycycliques isolés de *Nitraria* et *Myrioneuron*.

De plus, le nombre d'unités en C₅ incorporées dans leur structure varie. Il convient de garder à l'esprit que les fonctions aldéhydes représentées dans les schémas de cette section sont probablement masquées en milieu biologique du fait de leur forte réactivité. Ce formalisme d'écriture est néanmoins conservé dans le but de simplifier les schémas.

Les biosynthèses de ces substances naturelles s'expliquent par diverses cascades métaboliques plus ou moins complexes et bien spécifiques. Considérons la nitramine (**182**) : au départ du métabolite central en C₁₀ **181**, une réduction conduit à l'énamine **186**. Puis, la spirocyclisation de **186** mène au composé spiranique **187** sous forme imine qui, une fois réduite en amine, conduit à la nitramine (**182**) (Schéma 41).

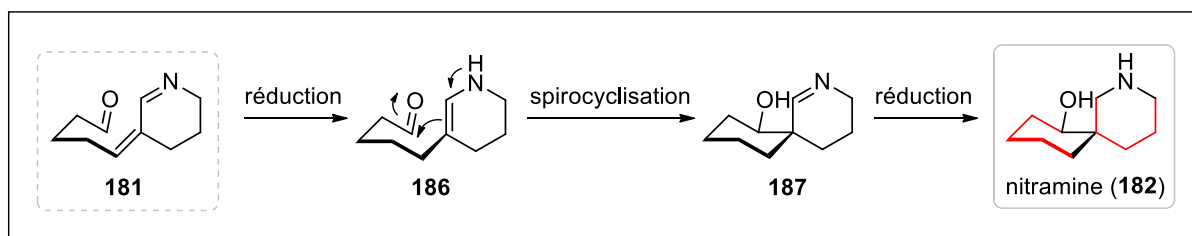


Schéma 41 : Biogenèse plausible de la nitramine (**182**).

Pour la nitramine (**183**), une unité en C₅ supplémentaire est requise. L'intégration de la tétrahydropyridine additionnelle fournit **188**. À nouveau, c'est une spirocyclisation qui suit et qui mène au composé tricyclique **189**. Enfin, une polycyclisation intramoléculaire installe un héli-aminal et un aminal achevant par la même la biosynthèse de la nitramine (**183**) (Schéma 42).

⁶⁶ a) Premier isolement de la Nitramine : Y. Novgorodva, S. K. Maekh, S. Y. Yusunov ; *Chem. Nat. Comp.*, **1973**, 9, 191–193 b) Y. Novgorodva, S. K. Maekh, S. Y. Yusunov ; *Nitramine – A new alkaloid from Nitraria schoberi* ; *Chem. Nat. Comp.* **1975**, 11, 455-456. c) B. Tashkodzhaev, A. A. Ibragimov and S. Y. Yusunov ; *The structure of the alkaloid nitramine from Nitraria schoberi* ; *Chem. Nat. Comp.* **1985**, 21, 649-655. d) V. C. Pham, A. Jossang, T. Sévenet, V. H. Nguyen and B. Bodo ; *Myrioneurinol: a novel alkaloid skeleton from Myrioneuron nutans* ; *Tetrahedron* **2007**, 63, 11244-11249. e) M.-M. Cao, Y. Zhang, X.-H. Li, Z.-G. Peng, J.-D. Jiang, Y.-C. Gu, Y.-T. Di, X.-N. Li, D.-Z. Chen, C.-F. Xia, H.-P. He, S.-L. Li and X.-J. Hao ; *Cyclohexane-Fused Octahydroquinolizine Alkaloids from Myrioneuron faberi with Activity against Hepatitis C Virus* ; *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 7945-7950.

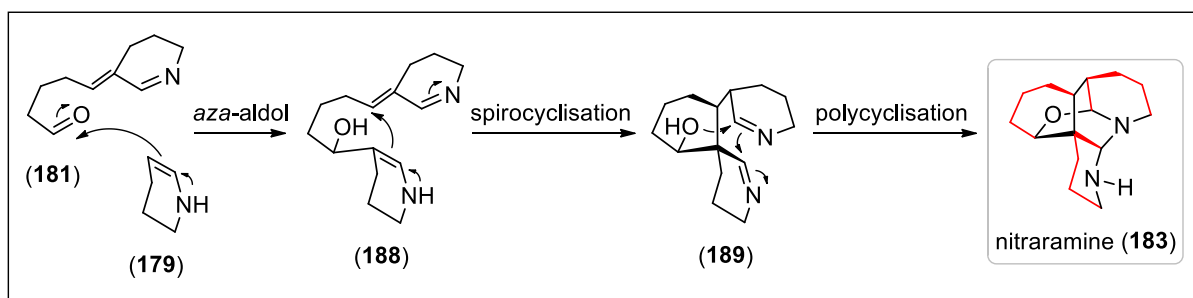


Schéma 42 : Biogénèse plausible de la nitramine (183).

En ce qui concerne le myrioneurinol (184) et le myrifabral A (185) : ils dérivent d'un châssis en C₁₀ différent qui émergerait par ouverture de l'imine de 181 en 190 et sa désamination oxydative en trialdéhyde formel 191. Alors, une unité tétrahydropyridine viendrait réagir en cascade pour former ces deux alcaloïdes (Schéma 43).

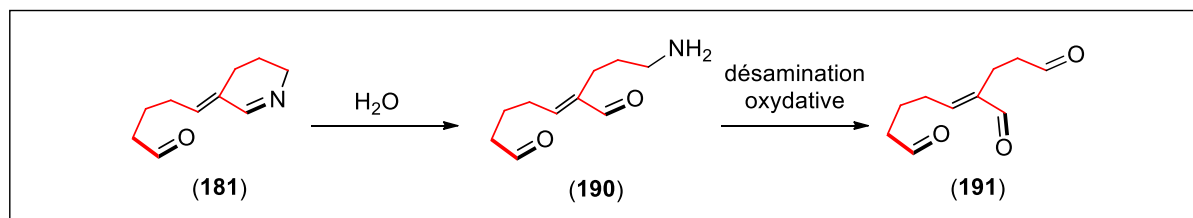


Schéma 43 : Possible conversion biogénétique de (181) sous forme ouverte polyvalente (191).

Dans le cas du myrifabral A (185), la condensation se ferait par une réaction de Mannich et la formation d'une énamine (192) sur une forme réduite de 191. Alors, la double cyclisation intramoléculaire en cascade par attaque de l'énamine et fermeture de l'hémiacétal génère l'intermédiaire 193. Enfin, la réduction de l'iminium résiduel de 193 fige la molécule de myrifabral A (185) (Schéma 44).

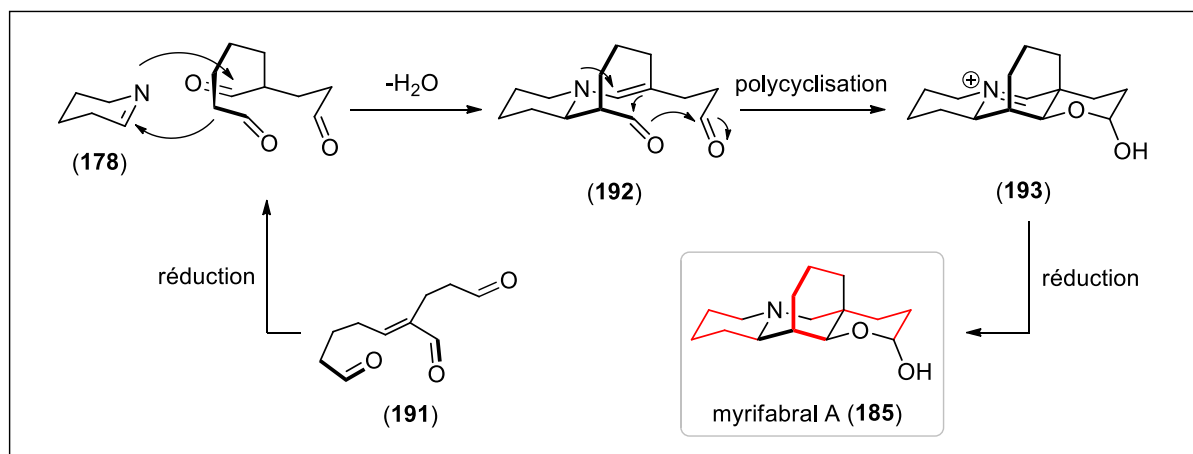


Schéma 44 : Biogénèse plausible du myrifabral A (185).

Une *aza-aldolisation-crotonisation* initie la séquence correspondante pour le myrioneurinol (184) et mène au composé 194 après réduction du motif accepteur de Michael azoté transitoirement. Encore une fois, une *spirocyclisation* permet la fermeture d'un second

cycle et donne **195**. L'iminium ainsi formé est alors piégé et conduit à l'intermédiaire avancé **196**. Plusieurs étapes de réduction et l'incorporation d'un carbone surnuméraire aboutit à l'hémi-aminal final de **184** (Schéma 45).

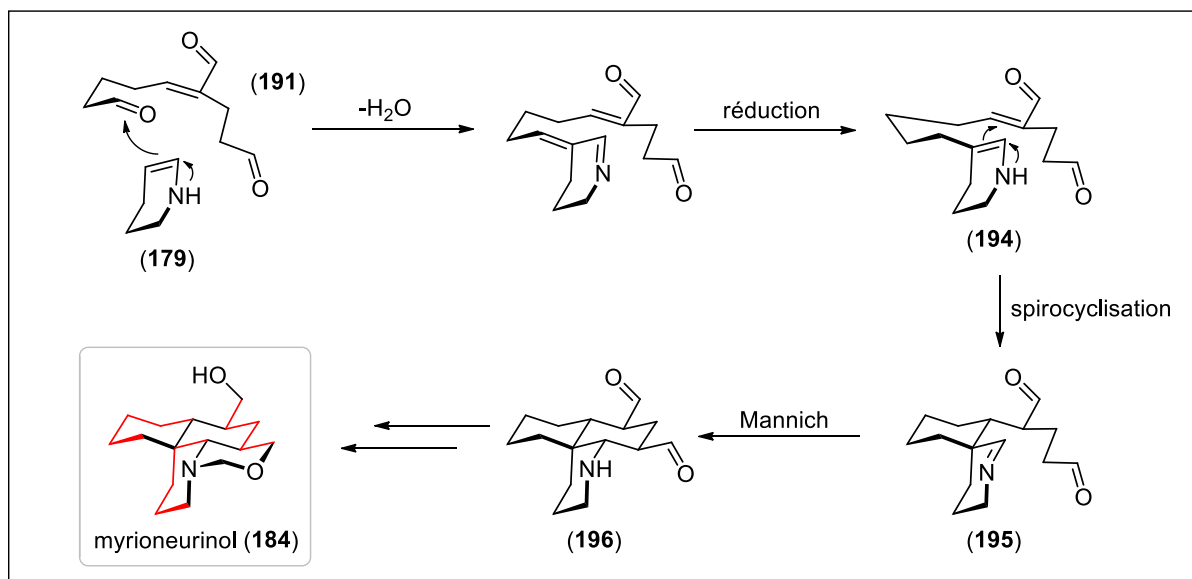


Schéma 45 : Cascade initiale de biogenèse plausible pour le myrioneurinol (**184**).

Au-delà du métabolisme de la L-lysine (**175**), d'autres alcaloïdes intègrent un indole qui provient du métabolisme du L-tryptophane (**61**) via une unité tryptamine (**197**). C'est le cas de la nitrarine (**198**) et de la tangutorine (**199**) (Figure 30).⁶⁷

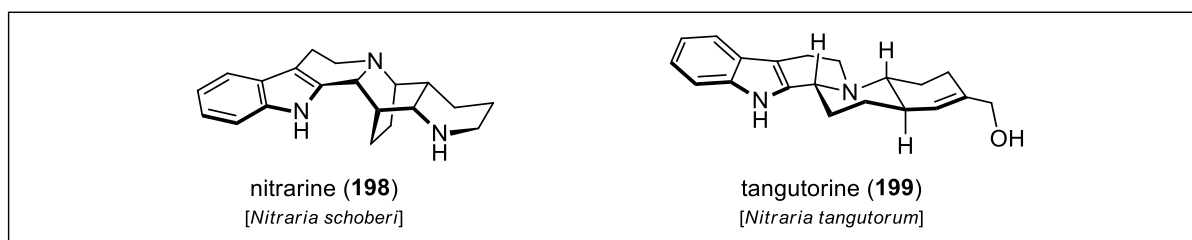


Figure 30 : Structures de la nitrarine (**198**) et de la tangutorine (**199**).

On ne revient pas ici sur la biosynthèse de ces composés qui se passe suivant des cascades réactionnelles similaires à celles présentées auparavant. "Le lecteur curieux est invité à l'exercice ludique de "rétrobiosynthèse" qui le satisfera sans doute une fois la cascade élucidée."

⁶⁷ a) N. Normatov and S. Y. Yusunov; A study of *Nitraria schoberi*. The structure of nitrarine; *Chem. Nat. Comp.* **1968**, *4*, 120-120. b) A. A. Ibragimov, S.-M. Nasirov, V. T. Adrianov, S. K. Maekh, Y. T. Struchkov and S. Y. Yusunov; The structure of nitrarine; *Chem. Nat. Comp.* **1975**, *11*, 293-294. c) S.-M. Nasirov, A. A. Ibragimov, V. T. Adrianov, S. K. Maekh, Y. T. Struchkov and S. Y. Yusunov; The structure of nitrarine; *Chem. Nat. Comp.* **1976**, *12*, 294-301. d) J.-A. Duan, I. D. Williams, C.-T. Che, R.-H. Zhou and S.-X. Zhao; Tangutorine: A novel β -carboline alkaloid from *Nitraria tangutorum*; *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2593-2596.

1.2. Une stratégie biomimétique originale : la synthèse en mélange complexe.

L'analyse des structures sous le prisme de leur origine biosynthétique est une source d'inspiration précieuse lorsqu'il est question de définir une stratégie de synthèse. Néanmoins, le succès de l'approche biomimétique correspondante dépend entièrement des précurseurs synthétiques retenus ainsi que de la pertinence des cascades réactionnelles postulées.

Les travaux de Koomen et Wanner,⁶⁸ qui ont largement étudié les alcaloïdes isolés de plantes du genre *Nitraria*, entérinent l'utilisation du glutaraldéhyde (**200**) et plus précisément de son équivalent protégé : le 5,5-diéthoxypentanal (**201**) comme source d'unités en C₅, celles-ci étant des analogues oxydés du 5-aminopentanal (**177**). De plus, notre équipe a montré que la dimérisation de **201** par aldolisation-crotonisation permet d'obtenir directement l'unité en C₁₀ **202** qui est l'équivalent protégé du trialdéhyde **191**. Initialement, les motifs tétrahydropyridines (**178-179**) étaient apportés sous forme masquée par le biais de δ -lactames protégés comme **203**. Depuis lors, une solution pratique et plus efficace a été trouvée avec la synthèse de la tétrahydropyridine et son stockage en **204** : un trimère stable cristallin lié directement par équilibre à **178** et **179** (Figure 31). Ce dernier peut être conservé et est facilement manipulable. Cela en fait un précurseur de choix pour la synthèse de ces alcaloïdes. Enfin, la tryptamine (**197**) est utilisée en synthèse comme source d'indole en accord avec le métabolisme du L-tryptophane (**61**).

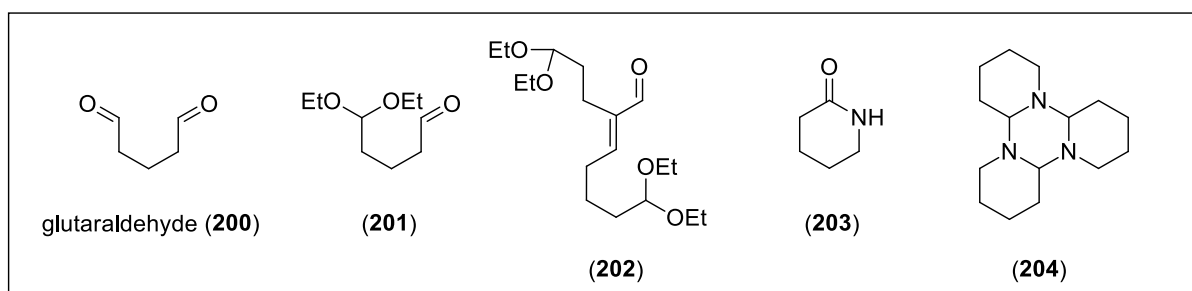


Figure 31 : Équivalents synthétiques biomimétiques en C₅ du métabolisme de la lysine.

Plusieurs synthèses biomimétiques de ces alcaloïdes polycycliques ont été réalisées à ce jour.⁶⁹ Parmi celles-ci, certaines (qui ont été réalisées au laboratoire par le Dr Edmond Gravel dans le cadre de son doctorat) reposent sur une logique originale et bien spécifique : l'auto-construction en mélange complexe.⁷⁰ Cette approche se focalise sur la réactivité de

⁶⁸ M. J. Wanner and G.-J. Koomen; *Studies in Natural Products Chemistry: Stereoselectivity in Synthesis and Biosynthesis of Lupine and Nitraria Alkaloids*; Ed. Atta-ur-Rahman; Elsevier: Amsterdam, **1994**, *14*, 731-768.

⁶⁹ a) M. J. Wanner and G.-J. Koomen; *Biomimetic synthesis of nitraria alkaloids: stereoselective spirocyclization reactions*; *Tetrahedron* **1992**, *48*, 3935-3944. b) M. J. Wanner and G.-J. Koomen; *Stereoselective Synthesis of the Indole Alkaloids Nitrarine, Nitramidine, and Isomers. A Biomimetic Approach*; *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7479-7484. c) M. J. Wanner and G.-J. Koomen; *Biomimetic Synthesis of Nitramine*; *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5634-5637.

⁷⁰ a) E. Gravel, E. Poupon and R. Hocquemiller; *Biomimetic One-Step Access to Nitramine from Simple C₅ Units. Revision of the Previously Reported Structure of Epinitramine to Nitramine*; *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2497-2499. b) R. Salame, E. Gravel, K. Leblanc and E. Poupon; *Biomimetic Synthesis of Tangutorine Following New Biogenetic Proposals*; *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1891-1894. c) E. Gravel, A. Harfouche, R. Salame, K. Leblanc, A. Maciuk and E. Poupon; *Spontaneous Formation of Nitrarine and Polycyclic Skeletons Related to Nitraria Indolic Alkaloids under Non-Enzymic Conditions*; *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 14515-14520. d) E. Gravel and E. Poupon; *Biosynthesis and biomimetic synthesis of alkaloids isolated from plants of the Nitraria and Myrioneuron genera: an unusual lysine-based metabolism*; *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 32-56. e) E. Poupon and E. Gravel; *Manipulating Simple Reactive Chemical Units: Fishing for Alkaloids from Complex Mixtures*; *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 10604-10615.

précurseurs choisis et les cascades réactionnelles qu'ils peuvent engendrer. Au plus près de la voie de biogenèse postulée, aucune contrainte n'est appliquée au système qui, par définition, évolue spontanément vers toutes les voies de synthèses possibles pour les précurseurs mis en présence. La loi qui s'exprime alors est celle du hasard contraint de Lamarck. Statistiquement, la cascade réactionnelle va se produire puisque les précurseurs ont été choisis en regard de la condensation attendue. D'ailleurs, cette séquence de réactions doit alors se faire en une seule étape formelle. Bien entendu, la sélectivité de la réaction n'est pas ici au cœur des préoccupations. Ainsi, l'enjeu n'est pas de savoir si la réaction a lieu et quel en est le rendement mais plutôt de parvenir à isoler le produit désiré dans cette "soupe métabolique". Le terme est volontairement péjoratif car si la synthèse totale semble s'être résolue de façon intrinsèque, le problème s'est en fait simplement déplacé sur le terrain de la purification et de l'isolement. Néanmoins, une réflexion plus pondérée laisse entrevoir tout le potentiel offert par de tels mélanges synthétiques complexes. En effet, en termes plus élogieux, on peut les qualifier de "métabolomes artificiels". D'une rare diversité, **ceux-ci vont présenter une grande richesse structurale et compteront de nombreux squelettes de type produit naturel**. Inutile de dire que de telles collections de molécules présentent un attrait considérable et ce sous bien des aspects.

Les synthèses biomimétiques de la nitramine (**183**) et de la nitrarine (**198**) ont été réalisées au laboratoire (qui possède une réelle expertise dans ce domaine) suivant ce modèle pouvant être qualifié de "*mélange et isole*". Dans les deux cas, les équivalents biomimétiques sont mis en présence et la cascade réactionnelle se fait en une étape (Schéma 46).

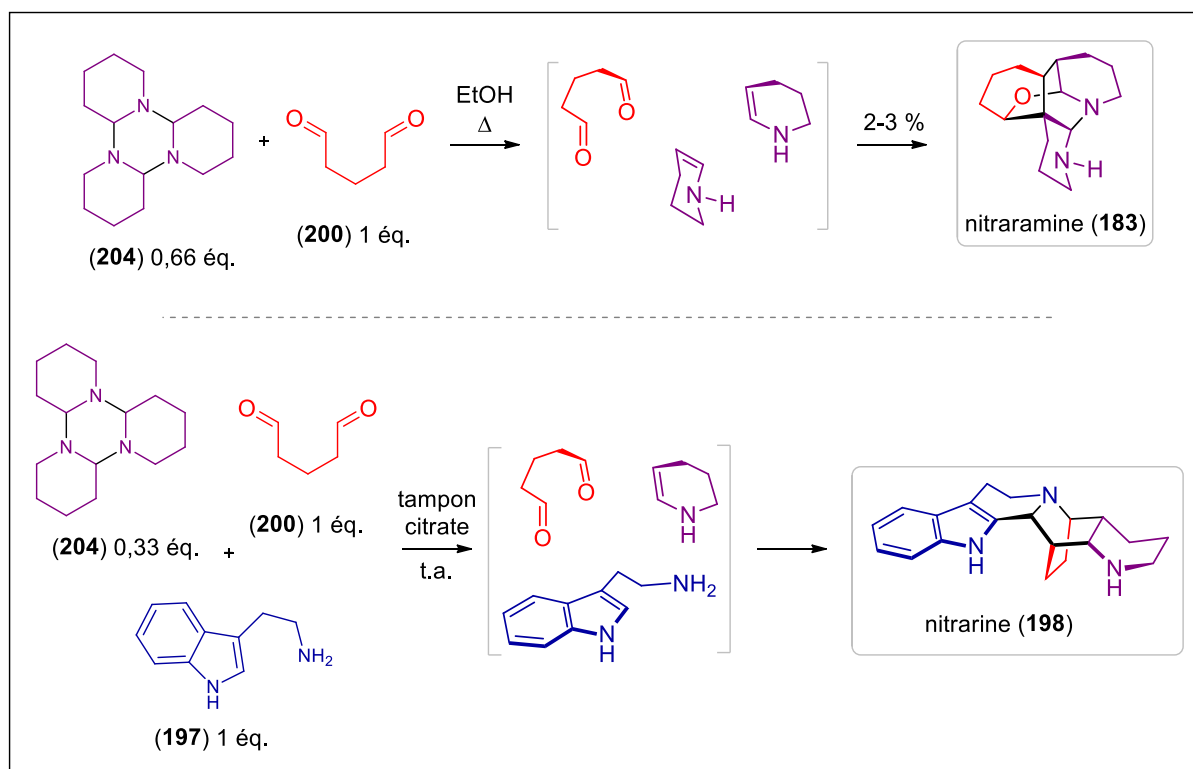


Schéma 46 : Synthèses biomimétiques de la nitramine (**183**) et de la nitrarine (**198**).

Malgré le succès avéré de cette approche, l'analyse des mélanges dans leur ensemble est difficile. L'exploration de l'espace chimique fournit (par ces mélanges synthétiques) est incomplète et la diversité offerte reste largement sous exploitée même si des efforts sont fait en ce sens. Alors, **il est indéniable qu'un outil répondant à cette problématique serait fort utile pour délivrer toute l'information contenue dans ces mélanges et donner la pleine mesure à leur potentiel.**

1.3. L'analyse de réseaux moléculaires, une technique en devenir.

Le virage de la bio-informatique et du traitement des données massives a été pris très précocement par des disciplines comme la génomique dont le développement s'est adossé à de telles technologies. En effet, le séquençage et l'analyse des génomes à haut débit nécessite une croissance éfreinée des cadences d'analyse des données ; un peu comme en informatique pure avec la hausse exponentielle des puissances de calcul et des volumes de stockage.

Par ailleurs, l'extraction, la purification et l'isolement de substances naturelles nouvelles est un processus exigeant et fastidieux qui repose sur des techniques analytiques et d'élucidation structurale diverses. On peut citer par exemple la RMN, la CLHP analytique et préparative ainsi que la spectrométrie de masse. Si ces techniques, qui sont très performantes, se sont considérablement et constamment améliorées au cours des dernières décennies, aucune d'elle ne répond au besoin d'intégration complète des données accessibles. En d'autres termes, au-delà de l'utilisation de techniques toujours plus performantes, aucune solution n'existe pour capturer intégralement la diversité chimique d'un échantillon ou d'un extrait donné. L'identification de la structure d'une seule molécule est déjà difficile. *"Imaginez le défi représenté par le traitement de certaines voire de milliers de substances dans un même mélange."* Or, **il est important de pouvoir analyser et cartographier la diversité d'un mélange donné.** Cette capacité permettrait de surmonter de nombreux obstacles inhérents à la pratique actuelle de la chimie des substances naturelles.

Dans ce contexte, une nouvelle méthode qui repose sur l'étude de réseaux moléculaires a été proposée très récemment par l'équipe de Dorrestein.⁷¹ Ces réseaux moléculaires résultent de l'association de deux techniques bien distinctes. La **première** est la fragmentation par spectrométrie de masse de molécules organiques, processus qui aboutit à de véritables empreintes spécifiques à chaque molécule : leur spectre MS/MS de haute résolution. La **seconde** consiste à exploiter des algorithmes classiques de "regroupement en îlots" appelés aussi algorithmes de "*clustering*" qui sont bien connus en informatique. La fusion

⁷¹ a) J. Watrous, P. Roach, T. Alexandrov, B. S. Heath, J. Y. Yang, R. D. Kersten, M. van der Voort, K. Pogliano, H. Gross, J. M. Raaijmakers, B. S. Moore, J. Laskin, N. Bandeira and P. C. Dorrestein; *Mass spectral molecular networking of living microbial colonies*; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, E1743–E1752. b) J. Y. Yang, L. M. Sanchez, C. M. Rath, X. Liu, P. D. Boudreau, N. Bruns, E. Glukhov, A. Wodtke, R. de Felicio, A. Fenner, W. R. Wong, R. G. Linington, L. Zhang, H. M. Deboni, W. H. Gerwick and P. C. Dorrestein; *Molecular Networking as a Dereplication Strategy*; *J. Nat. Prod.* **2013**, *76*, 1686-1699. c) A. Bouslimani, L. M. Sanchez, N. Garg and P. C. Dorrestein; *Mass spectrometry of natural products: current, emerging and future technologies*; *Nat. Prod. Rep.* **2014**, *31*, 718-729.

de ces deux outils permet de réaliser des réseaux moléculaires sur la base de similitudes entre spectres MS/MS. Il est important de noter à ce stade qu'avec cette méthodologie, l'analyse du mélange se fait sous l'angle de la spectrométrie de masse et que celle-ci exclue par définition les molécules non ionisables.

La génération du réseau moléculaire portant sur un mélange donné se décompose comme suit. Premièrement, la bibliothèque de spectres MS/MS est obtenue par CLHP couplée à la masse tandem. Après cette étape physique d'analyse de l'échantillon, le traitement informatique se fait par alignement des spectres et notation de leur similarité. Le réseau est ensuite automatiquement généré à partir de ces corrélations et fait apparaître une cartographie de la diversité chimique présente dans le mélange étudié (Schéma 47). On note que l'épaisseur des liens entre les nœuds d'ions parents est corrélée à la similitude de leurs profils de fragmentation. On mesure alors la force de cet outil qui permet donc de **dérépliquer** des extraits avec une vitesse et une efficacité sans précédent.

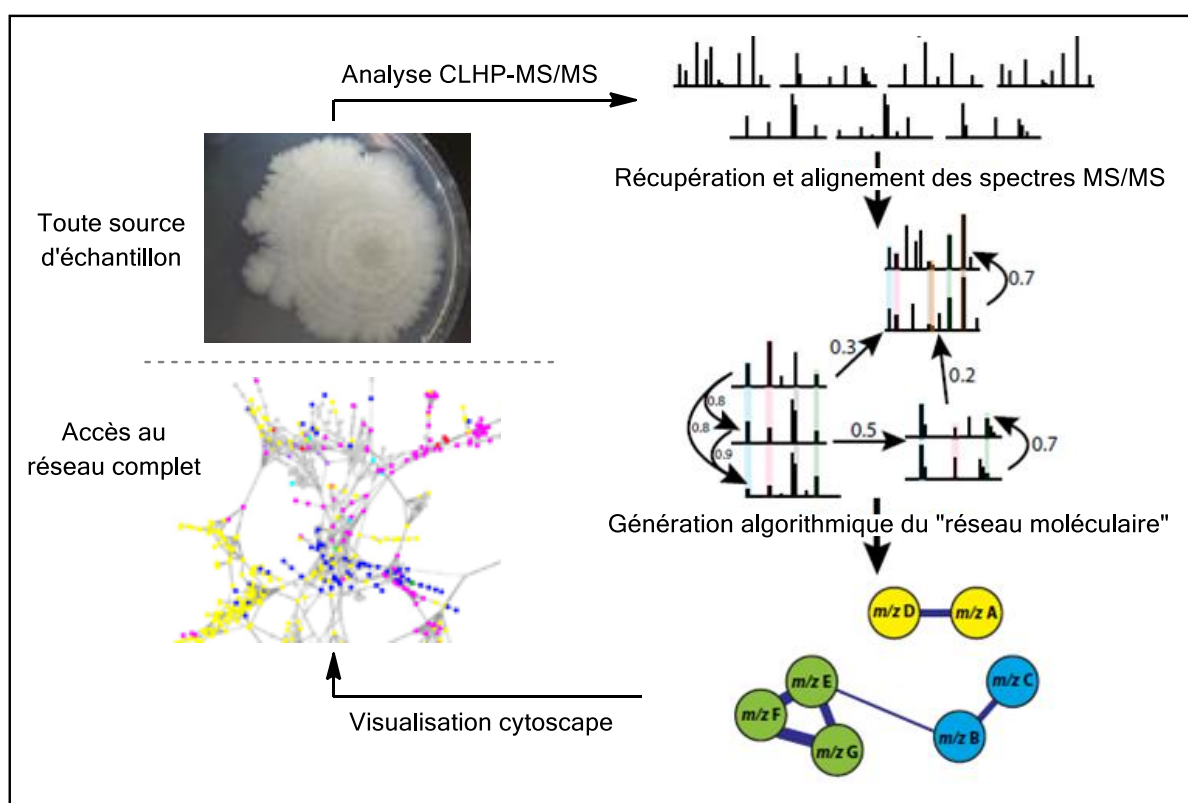


Schéma 47 : De l'échantillon à son réseau moléculaire, présentation de l'approche.⁷²

À l'avenir, on peut imaginer que la création de banques de données et l'utilisation de témoins dématérialisés (déjà à l'heure actuelle, les extraits peuvent être explorés à l'aide de substances témoins naturelles, synthétiques ou virtuelles) permettra d'identifier les squelettes ou mêmes les structures connues dans un mélange d'intérêt. Alors, l'unité élémentaire d'analyse d'un échantillon ne sera plus la molécule mais bien le mélange dans son intégralité, avec identification des familles de substances naturelles qui le composent. Par la même,

⁷² Figure élaborée à partir du contenu des références 71a à 71c.

seules les molécules et architectures moléculaires inédites, et donc non identifiées, seront ciblées et isolées pour élucidation structurale. Cette méthodologie est appliquée et même enrichie en continue par une communauté qui s'aggrandit de jour en jour.⁷³ Indéniablement, on peut affirmer que l'avenir des volets extractif et analytique de la chimie des substances naturelles est désormais lié au développement de cette thématique de recherche très dynamique.

1.4. Entre genèse de métabolome artificiel, synthèse orientée vers la diversité et exploration des mélanges par déréplication bio-informatique en réseaux : une approche inédite.

Auto-construction de substances naturelles en mélanges complexes d'une part, exploration de mélanges *via* des réseaux moléculaires construits par des algorithmes d'autre part. Une fois que l'on prend connaissance de ces deux thématiques, il devient évident de les faire converger. Et si le mélange déréplicé grâce aux réseaux moléculaires n'était plus un extrait naturel mais un "métabolome artificiel" ? D'une grande diversité structurale, ce dernier est issu de l'assemblage de précurseurs biomimétiques choisis pour leur propension à former des substances naturelles et toute une population de substances associées. Le recours à ces réseaux moléculaires permettrait d'appréhender la richesse de ces mélanges dans une logique d'exploitation de la diversité chimique ainsi produite. C'est l'outil tant attendu qui faisait défaut il y a à peine quelques années de cela.

L'expérience et l'intérêt de l'équipe pour ce genre de synthèses biomimétiques ainsi que pour la synthèse orientée vers la diversité justifie l'engagement dans cette direction inédite. Une fois l'approche combinée approuvée, les possibilités sont presque infinies et les questions posées pourront être très fondamentales. On peut en effet imaginer différents scénarios focalisés sur certains précurseurs ou la variation des conditions réactionnelles et leurs influences respectives sur les populations de molécules produites. En allant plus loin, on pourrait également mesurer l'influence de la chronologie des événements sur des mélanges en observant les voies de synthèses privilégiées en fonction de l'ordre d'apparition des partenaires dans le milieu réactionnel. Encore une fois, un grand nombre d'idées émerge lorsque l'on adopte cette logique. On peut terminer en ajoutant un dernier exemple. Inspiré par les sondes moléculaires, on pourrait également observer la distorsion engendrée par des composés choisis sur l'espace chimique de mélanges synthétiques obtenus au préalable. De cette manière, l'exploration prendrait tout son sens avec la création de nouvelles dimensions de l'espace chimique *via* ces vecteurs moléculaires qui s'appliqueraient à des sous-ensembles de substrats du mélange préexistant.

⁷³ a) L'interface mondiale GNPS compte en effet des contributeurs nombreux qui enrichissent sans cesse cette base de données interactive : <http://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/libraries.jsp>. b) Pour exemple: P.-M. Allard, T. Péresse, J. Bisson, K. Gindro, L. Marcourt, V. C. Pham, F. Roussi, M. Litaudon and J.-L. Wolfender; *Integration of Molecular Networking and In-Silico MS/MS Fragmentation for Natural Products Dereplication*; *Anal. Chem.* **2016**, *88*, 3317-3323.

2. Résultats inauguraux du projet.

2.1. Mélanges précédemment réalisés au laboratoire.

Afin de mettre en pratique cette approche, l'idée de s'intéresser à des mélanges qui avaient déjà été réalisés au laboratoire s'est imposée. D'abord, parce que la chimie à mettre en œuvre était bien maîtrisée dans l'équipe. Mais également puisque nous serions alors en mesure d'apprécier l'apport de la nouvelle méthode en regard des travaux qui avaient été réalisés avant le développement de ces techniques. Enfin, les témoins des substances naturelles visées étaient disponibles au laboratoire.

Dès lors, la synthèse du trimère pipéridinique (**204**) a été entreprise à partir de la pipéridine (**205**). Celle-ci est convertie en **204** via la *N*-chloro-pipéridine après traitement séquentiel par du NCS et du méthanolate de sodium (Schéma 48). C'est le seul prérequis synthétique aux mélanges visés qui mettent en jeu par ailleurs les précurseurs commerciaux décrits auparavant : le glutaraldéhyde (**200**) et la tryptamine (**197**).

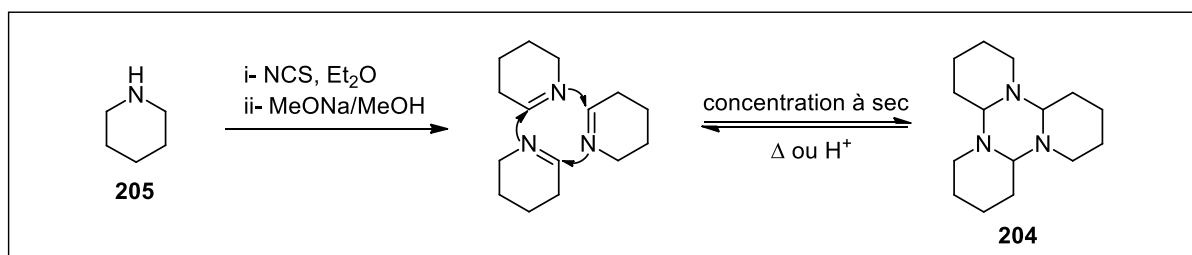


Schéma 48 : Synthèse de l'équivalent masqué de tétrahydropyridine **204**.

Dans une démarche de réinvestigation mais également d'étude exhaustive de l'influence des différents précurseurs, les quatre combinaisons possibles des substrats **197**, **200** et **204** ont été testées dans des conditions douces comparables à savoir : dans du tampon citrate à 4 % et à température ambiante (Tableau 10).

Mélange	Substrats
A	197 + 204
B	197 + 200 + 204
C	200 + 204
D	197 + 200

Le tableau est accompagné des structures chimiques des substrats **204** (trimère pipéridinique), **200** (glutaraldéhyde) et **197** (tryptamine).

Tableau 10 : Combinaisons binaires et ternaires possibles pour les mélanges.

À ce jour, quelques résultats préliminaires sont disponibles et semblent très prometteurs. Tout d'abord, les réseaux moléculaires obtenus se répartissent uniquement en deux grandes sous-populations ce qui représente déjà une donnée étonnante. On note également que chacune des substances témoins, la nitramine (**183**) en bleu et la nitrarine (**198**) en rouge, se place dans deux îlots distincts suggérant une différence majeure. De nombreux squelettes co-existent au sein de ces deux îlots mais la différence objective qui semble séparer ces deux composés est la présence de l'"unité tryptamine" dans la structure de la nitrarine (**198**) (Figure 32).

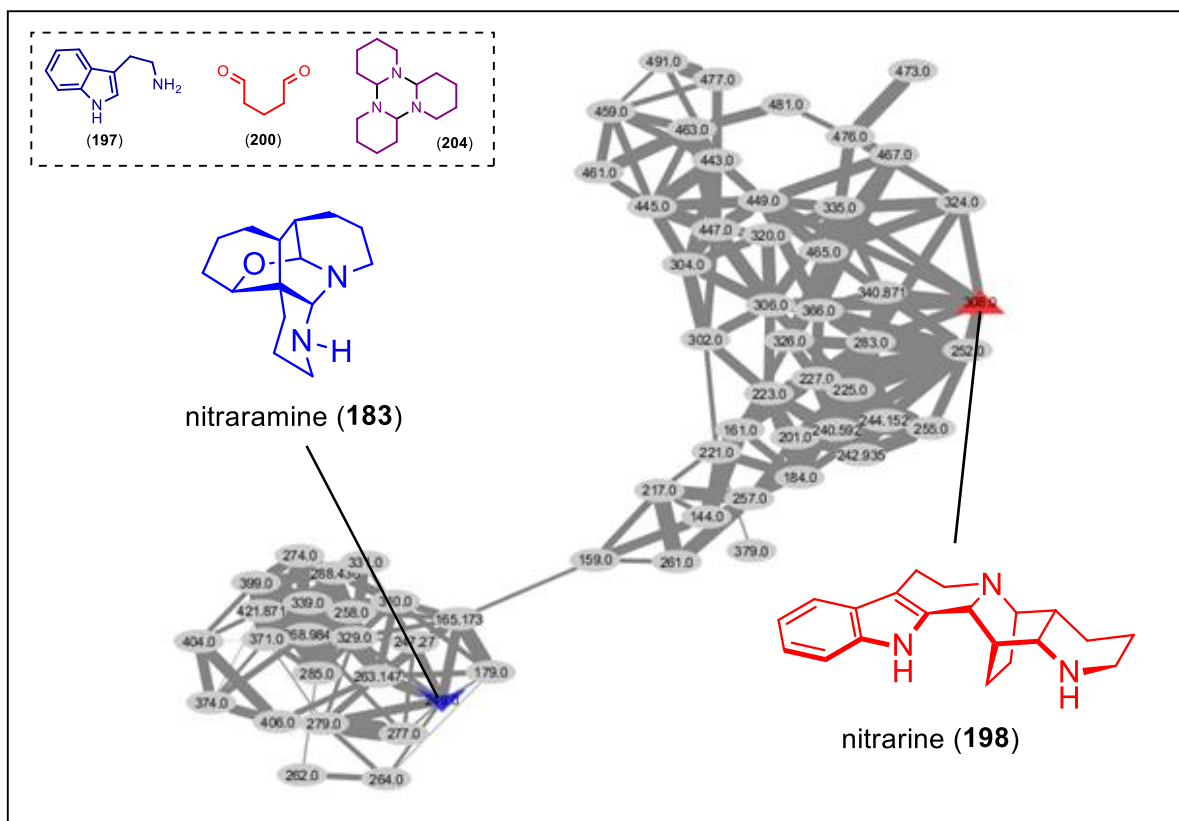


Figure 32 : Réseau moléculaire global avec identification de la nitramine et de la nitrarine.

Afin de tester cette hypothèse et débiter l'exploitation de ces réseaux moléculaires, on réalise une comparaison croisée par soustraction. Cela permet d'identifier les substances formées dans un seul mélange parmi les quatre testés et donc de corréler les précurseurs présents à des zones spécifiques du réseau (alors que les autres sont partagées). On constate que toutes les molécules formées *uniquement si la tryptamine (197) est absente* (mélange C) se retrouvent dans l'îlot en bas à gauche du réseau, celui qui comprend la nitramine (**183**) (Figure 33a). Alors que les deux précurseurs du groupe sont présents dans le mélange ternaire (**197**, **200** et **204** : mélange B), cela montre que la présence de la tryptamine agit comme un inhibiteur de certaines de ces voies de synthèses. Comme espéré, le trio de métabolites conduit non seulement à la formation de nitrarine (**198**) mais également à une série de substances exclusives qui ont probablement intégrées les trois unités de départ (Figure 33b). Celles-ci seront visées en priorité en fonction de leur masse. Plus la masse est élevée plus le nombre d'unités intégrées et la complexité attendue est grande. On note que dans le réseau

moléculaire obtenu, on peut remonter au temps de rétention CLHP de chaque nœud et donc cibler directement une molécule donnée dans le mélange.

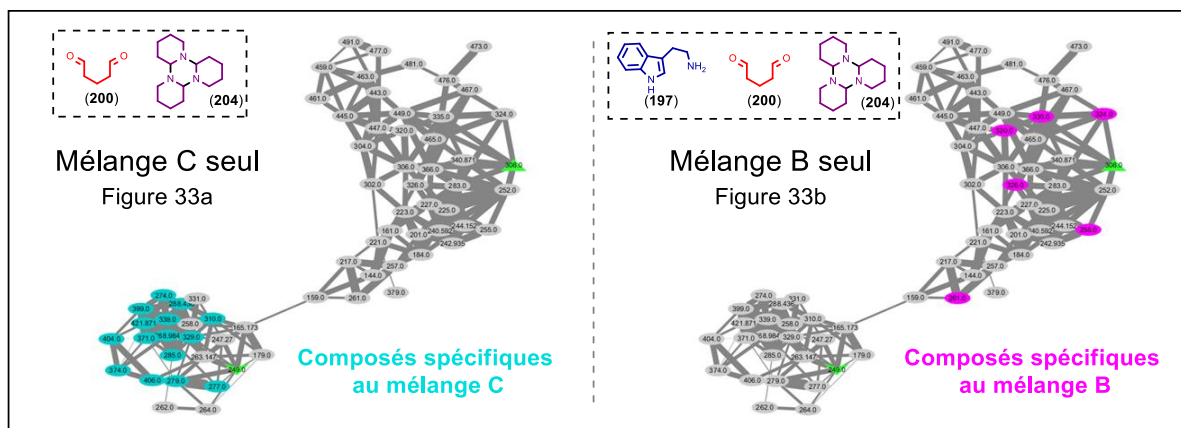


Figure 33 : Substances du réseau *exclusives* aux mélanges C et B.

Le mélange ternaire (mélange B) peut en principe contenir tous les composés possibles en l'absence de toute inhibition. On a déjà vu que que la tryptamine (**197**) avait agit comme une inhibiteur sur le mélange C. De fait, il en est de même pour les deux autres mélanges binaires réalisés. Respectivement, les mélanges A (**197 + 204**) et D (**197 + 200**) révèlent la levée d'inhibition dont sont responsable **200** et **204** selon le cas (Figure 34a et 34b). On note également que la plupart des substances en question se trouvent dans l'îlot de droite ce qui est un argument en faveur de la présence de l'indole dans les molécules qui composent ce dernier.

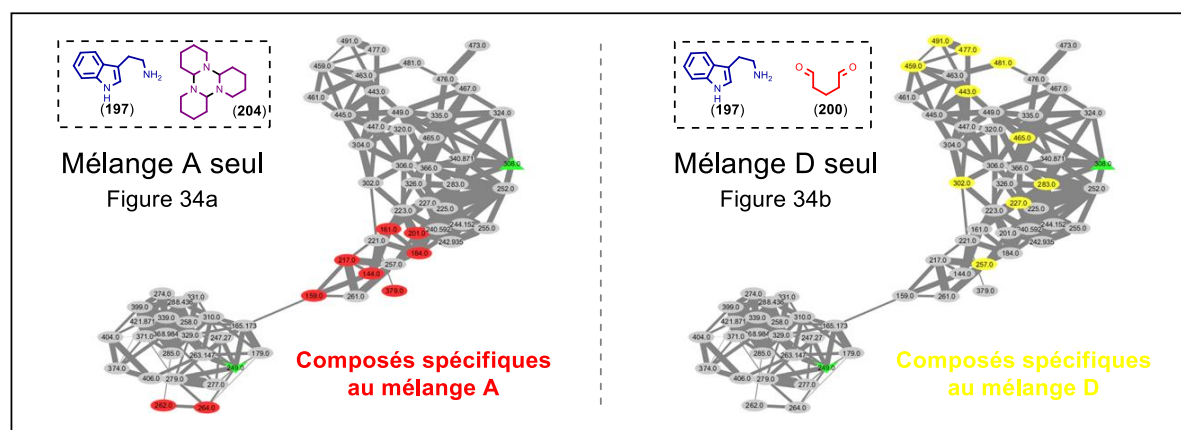


Figure 34 : Substances du réseau *exclusives* aux mélanges A et D.

On peut également opérer par le raisonnement inverse, à savoir non pas par inhibition mais par condition nécessaire. Cela permet d'avoir accès aux populations qui échappent à l'inhibition d'un précurseur tiers et qui nécessitent la présence des autres partenaires. En ayant ces conditions nécessaires, on peut argumenter avec plus de force sur l'intégration des précurseurs dans les molécules observées. Prenons deux exemples significatifs. Les molécules qui n'apparaissent que dans les mélanges B et D (mélange ternaire et mélange binaire **197 + 200**) sont tous présents dans l'îlot droit (Figure 35a) et viennent enrichir ceux qui

sont spécifiques au mélange ternaire (mélange B seul, Figure 33a). Au contraire, les molécules qui n'apparaissent que dans les mélanges B et C (mélange ternaire et mélange binaire **200 + 204**) se trouvent dans l'îlot de gauche (Figure 35b). On peut donc conclure, par exemple, que l'absence de tryptamine (**197**) dans le milieu réactionnel exclue l'atteinte de l'espace chimique de droite alors que lorsque celle-ci est présente, cet espace est exploré de façon variable en fonction des autres métabolites présents initialement.

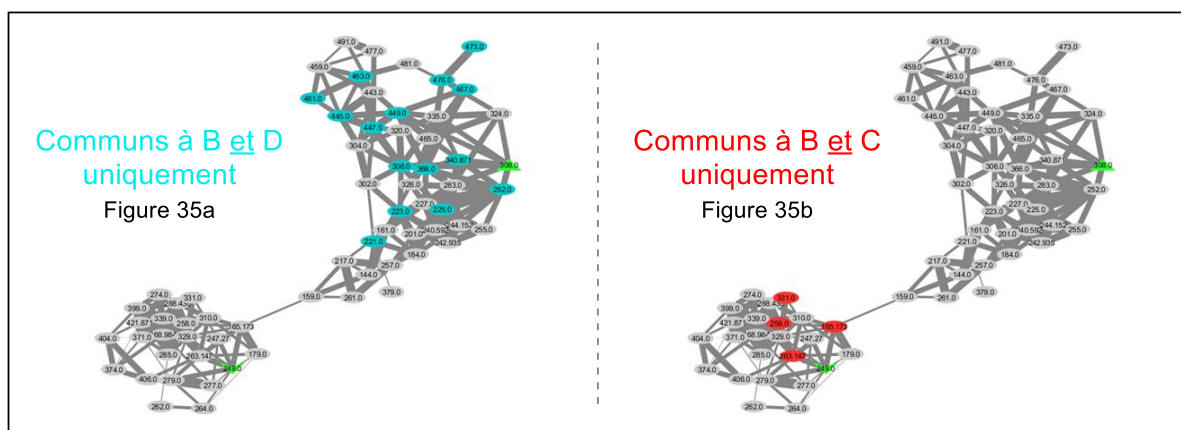


Figure 35 : Substances révélant les précurseurs nécessaires à leur formation.

Ces conclusions pourront être enrichies dans un futur proche par l'isolement de composés-clés issus de ces analyses ainsi que par l'identification des réseaux de molécules générés par chaque réactif (unitaire) et ce quels que soient les autres partenaires présents (résultants donc d'auto-condensations).

2.2. De nouvelles cibles aux précurseurs modulables.

En dehors de ces mélanges très simples et des cibles dont la synthèse a déjà été réalisée au laboratoire, l'étude de nouveaux mélanges a été envisagée. Tout en continuant à exploiter la chimie des aldéhydes et des imines-énamines propre au laboratoire, l'enjeu est double. Tout d'abord, cela doit permettre de réaliser la synthèse totale de nouveaux alcaloïdes. D'autre part, l'objectif est de franchir un cap dans la complexité des mélanges générés ou en tous cas dans les variations imposables sur le système.

Dans ce contexte, le myrifabral A (**185**) a été choisi comme cible. Ce dernier est issu (comme présenté auparavant), du métabolisme de la L-lysine (**175**) mais semble émerger à partir d'un composé bien particulier en C₁₀ : **191**. En fait, d'un point de vu synthétique, il s'agit plutôt de son dérivé réduit **206**, qui réagirait avec l'équivalent de tétrahydropyridine trimérique (**204**). Ainsi, des mélanges plus moins orientés (et en tous cas modulés) par la variation du précurseur aldéhydique à l'œuvre dans la genèse de son "métabolome artificiel" pourront être obtenus (et étudiés). Le glutaraldéhyde (**200**), le précurseur (**191**) et son dérivé réduit, le trialdéhyde **206**, seront tous trois évalués et montreront l'influence de la dimérisation préalable ainsi que celle de la réduction de la double liaison (Figure 36). On peut déjà imaginer des

influences majeures sur la diversité mais aussi sur la complexité et la variabilité des ancrages observés.

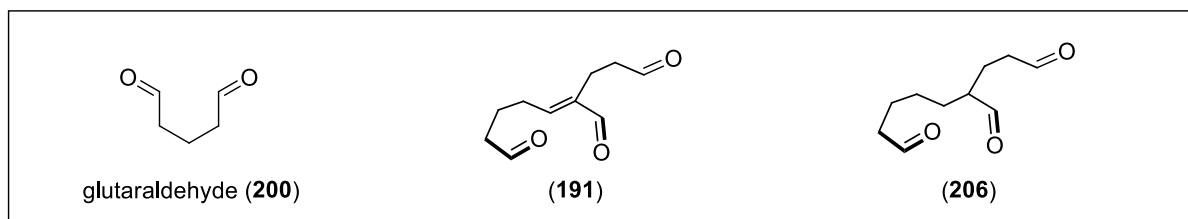


Figure 36 : Approche modulable *via* trois précurseurs possibles pour le myrifabral A.

À ce jour, les mélanges n'ont pas encore pu être lancés mais l'accès à **206** a été envisagé selon la littérature existante ce qui laisse entrevoir la concrétisation prochaine du projet. Le composé **206** sera obtenu à partir du glutaraldéhyde (**200**) après protection de ce dernier dans l'éthanol. La séquence débute par l'aldolisation-crotonisation du 5,5-diéthoxypentanal (**201**) en **202**. Ce dernier est déprotégé par hydrolyse des acétals en présence de TFA pour donner **191**. Enfin, la double liaison conjuguée de **191** (seule étape restante) sera réduite par H₂/Pd pour donner le trialdéhyde réduit désiré **206** (Schéma 49). Cette dernière étape de synthèse est en cours d'optimisation.

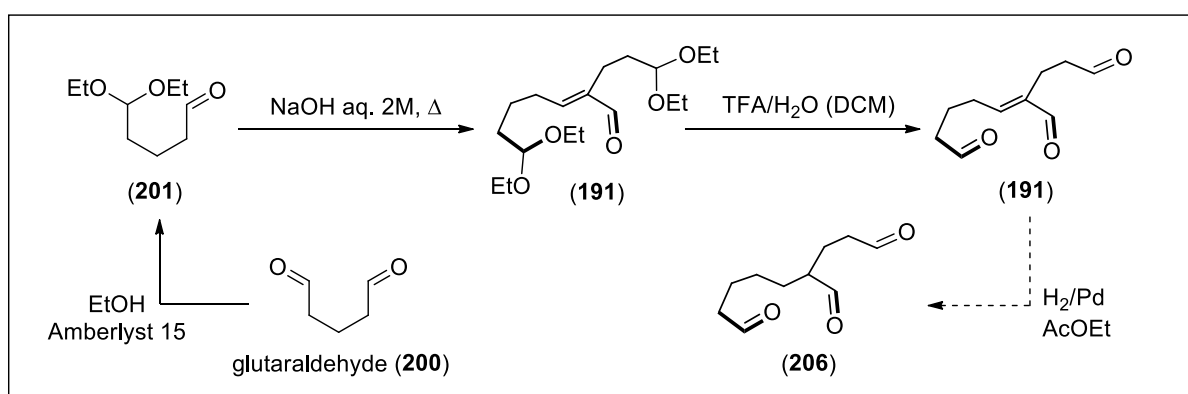


Schéma 49 : Synthèse des précurseurs trialdéhydiques **191** et **206**.

3. Partie expérimentale.

Analyse MS/MS :

L'obtention des réseaux moléculaires se fait par traitement algorithmique de spectres de masse MS/MS de haute résolution. Pour cette étude, l'acquisition a été faite après CLHP (Colonne Sunfire, gradient H₂O (10 mM NH₄Ac) / MeCN : 60/40 à 0/100 en 30 min) sur un QTOF en ionisation ESI positive. La MS/MS a été réalisée selon la méthode suivante : Auto MS/MS, Top 3 (les trois ions principaux de chaque spectre de masse sont fragmentés). Deux énergies de fragmentation ont été appliquées en mode de dissociation induite par collision (CID) : 30 eV et 42 eV.

Réalisation des mélanges :

Les précurseurs sont mélangés en proportions équimolaires sur de grosses quantités (36 mmoles) afin d'être ensuite en mesure d'isoler des composés minoritaires si besoin. Le milieu réactionnel choisi est un tampon citrate à 4 % (40 g/L) : 900 mL. La tryptamine (**197**) est dissoute en premier lorsque celle-ci intervient dans le mélange. Le glutaraldéhyde est déjà en solution (25 % dans l'eau). Les quantités sont résumées dans le tableau qui suit.

Dans de telles conditions, il est nécessaire de faire une extraction alcaloïdique afin de procéder aux analyses ultérieures. Ainsi, du dichlorométhane (700 mL) est ajouté puis le mélange réactionnel est alcalinisé jusqu'à pH 11 par ajout d'ammoniaque, le tout sous agitation. Deux autres extractions au dichlorométhane sont ensuite réalisées (2 * 500 mL). Alors, les phases organiques sont concentrées sous vide.

Synthèse des équivalents synthétiques requis :

■ Préparation du trimère pipéridinique **204** :

Une suspension de *N*-chloro-succinimide (65 g – 0,5 mole) dans de l'éther diéthylique (450 mL) est placée dans un bain de glace. De la pipéridine (40 mL – 0,5 mole – 1 éq.) est lentement ajoutée. Après deux heures d'agitation à température ambiante, le mélange contenant la *N*-chloro-pipéridine est filtré sur coton. Le filtrat est ensuite lavé à l'eau puis séché sur sulfate de sodium. Deux tiers des phases organiques sont alors évaporées sous pression réduite avant d'ajouter du méthanol de sodium (267 mL de solution à 2 N dans le méthanol) en s'assurant que la température n'excède pas 50 °C. Le milieu réactionnel est alors porté à reflux pendant une heure. La réaction conduit à la formation de NaCl en grande quantité (1 éq.) qui est dissout par l'ajout d'eau. Une extraction à l'éther diéthylique est alors réalisée (3 * 250 mL). Les phases organiques sont séchées sur sulfate de sodium puis évaporées sous pression réduite. L'eau résiduelle est éliminée par dissolution de l'émulsion finale dans du dichlorométhane (200 mL) et séparation liquide-liquide, séchage sur sulfate de sodium et une dernière évaporation sous pression réduite. On obtient alors une huile jaune pâle (27 g – 0,11 mole – 70%) qui cristallise lentement à +4 °C.

204 : IR (film): 3300, 2935, 1651, 1442 cm⁻¹. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.56 (m, 1 H), 2.95 (m, 2 H), 2.42 (m, 3 H), 1.72-1.05 (massif, 19 H), 0,78 (qd, *J* = 12.5 - 5.2 Hz, 1 H). ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃): δ = 83.7, 81.7, 63.9, 48.2, 47.7, 45.4, 43.3, 29.4, 28.3, 27.3, 26.1, 25.8, 25.0, 23.1, 22.9. MS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ 250.

■ Préparation du trialdéhyde **202** (vers **206**) :

Le glutaraléhyde (**200**) (100 mL d'une solution aqueuse à 50 %) est mélangé à de l'éthanol (900 mL). De la résine Amberlyst® 15 (5 g) est ajoutée puis la réaction a lieu sous agitation lente durant 4 jours. La résine est ensuite éliminée par filtration. Le filtrat est agité en présence de bicarbonate de sodium (10 g) pendant 2 heures puis on filtre à nouveau avant d'évaporer ce dernier filtrat sous pression réduite. Le résidu de 80 g est purifié par chromatographie flash (cyclohexane/éther diéthylique : 8/2 - 25 min). Le 5,5-diéthoxypentanal (**201**) est obtenu sous la forme d'une huile incolore limpide (9 g – 52,7 mmol – 10,3 %).

201 : IR (film): 1755, 1056 cm^{-1} . ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) : δ = 9.63 (s, 1 H), 4.36 (t, J = 5.5 Hz, 1 H), 3.56-3.30 (massif, 4 H), 2.34 (t, J = 7.0 Hz, 2 H), 1,61-1.48 (massif, 4 H), 1.07 (t, J = 7.1 Hz, 6 H). ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): δ = 201.9, 102.9, 60.9, 43.3, 32.7, 17.1, 15.0. MS (ESI): m/z [M + H]⁺ 175.

Le 5,5-diéthoxypentanal (**201**) (1 g – 5,8 mmol) chauffé à 80 °C est traité par de la soude 2 M (0,2 mL) sans solvant sous forte agitation. Après 1 h 30 min à reflux, le mélange est refroidi à température ambiante puis extrait par ajout d'eau (10 mL) et de dichlorométhane (10 mL). L'eau est réextraite par 10 mL de CH_2Cl_2 puis les phases organiques sont séchées sur sulfate de sodium et évaporées sous pression réduite. On obtient ainsi le dimère **202** (930 mg – 2,8 mmol – 97 %).

202 : IR (film): 1713, 1122, 1056 cm^{-1} . ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 9.35 (s, 1 H), 6.44 (t, J = 7.4 Hz, 1 H), 4.48 (t, J = 5.4 Hz, 1 H), 4.43 (t, J = 5.7 Hz, 1 H), 3.70-3.57 (massif, 4 H), 3.52-3.40 (massif, 4 H), 2,38 (td, J = 7.4 Hz, 2 H), 2,28 (m, 2 H), 1.71-1.50 (massif, 6 H), 1.22-1.15 (massif, 12 H). ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): δ = 194.7, 154.6, 143.2, 102.5, 102.2, 61.1, 60.8, 33.3, 32.9, 28.4, 24.7, 19.3, 15.2. MS (ESI): m/z [M + H]⁺ 331.

La déprotection des acétals de **202** (1,05 g – 3,18 mmol) est réalisée après mise en solution dans le chloroforme (40 mL) acidifié à l'acide trifluoroacétique (490 μL). Ensuite, de l'eau (2 mL) est ajoutée et la réaction se poursuit à température ambiante pendant 5 h sous une vive agitation. Après récupération de la phase organique, celle-ci est séchée sur sulfate de sodium et concentrée sous pression réduite. Le trialdéhyde (**191**) est obtenu sous la forme d'une huile incolore (553 mg – 3,04 mmol – 95 %).

191 : IR (film): 1725, 1685 cm^{-1} . ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 9.79 (s, 1 H), 9.72 (s, 1 H), 9.35 (s, 1 H), 6.48 (t, J = 7.4 Hz, 1 H), 2.59-2.49 (massif, 6 H), 2,44 (td, J = 7.4 Hz, 2 H), 1,83 (tdd, J = 7.4 Hz, 2 H). ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): δ = 201.3, 201.1, 194.7, 154.5, 142.9, 43.1, 42.2, 28.2, 17.1, 15.3. MS (ESI): m/z [M + H]⁺ 183.

4. Perspectives.

Le projet d'exploration de mélanges synthétiques par analyse de réseaux synthétiques est en phase de développement. Les premiers résultats sont prometteurs et d'autres vont

suivre dans un futur proche avec notamment l'isolement des composés singuliers suggérés par les réseaux. Outre les questions fondamentales abordées, les synthèses totales de substances naturelles et la synthèse orientée vers la diversité selon ce nouveau paradigme feront parti de la valorisation attendue de ces travaux. Par ailleurs, comme évoqué en introduction de chapitre, les possibilités sont très nombreuses et on peut imaginer que ce type d'étude puisse être élevé au rang de thématique au laboratoire. En effet, toutes les expertises nécessaires y sont réunies. D'autres mélanges que ceux évoqués ici sont d'ailleurs déjà en cours de préparation pour poursuivre dans cette direction.

Références du chapitre 3 :

(65) a) E. Gravel and E. Poupon *Biosynthesis and biomimetic synthesis of alkaloids isolated from plants of the Nitraria and Myrioneuron genera: an unusual lysine-based metabolism*; *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 32-56. b) Chapitre inaugural de: E. Poupon and B. Nay (Eds.); *Biomimetic Organic Synthesis*; Wiley-VCH; 2011.

(66) a) Premier isolement de la Nitramine : Y. Novgorodva, S. K. Maekh, S. Y. Yusunov ; *Chem. Nat. Comp.*, **1973**, *9*, 191–193 b) Y. Novgorodva, S. K. Maekh, S. Y. Yusunov ; *Nitramine – A new alkaloid from Nitraria schoberi* ; *Chem. Nat. Comp.* **1975**, *11*, 455-456. c) B. Tashkodzhaev, A. A. Ibragimov and S. Y. Yusunov; *The structure of the alkaloid nitramine from Nitraria schoberi*; *Chem. Nat. Comp.* **1985**, *21*, 649-655. d) V. C. Pham, A. Jossang, T. Sévenet, V. H. Nguyen and B. Bodo; *Myrioneurinol: a novel alkaloid skeleton from Myrioneuron nutans*; *Tetrahedron* **2007**, *63*, 11244-11249. e) M.-M. Cao, Y. Zhang, X.-H. Li, Z.-G. Peng, J.-D. Jiang, Y.-C. Gu, Y.-T. Di, X.-N. Li, D.-Z. Chen, C.-F. Xia, H.-P. He, S.-L. Li and X.-J. Hao; *Cyclohexane-Fused Octahydroquinolizine Alkaloids from Myrioneuron faberi with Activity against Hepatitis C Virus*; *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 7945-7950.

(67) a) N. Normatov and S. Y. Yusunov; *A study of Nitraria schoberi. The structure of nitramine*; *Chem. Nat. Comp.* **1968**, *4*, 120-120. b) A. A. Ibragimov, S.-M. Nasirov, V. T. Adrianov, S. K. Maekh, Y. T. Struchkov and S. Y. Yusunov; *The structure of nitramine*; *Chem. Nat. Comp.* **1975**, *11*, 293-294. c) S.-M. Nasirov, A. A. Ibragimov, V. T. Adrianov, S. K. Maekh, Y. T. Struchkov and S. Y. Yusunov; *The structure of nitramine*; *Chem. Nat. Comp.* **1976**, *12*, 294-301. d) J.-A. Duan, I. D. Williams, C.-T. Che, R.-H. Zhou and S.-X. Zhao; *Tangutorine: A novel β -carboline alkaloid from Nitraria tangutorum*; *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2593-2596.

(68) M. J. Wanner and G.-J. Koomen; *Studies in Natural Products Chemistry: Stereoselectivity in Synthesis and Biosynthesis of Lupine and Nitraria Alkaloids*; Ed. Atta-ur-Rahman; Elsevier: Amsterdam, **1994**, *14*, 731-768.

(69) a) M. J. Wanner and G.-J. Koomen; *Biomimetic synthesis of nitraria alkaloids: stereoselective spirocyclization reactions*; *Tetrahedron* **1992**, *48*, 3935-3944. b) M. J. Wanner and G.-J. Koomen; *Stereoselective Synthesis of the Indole Alkaloids Nitramine, Nitramidine, and Isomers. A Biomimetic Approach*; *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7479-7484. c) M. J. Wanner and G.-J. Koomen; *Biomimetic Synthesis of Nitramine*; *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5634-5637.

(70) a) E. Gravel, E. Poupon and R. Hocquemiller; *Biomimetic One-Step Access to Nitramine from Simple C5 Units. Revision of the Previously Reported Structure of Epinitramine to Nitramine*; *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2497-2499. b) R. Salame, E. Gravel, K. Leblanc and E. Poupon; *Biomimetic Synthesis of Tangutorine Following New Biogenetic Proposals*; *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1891-1894. c) E. Gravel, A. Harfouche, R. Salame, K. Leblanc, A. Maciuk and E.

Poupon; *Spontaneous Formation of Nitrarine and Polycyclic Skeletons Related to Nitraria Indolic Alkaloids under Non-Enzymic Conditions*; *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 14515-14520. d) E. Gravel and E. Poupon; *Biosynthesis and biomimetic synthesis of alkaloids isolated from plants of the Nitraria and Myrioneuron genera: an unusual lysine-based metabolism*; *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 32-56. e) E. Poupon and E. Gravel; *Manipulating Simple Reactive Chemical Units: Fishing for Alkaloids from Complex Mixtures*; *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 10604-10615.

(71) a) J. Watrous, P. Roach, T. Alexandrov, B. S. Heath, J. Y. Yang, R. D. Kersten, M. van der Voort, K. Pogliano, H. Gross, J. M. Raaijmakers, B. S. Moore, J. Laskin, N. Bandeira and P. C. Dorrestein; *Mass spectral molecular networking of living microbial colonies*; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, E1743–E1752. b) J. Y. Yang, L. M. Sanchez, C. M. Rath, X. Liu, P. D. Boudreau, N. Bruns, E. Glukhov, A. Wodtke, R. de Felicio, A. Fenner, W. R. Wong, R. G. Linnington, L. Zhang, H. M. Debonisi, W. H. Gerwick and P. C. Dorrestein; *Molecular Networking as a Dereplication Strategy*; *J. Nat. Prod.* **2013**, *76*, 1686-1699. c) A. Bouslimani, L. M. Sanchez, N. Garg and P. C. Dorrestein; *Mass spectrometry of natural products: current, emerging and future technologies*; *Nat. Prod. Rep.* **2014**, *31*, 718-729.

(72) Figure élaborée à partir du contenu des références 71a à 71c.

(73) a) L'interface mondiale GNPS compte en effet des contributeurs nombreux qui enrichissent sans cesse cette base de données interactive : <http://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/libraries.jsp>. b) Pour exemple: P.-M. Allard, T. Péresse, J. Bisson, K. Gindro, L. Marcourt, V. C. Pham, F. Roussi, M. Litaudon and J.-L. Wolfender; *Integration of Molecular Networking and In-Silico MS/MS Fragmentation for Natural Products Dereplication*; *Anal. Chem.* **2016**, *88*, 3317-3323.

Conclusion générale

Conclusion générale

Au cours de ce travail, nous avons abordé la synthèse biomimétique sous des angles variés. Une déclinaison des approches bio-inspirées a en effet permis de réaliser plusieurs synthèses totales d'alcaloïdes polycycliques complexes.

Dans le cas des drimentines (**Chapitre 1**), le squelette caractéristique de la famille a été obtenu *via* une voie de synthèse concise. La séquence de désaromatisation-cyclisation qui mime l'étape-clé de la biosynthèse de ces métabolites spécialisés a permis d'atteindre des composés très proches des substances connues et des intermédiaires biogénétiques probables.⁷⁴

L'étude de la "cascade des aplysinopsines" (**Chapitre 2**) a mis au jour un réseau synthétique (et biosynthétique) bien spécifique reposant sur la réactivité propre des précurseurs naturels. Avec un haut degré de spontanéité, la première synthèse totale du dictazole B a été réalisée en une seule étape par une cycloaddition [2+2] photochimique.⁷⁵ La réussite de cette synthèse nous a ensuite permis d'entreprendre la première synthèse du tubastrindole B *via* le réarrangement intramoléculaire d'un précurseur de type dictazole. Ces travaux ont également permis d'isoler l'intermédiaire biosynthétique central de cette famille d'alcaloïdes marins, source d'autres arguments biogénétiques.⁷⁶ L'étude a alors été étendue à d'autres représentants de la série et a permis de rationaliser les finesses stéréochimiques observées dans les sous-groupes que comptent les aplysinopsines dimériques.⁷⁷ L'analyse de ces différents travaux a finalement conduit au développement d'une réflexion biosynthétique globale dans un contexte plus large, en regard de la famille de la sceptrine.⁷⁸ L'application de la catalyse à l'ADN à la dimérisation photochimique de l'aplysinopsine donne des résultats très satisfaisants et laisse entrevoir la possibilité de réaliser une version énantiosélective de notre synthèse du dictazole B.

Au cours d'un troisième et dernier chapitre (**Chapitre 3**), l'utilisation de réseaux moléculaires dans le but d'étudier des mélanges synthétiques complexes en est encore à un stade précoce. Les premiers essais réalisés sont néanmoins prometteurs et laissent entrevoir un potentiel important pour la réalisation de nouvelles synthèses totales biomimétiques orientées vers la diversité.

Globalement, ces différentes études montrent, une fois encore, que les considérations biosynthétiques peuvent conduire à la réalisation de synthèses inédites, et ce en exploitant de façon judicieuse la réactivité intrinsèque de précurseurs pertinents. De quoi s'interroger sur l'information chimique contenue dans certains métabolites spécialisés.

⁷⁴ A. Skiredj, M. A. Beniddir, L. Evanno and E. Poupon; *Mimicking the Main Events of Drimentine Biosynthesis: Synthesis of Δ^8 -Isodrimentine A and Related Compounds*; *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, 17, 2954-2958.

⁷⁵ A. Skiredj, M. A. Beniddir, D. Joseph, K. Leblanc, G. Bernadat, L. Evanno and E. Poupon *Spontaneous Biomimetic Formation of (\pm)-Dictazole B under Irradiation with Artificial Sunlight*; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 6419-6424.

⁷⁶ A. Skiredj, M. A. Beniddir, D. Joseph, K. Leblanc, G. Bernadat, L. Evanno and E. Poupon *A Unified Bioinspired "Aplysinopsin Cascade": Total Synthesis of (\pm)-Tubastrindole B and Related Biosynthetic Congeners*; *Org. Lett.* **2014**, 16, 4980-4983.

⁷⁷ A. Skiredj, M. A. Beniddir, D. Joseph, G. Bernadat, L. Evanno and E. Poupon *Harnessing the Intrinsic Reactivity within the Aplysinopsin Series for the Synthesis of Intricate Dimers: Natural from Start to Finish*; *Synthesis* **2015**, 47, 2367-2376.

⁷⁸ M. A. Beniddir, L. Evanno, D. Joseph, A. Skiredj and E. Poupon; *Emergence of diversity and stereochemical outcomes in the biosynthetic pathways of cyclobutane-centered marine alkaloid dimers*; *Nat. Prod. Rep.* **2016**, 33, 820-842.

Je tiens également à remercier le LabEx LERMIT dans son ensemble pour le financement de thèse qu'il m'a attribué. En effet, ces travaux ainsi que l'aventure humaine qui les a accompagnés n'auraient pas été possibles sans la confiance du comité de sélection.



Par ailleurs, l'environnement (chaire et symposiums) scientifique apporté par le LabEx LERMIT et son réseaux d'équipes très variées sur un plan disciplinaire a ajouté un réel plus à cette expérience doctorale.

Table des abréviations

AcOH	acide acétique
ADN	acide désoxyriboNucléique
BEt ₃	triéthylborane
BF ₃	trifluorure de Bore
Bi(OTf) ₃	triflate de Bismuth
BOC	<i>tert</i> -butoxycarbonyle
°C	degré Celsius
CDCl ₃	chloroforme deutéré
CD ₃ OD	méthanol deutéré
CeCl ₃	chlorure de Cerium
CH ₂ Cl ₂	dichlorométhane
Cu(NO ₃) ₂	nitrate de cuivre
CuOTf	triflate de Cuivre (I)
Cu(OTf) ₂	triflate de Cuivre (II)
Δ	chauffage à reflux
DiBAI-H	hydruure de diisobutylaluminium
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropyléthylamine (Base d'Hünig)
dmbipy	4,4'-diméthyl-2,2'-bipyridine
DMF	diméthylformamide
DMSO	diméthylsulfoxyde
EDC	1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
Et	éthyle
EtNH ₂	éthylamine
EtOH	éthanol
éq.	équivalent
ESI	electrospray ionisation
Et ₂ O	éther diéthylique
h	heure
H ₂	dihydrogène
h _v	exposition à la lumière
HOBT	hydroxy-benzotriazole
HOMO	orbitale moléculaire la plus haute occupée
HRMS	spectrométrie de masse à haute résolution
I ₂	diiode
Imid.	imidazole
IR	infra-rouge
K ₂ CO ₃	carbonate de potassium
La(OTf) ₃	triflate de Lanthanum
LUMO	orbitale moléculaire la plus basse inoccupée
mCPBA	acide <i>méta</i> -chloroperbenzoïque
Me	méthyle
MeCN	acétonitrile
MeNH ₂	méthylamine
MeOH	méthanol
MHz	mégahertz
min	minute

mL	millilitre
M-O	micro-ondes
MOPS	acide 3- <i>N</i> -morpholinopropane sulfonique
NaBH ₄	borohydrure de sodium
NaHCO ₃	bicarbonate de sodium
NaI	iodure de sodium
NaOH	hydroxyde de sodium
NBS	<i>N</i> -bromo-succinimide
NCS	<i>N</i> -chloro-succinimide
NEt ₃	triéthylamine
NH ₄ Ac	acétate d'ammonium
NMO	<i>N</i> -oxyde- <i>N</i> -méthylmorpholine
O ₃	ozone
PBr ₃	tribromure de phosphore
Pd	palladium
PIDA	diacétoxyiodo-benzène
ppm	partie par million
PPTS	paratoluènesulfonate de pyridinium
RMN	raisonnance Magnétique Nucléaire
RX	rayons X
Sc(OTf) ₃	triflate de Scandium
S _E Ar	substitution électrophile aromatique
SOCl ₂	chlorure de thionyle
t.a.	température ambiante
TBAF	fluorure de tétrabutylammonium
TBSCI	<i>tert</i> -butyldiméthylsilyle
tBuOK	<i>tert</i> -butylate de potassium
TFA	acide trifluoroacétique
TFAA	anhydride trifluoroacétique
THF	tétrahydrofurane
TPAP	perruthénate de tétrapropylammonium
UV	ultraviolets
W	Watt
Y(OTf) ₃	triflate d'Yttrium
Yb(OTf) ₃	triflate d'Ytterbium
Zn	Zinc

Titre : Accès facile à de nombreux squelettes originaux pour la biologie: Auto-assemblage biomimétique de structures polycycliques complexes.

Mots clés : Biomimétique, synthèse totale, auto-assemblage, substances naturelles, alcaloïdes.

Résumé : Au cours de ce travail, nous avons abordé la synthèse biomimétique sous des angles variés. Une déclinaison des approches bio-inspirées a en effet permis de réaliser plusieurs synthèses totales d'alcaloïdes polycycliques complexes. La biogenèse des substances naturelles considérées est placée au centre de la démarche. Au départ, pour définir la stratégie de synthèse puis, en conclusion, lorsque les synthèses réalisées mènent à des hypothèses biosynthétiques plus abouties.

Le squelette des drimentines, alcaloïdes hybrides possédant une partie sesquiterpénique, a été obtenu grâce à une séquence de désaromatisation-cyclisation qui mime l'étape-clé de la biogenèse de ces métabolites spécialisés.

Une stratégie d'auto-assemblage par dimérisation a été adoptée afin d'étudier les liens synthétiques et biosynthétiques qui unissent les alcaloïdes marins de la famille des aplysinopsines. Au cours de cette étude, les premières synthèses totales du dictazole B et du tubastrindole B ont été réalisées. De plus, l'obtention d'analogues proches des substances

décrites et d'un intermédiaire biogénétique supposé a permis de développer une hypothèse de biogenèse se fondant sur la spontanéité et les réactivités chimiques observés au cours de l'étude. L'application de la catalyse à l'ADN à ces travaux a également conduit à des résultats prometteurs.

Enfin, une méthode bio-informatique récente appelée "molecular networking" peut être mise à profit afin d'exploiter la diversité de mélanges synthétiques complexes générés par la mise en présence de quelques précurseurs simples. La démarche s'applique à des mélanges connus dans lesquels la nitramine ou la nitrarine se forment ainsi qu'à des mélanges inédits pouvant conduire, par exemple, au myrifabral A.

Ces études montrent encore une fois que la synthèse biomimétique est un outil puissant pour la synthèse totale de substances naturelles polycycliques complexes et ce de bien des manières. On peut retenir que ces stratégies permettent d'accéder à des cibles extrêmement complexes avec simplicité, sobriété et élégance.

Title : Easy access to numerous original scaffolds for biology: Biomimetic "molecular self-assembly" of complex polycyclic structures.

Keywords : Biomimetic, total synthesis, self-assembly, natural products, alkaloids.

Abstract : This work features various approaches of biomimetic organic syntheses. Biosynthetic considerations have been placed at the center of our analysis in order to define the synthetic plans and later to propose biosynthetic hypotheses.

First, the skeleton of drimentines, hybrid alkaloids containing a sesquiterpenic unit, has been obtained by mimicking the main event of their postulated biosynthesis.

In a wider study, the marine alkaloid family

of the aplysinopsins has been treated with two total syntheses, of dictazole B and tubastrindole B, as well as a full bio-relevant aplysinopsins' cascade and the application of DNA catalysis principles to the series.

Finally, novel dereplication techniques relying on "molecular networking" are currently tested on complex synthetic mixtures to merge one step total syntheses and diversity oriented synthesis.