



HAL
open science

Nouvelle voie de synthèse de systèmes piperazines de type phthalascidine

Sylvain Aubry

► **To cite this version:**

Sylvain Aubry. Nouvelle voie de synthèse de systèmes piperazines de type phthalascidine. Catalyse. Université Claude Bernard - Lyon I, 2007. Français. NNT: . tel-00179725

HAL Id: tel-00179725

<https://theses.hal.science/tel-00179725>

Submitted on 16 Oct 2007

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.

THESE

présentée devant

I'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

pour l'obtention

du DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

présentée et soutenue publiquement le 21 Septembre 2007

par

M. Sylvain Aubry

**NOUVELLE VOIE DE SYNTHÈSE DE
SYSTEMES PIPERAZINES DE TYPE PHTHALASCIDINE**

Directeur de thèse : Professeur Marc LEMAIRE

JURY :

| | | |
|------------------------|----------------------------------|--------------------|
| Pr. P. GOEKJIAN | Université Claude Bernard Lyon 1 | Président |
| Pr. S. DUCKI | Université de Clermont-Ferrand | Rapporteur |
| Pr. J. LEBRETON | Université de Nantes | Rapporteur |
| Dr. J. L. HAESSLEIN | Société Sanofi-Aventis | |
| Dr. S. PELLET-ROSTAING | Université Claude Bernard Lyon 1 | |
| Pr. M. LEMAIRE | Université Claude Bernard Lyon 1 | Directeur de thèse |

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I

Président de l'Université

M. le Professeur L. COLLET

Vice-Président du Conseil Scientifique

M. le Professeur J.F. MORNEX

Vice-Président du Conseil d'Administration

M. le Professeur J. LIETO

Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire

M. le Professeur D. SIMON

Secrétaire Général

M. G. GAY

SECTEUR SANTE

Composantes

UFR de Médecine Lyon R.T.H. Laënnec

Directeur : M. le Professeur D. VITAL-DURAND

UFR de Médecine Lyon Grange-Blanche

Directeur : M. le Professeur X. MARTIN

UFR de Médecine Lyon-Nord

Directeur : M. le Professeur F. MAUGUIERE

UFR de Médecine Lyon-Sud

Directeur : M. le Professeur F.N. GILLY

UFR d'Odontologie

Directeur : M. O. ROBIN

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Directeur : M. le Professeur F. LOCHER

Institut Techniques de Réadaptation

Directeur : M. le Professeur MATILLON

Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur P. FARGE

SECTEUR SCIENCES

Composantes

UFR de Physique

Directeur : M. le Professeur A. HOAREAU

UFR de Biologie

Directeur : M. le Professeur H. PINON

UFR de Mécanique

Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID

UFR de Génie Electrique et des Procédés

Directeur : M. le Professeur A. BRIGUET

UFR Sciences de la Terre

Directeur : M. le Professeur P. HANTZPERGUE

UFR de Mathématiques

Directeur : M. le Professeur M. CHAMARIE

UFR d'Informatique

Directeur : M. le Professeur M. EGEA

UFR de Chimie Biochimie

Directeur : Mme. le Professeur H. PARROT

UFR STAPS

Directeur : M. le Professeur R. MASSARELLI

Observatoire de Lyon

Directeur : M. le Professeur R. BACON

Institut des Sciences et des Techniques de l'Ingénieur de Lyon

Directeur : M. le Professeur J. LIETO

IUT A

Directeur : M. le Professeur M. C. COULET

IUT B

Directeur : M. le Professeur R. LAMARTINE

Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : M. le Professeur J.C. AUGROS

Remerciements

J'aimerais tout particulièrement remercier Monsieur le Professeur Marc Lemaire (le grand chef) pour m'avoir accueilli et donné la chance de pouvoir m'exprimer à travers ce que j'aime faire et le sujet de thèse qui m'a été confié. Je voudrais le remercier pour m'avoir fait confiance en se lançant dans la synthèse multi-étapes au laboratoire ainsi que pour les généreux privilèges qui m'ont été octroyés. J'aimerais aussi lui signifier toute mon admiration et amitié que j'ai développées envers lui au cours de ces dernières années à travers son enthousiasme effréné, son intelligence et son don incontestable pour la chimie.

J'adresse également mes sincères remerciements au Docteur Stéphane Pellet-Rostaing qui m'a soutenu dès le premier jour de mon arrivé au laboratoire malgré ce sujet un peu inhabituel. J'aimerais vraiment te remercier pour ton enthousiasme débordant, ton sérieux, la patience et ton objectivité. J'aimerais aussi te souhaiter bonne chance pour la suite de ta carrière scientifique car tu le mérites vraiment.

Ces remerciements s'adressent également au Professeure Sylvie Ducki avec qui j'ai eu le plaisir et l'honneur de travailler au cours de notre collaboration avec son laboratoire.

Je remercie sincèrement le Professeur Peter Goekjian, le Professeur Jacques Lebreton, le Professeure Sylvie Ducki et le Docteur Jean Luc Haesselein pour avoir bien voulu consacrer du temps à l'examen de mes travaux de thèse.

Je remercie aussi les deux étudiants avec qui j'ai eu le plaisir de collaborer pour la synthèse de la Phthalascidine 650, Benjamin Bourdon et Christian

Razafindrabe Razafindrakoto. Je les remercie pour les nombreuses heures qu'ils ont passées au laboratoire à travailler et à me supporter.

Et puis, je ne pourrais oublier toutes les personnes qui constituent l'âme du laboratoire. J'adresse ma profonde amitié à Madame Annick Weyland (la plus belle des secrétaires et ses longues discussions), Monsieur Claude Bonura (dit l'ingénieur ingénu, le missionnaire, l'aigle ... merci), Nicolas Foulon pour sa gentillesse et son soutien logistique en informatique, Madame Christine Duclos pour sa bonne humeur, Madame Marie-Claude Gentina qui était la première personne que je voyais tôt le matin et Madame Geneviève Héraud pour ses analyses KPLC.

J'adresse mes innombrables remerciements à mes collègues du laboratoire passé, pour leur sympathie et leur sérieux. J'aimerais remercier le Docteur Mohamad Jahjah pour sa confiance et sa confiance, le Docteur Mickaël Berthod pour sa grande classe, le Docteur Antoine Sorin et sa bonne humeur, le Docteur Igor Kazmierowski que j'apprécie tout particulièrement et un merci très spécial au Docteur Jérémie Fournier dit Chabert pour m'avoir permis de m'évader en Angleterre pendant cinq semaines très arrosées mais aussi pour ses preuves d'intelligence. Pour les membres actuels j'aimerais remercier tout d'abord mes collègues les plus anciens : Jurgen pour son objectivité, Alain pour son soutien, Antoine (et sa galette volante, je ne m'y suis toujours pas fait, pour le reste aussi), Yi (toujours réveillée le matin), Lili (Ni Hao, Shou Biao), Estelle (vive la $S_{\alpha}A$ asymétrique et merci pour les US) et Lionel (bonne chance et mes félicitations). Parmi les nouveaux, j'aimerais remercier Stéphanie (la belle blonde et son accent du sud), Christelle (bonne chance pour Rhodia, à moins que tu nous développes une nouvelle allergie), Bénédicte (ne croit pas à tout ce que l'on te dit) et Julien (bientôt au CEA). Je voudrais aussi remercier les étudiants de master : Jullien (Barrett or not Barrett et bonne thèse, S comme ...), Jean (bravo pour l'Allemagne) et Jeff (B comme Basset). Il y a aussi tous les

anciens : Christine (ma collègue Mancelle), Lorraine, Ludovic, Damien, Vincent, Kader, Claudine, Julie, Gregory, Iyad, Ludivine, Sybrie et Julien ainsi que tous ceux que je n'ai pas cité par oubli. Pour les extérieurs je remercie Florence, Guy, François, Kaïss, David, Nicolas et Cédric.

J'aimerais aussi remercier mes principaux amis : Adrien (dit momo), Christophe (le negro), Mathieu (the roux), Arnaud (mon collègue de Nantes et de l'UNI), Julien, Habib, Mohamed, Eric (pour son soutien), Jean-Charles et Philippe le Corse pour leurs nombreux conseils, Eun-Ang (l'allemande de Salford), Charlotte (chacha), et Alexandra (mouk).

Je remercie bien évidemment et avant tout mes parents et mes grands-parents pour m'avoir soutenu, aimé et permis de faire ces longues études qui je l'espère seront payantes. Merci de m'avoir fait confiance et j'espère avoir pu faire votre fierté.

Résumé

L'objectif de cette thèse repose sur la synthèse de tétrahydroisoquinoléines, de (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléines et de systèmes polycycliques de type pipérazine communs aux ecteinascidines et phthalascidines, afin d'en évaluer les propriétés biologiques.

Nous nous sommes tout d'abord familiarisés à la synthèse de tétrahydroisoquinoléines incorporant des structures hétérocycliques. Cette méthode a été adaptée à la préparation d'intermédiaires synthétiques de type (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléine. Ces composés ont servi de plateforme à la synthèse des pipérazines polycycliques recherchées. Les propriétés biologiques de ces composés ont été étudiées par le biais d'une collaboration avec le « Centre for Molecular Drug Design » de l'Université de Salford (Grande-Bretagne) sous la supervision du Professeure Sylvie Ducki.

Pour la synthèse de dérivés des ecteinascidines, nous avons également étudié une nouvelle méthode de fonctionnalisation des positions benzyliques afin d'incorporer des fonctions soufrées nécessaires à la construction de ces alcaloïdes. Cette méthode a été développée sur un substrat modèle obtenu à partir de la L-DOPA par Substitution Nucléophile Oxydante (S_NOx) en présence du réactif 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone.

Enfin, nous avons réalisé la synthèse de précurseurs hautement fonctionnalisés nécessaires à la synthèse des phthalascidines. La synthèse de précurseurs de type α -amino-alcool a été réalisée à partir de deux composés aromatiques commerciaux : le sésamol et le 3-méthylcathécol. Ces intermédiaires ont été envisagés dans la séquence réactionnelle mise au point préalablement et permettant d'accéder à la phthalascidine 650.

Abstract

This manuscript describes the synthesis and biological evaluation of tetrahydroisoquinolines, (1,3')-bis-tetrahydroisoquinolines, and polycyclic piperazine systems contained in the ecteinascidin and phthalascidin families.

First, we studied the synthesis of tetrahydroisoquinolines incorporating heterocyclic structures in order to apply this method to the synthesis of (1,3')-bis-tetrahydroisoquinolines as synthetic intermediates for polycyclic piperazine systems. The inhibition of cancer cell proliferation and the mode of action of these compounds were assessed in collaboration with the "Centre for Molecular Drug Design" (University of Salford, United Kingdom) under the supervision of Professor Sylvie Ducki.

Second, we explored a new synthetic approach concerning the synthesis of ecteinascidin derivatives through oxidative nucleophilic substitution. This method was developed from an L-DOPA derivative by substitution of the benzylic position in presence of the oxidizing agent 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone.

Finally, we realized the synthesis of fully functionalized α -amino-alcohols as synthetic precursors for the preparation of phthalascidin analogues, from two available commercial compounds, in order to assess the biological properties of our compounds.

Liste des abréviations

AcOH : acide acétique
AcOEt : acétate d'éthyle
ADN : acide désoxyribonucléique
AIBN : azobisisobutyronitrile
Alloc : Allyloxycarbonyle
APTS : acide *para*-toluènesulfonique
Ar : aryle
Ax : axial
ARN : acide ribonucléique
Bn : benzyle
Bs : brosyl
t-Boc : *tert*-butyloxycarbonyle
BHT : 2,6-di-*tert*-butyl-4-méthylphénol
Bu : butyle
Cbz : benzyloxycarbonyle
cat. : catalytique
CCM : chromatographie sur couche mince
CDI : *N,N'*-carbonyldiimidazole
CI₅₀ : Concentration d'inhibition à 50 %
CIP : 2-chloro-1,3-diméthylimidazolidinium hexafluorophosphate
CMI : concentration minimale inhibitrice
DBU : 1,8-diaza-bicyclo[5.4.0]undec-7-ene
DCC : dicyclohexyle carbodiimide
DIBAL-H : hydrure de di-*iso*-butylaluminium
DABCO : 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane
DDQ : 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone
DMAP : 4-diméthylaminopyridine
DMDO : diméthylidioxirane
DME : 1,2-diméthoxyéthane
DMF : *N,N*-diméthylformamide
DMSO : diméthylsulfoxyde
DPPA : azoture de diphénylphosphoryle
ESI : ionisation électrospray
EOM : éthoxyméthyle
EWG : groupement électroattracteur
éq : équatorial
équiv : équivalent
Et : ecteinascidine
FABMS : fast atom bombardment mass spectrometry
FDPP : pentafluorophényl diphénylphosphinate
HMBC : heteronuclear multiple bond correlation
HOAt : 7-aza-1-hydroxybenzotriazole
HOBt : 1-hydroxybenzotriazole
HRMS : spectrométrie de masse haute résolution
HPLC : chromatographie liquide haute performance
HSQC : Heteronuclear Single Quantum Correlation
LC : chromatographie liquide

LDA : di-*iso*-propyl amidure de lithium
L-DOPA : L-3,4-dihydroxyphénylalanine
m-CPBA : acide métachloroperbenzoïque
MOM : méthoxyméthyl
NMO : *N*-méthylmorpholine oxyde
NOESY : Nuclear Overhauser Spectrométrie
QAD : dérivé de l'acide quinaldique
MS : spectrométrie de masse
MTT : 3-(4',5'-diméthylthiazol-2'-yl)-2,5-diphényltétrazolium
o- : *ortho*-
p- : *para*-
Ph : phényle
Phth : phthalimido
Pr : propyle
Pt : phthalascidine
PyBop : benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate
Rdt : rendement
RMN : résonance magnétique nucléaire
(PhSeO)₂O : anhydride phénylsélenique
S_NOx : substitution nucléophile oxydante
t. a. : température ambiante
TBAF : fluorure de tétrabutyl ammonium
TBDMS : *tert*-butyldiméthylsilyle
T/C : temps/concentration
TFA : acide trifluoroacétique
THF : tétrahydrofurane
TMS : triméthylsilyle
Tf : triflate (trifluorométhanesulfonyle)
Troc : [(2,2,2-trichloroéthyl)oxy]carbonyle

SOMMAIRE

| | |
|--|----|
| Introduction générale..... | 1 |
| Chapitre 1 : Introduction du sujet de recherche | 5 |
| 1.1. Bibliographie des antitumoraux de type tétrahydroisoquinoléine..... | 5 |
| 1.2. Isolement et détermination structurale de l'ecteinascidine 743 | 7 |
| 1.3. Biosynthèse | 10 |
| 1.4. Propriétés et activités biologiques des ecteinascidines et phthalascidines..... | 11 |
| 1.4.1. Les ecteinascidines | 11 |
| 1.4.2. Les phthalascidines | 14 |
| 1.5. Synthèse totale et études synthétiques | 15 |
| 1.5.1. Synthèse totale de Corey de l'ecteinascidine 743 | 16 |
| 1.5.2. Synthèse totale de Fukuyama | 17 |
| 1.5.3. Synthèse totale de Zhu | 18 |
| 1.5.4. Approche synthétique par hémisynthèse de Cuevas et Manzanares | 19 |
| 1.5.5. Synthèse formelle de Danishefsky | 20 |
| Chapitre 2 : Synthèse de systèmes pipérazines pentacycliques | 25 |
| 2.1. Objectifs et rétrosynthèse envisagée | 25 |
| 2.2. Bibliographie et méthodes de synthèse des tétrahydroisoquinoléines | 27 |
| 2.2.1. Généralités | 27 |
| 2.2.2. Réaction de Pictet-Spengler | 28 |
| 2.2.3. Réaction de Bischler-Napieralski..... | 30 |
| 2.2.4. Réaction de Pomeranz-Fritsch..... | 32 |
| 2.2.5. Cyclisation intramoléculaire en présence de Palladium | 33 |
| 2.2.6. Cyclisation radicalaire..... | 35 |
| 2.2.7. Synthèse de tétrahydroisoquinoléines par amino-condensation..... | 35 |
| 2.2.8. Addition nucléophile intramoléculaire de type aza-Michaël | 36 |
| 2.2.9. Synthèse de 8-hydroxytétrahydroisoquinoléines catalysée par l'or | 36 |
| 2.3. Synthèse de tétrahydroisoquinoléines par réaction de Pictet-Spengler..... | 37 |
| 2.3.1. Synthèse de tétrahydroisoquinoléines sous forme racémique | 37 |
| 2.3.2. Contrôle de la diastéréosélectivité de la réaction de Pictet-Spengler | 39 |
| 2.3.3. Caractérisation structurale des tétrahydroisoquinoléines synthétisées..... | 42 |
| 2.3.4. Conclusion..... | 44 |
| 2.4. Synthèse de systèmes pentacycliques de type pipérazine | 45 |

| | |
|--|-----|
| 2.4.1. Synthèse des précurseurs de type (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléine | 45 |
| 2.4.2. Synthèse des systèmes pentacycliques et élucidation structurale | 47 |
| 2.4.3. Evaluation des propriétés antiprolifératives des composés synthétisés..... | 54 |
| 2.4.4. Etude de l'influence de nos composés sur le cycle cellulaire | 58 |
| 2.4.5. Conclusion..... | 61 |
| 2.5. Experimental section of Chapter 2 | 61 |
| 2.5.1. Chemistry | 61 |
| 2.5.2. Biology | 85 |
| Chapitre 3 : Substitution Nucléophile Oxydante ($S_N O_x$) de positions benzyliques | 87 |
| 3.1. Introduction | 87 |
| 3.2. Synthèse d'un précurseur chimiocompatible avec les conditions d'oxydation..... | 92 |
| 3.3. Développement des conditions de substitution nucléophile oxydante..... | 93 |
| 3.3.1. Oxydation benzylique par des acides carboxyliques..... | 93 |
| 3.3.2. Détermination des structures | 95 |
| 3.4. Synthèse de tétrahydroisoquinoléines par substitution nucléophile oxydante | 97 |
| 3.4.1. Synthèse par coupure oxydante de doubles liaisons | 97 |
| 3.4.2. Cyclisation intramoléculaire par $S_N O_x$ | 98 |
| 3.4.3. Incorporation directe d'une fonction cétone en position benzylique | 99 |
| 3.4.4. Synthèse de dérivés α -amino-alcool fonctionnalisés en position benzylique | 100 |
| 3.4.5. Introduction d'un dérivé soufré en position benzylique par S_N | 103 |
| 3.4.6. Tentative d'épimérisation de la position C-1 | 105 |
| 3.4.7. Conclusion..... | 106 |
| 3.5. Experimental section of chapter 3 | 107 |
| Chapitre 4 : Vers une nouvelle approche synthétique..... | 125 |
| de la Phthalascidine 650..... | 125 |
| 4.1. Introduction | 125 |
| 4.2. Synthèse des précurseurs α -amino-alcools à partir de deux composés commerciaux | 128 |
| 4.2.1. Synthèse du précurseur α -amino-alcool à partir du sésamol..... | 128 |
| 4.2.2. Synthèse du précurseur α -amino-alcool à partir du 3-méthylcatéchol | 129 |
| 4.2.3. Synthèse d'un dérivé de type phthalimide à partir de 86..... | 130 |
| 4.3. Conclusion..... | 133 |
| 4.4. Experimental section of chapter 4 | 133 |
| Conclusion générale | 145 |

Introduction générale

Les substances naturelles d'origine marine n'ont cessé de susciter un intérêt grandissant au cours de ces dernières années.¹ En effet, la plus grande partie de la biodiversité se trouve dans les océans et représente 34 des 36 phyla existants.² Les organismes marins produisent des métabolites secondaires qui jouent un rôle essentiel dans plusieurs domaines : défense contre la prédation, compétition pour l'espace, colonisation des surfaces, séduction pour la reproduction.

Ainsi, plus de douze mille métabolites secondaires d'origine marine ont été recensés au cours de ces trente dernières années. Parmi ces composés découverts essentiellement chez les invertébrés marins, certains sont actuellement en cours de développement préclinique et clinique. La capacité à synthétiser des substances chimiques vitales est particulièrement développée chez les animaux sessiles (directement implantés sur une tige) ou les animaux à faible mobilité. Les invertébrés marins fixés (tels que les coraux, les éponges et les ascidies), ont recours principalement aux « armes chimiques » pour se protéger d'éventuelles agressions en l'absence d'autres moyens de défenses (épines, coquilles, camouflage). Ces individus fixés qui sont munis de moyens chimiques de défense sont parmi les plus recherchés pour la détection d'activités biologiques.

Après une trentaine d'années d'exploration des fonds marins à la recherche des « médicaments de demain », le bilan peut être considéré comme satisfaisant dans la mesure où ces recherches ont abouti à la découverte d'une vingtaine de molécules prometteuses. En effet, ces composés sont actuellement en stade de développement clinique avancé et sont en mesure de donner lieu à de nouveaux médicaments dans les toutes prochaines années.

L'un des principaux problèmes pour l'obtention de ces composés est généralement lié à la disponibilité biologique. En effet, les essais cliniques requièrent l'obtention de centaines de grammes du composé actif. Ceci pose problème dans le cas où le composé ne peut être obtenu par synthèse et représente un frein au développement d'un médicament de la mer.

¹ (a) Banaigs, B.; Kornprobst, J. M. *L'actualité chimique*, **2007**, 306, 7 ; (b) Proksch, P.; Edrada-Ebel R.; Ebel R. *Mar. Drugs* **2003**, 1, 5.

² En zoologie, l'embranchement (ou phyla) est le deuxième niveau de classification classique (c'est-à-dire n'utilisant pas la notion de distance génétique) des espèces vivantes.

L'aplidineTM, pseudopeptide cyclique isolé d'une ascidie, est produite actuellement par synthèse organique, ce qui devrait faciliter son développement (Figure 1). Actuellement en phase II des essais cliniques, cette molécule est dorénavant déjà déclarée médicament d'une «maladie orpheline» dans le traitement de la leucémie lymphoblastique aigüe en 2003.³ Sa synthèse chimique représente une voie idéale pour l'industrie pharmaceutique si elle est réalisée à un coût raisonnable. Pourtant ceci n'est pas toujours le cas lorsque les modèles naturels sont trop complexes pour être obtenus raisonnablement par synthèse. De tels exemples sont nombreux et parmi eux se trouvent la bryostatine-1 et l'ecteinascidine 743 (YondelisTM), deux antitumoraux particulièrement prometteurs. Les concentrations très faibles de ces composés dans la source naturelle limitent leur extraction à grande échelle.⁴ La récolte à petite échelle en milieu naturel a cependant permis d'effectuer les essais cliniques de ces composés.

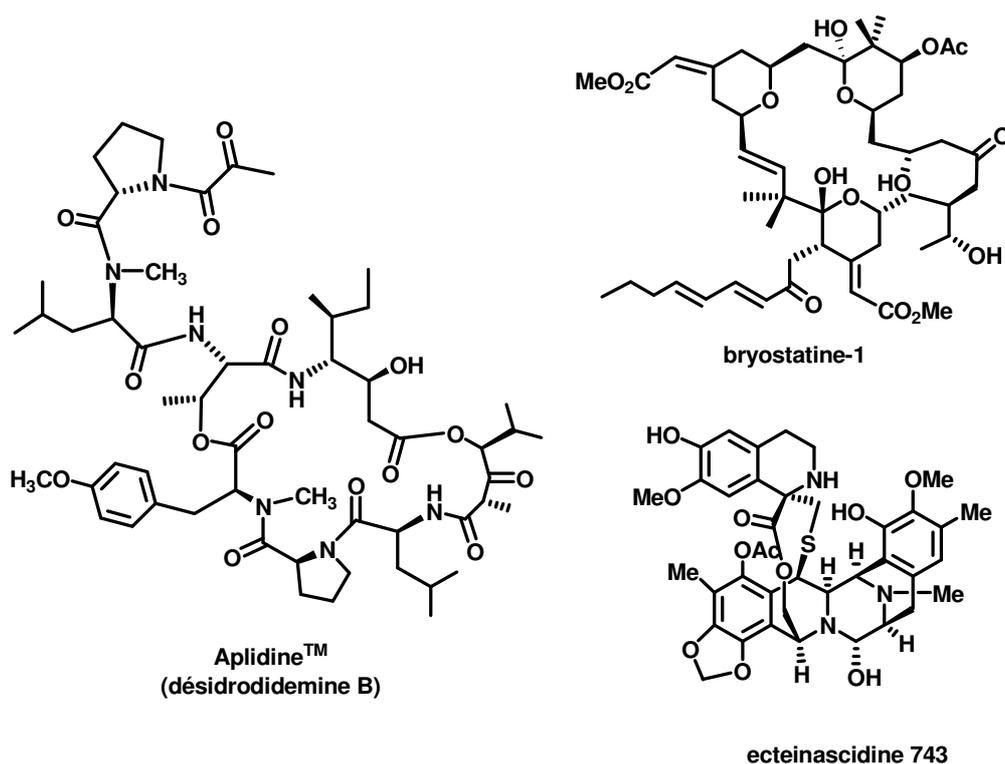


Figure 1. Composés faisant l'objet d'études cliniques.

³ Un médicament d'une « maladie orpheline » est utilisé pour des maladies affectant au plus 1 personnes sur 2000 (critère de l'union européenne).

⁴ La préparation d'un gramme de bryostatine-1 nécessite 12.6 tonnes du bryozaire *Bugula neritina* il faut environ une tonne d'ascidie *Ecteinascidia turbinata* pour obtenir un gramme d'ecteinascidine 743.

Grâce au développement de l'aquaculture, le prélèvement et l'extraction d'échantillons en quantité conséquente ont permis des essais cliniques de l'ecteinascidine 743. En vue d'une probable commercialisation, ce composé est maintenant produit par hémisynthèse par la société PharmaMar. Plus récemment, l'équipe du Docteur Zhu de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles du CNRS de Gif-sur-Yvette a réalisé une synthèse totale, apportant ainsi une solution alternative au problème de production de ce composé à grande échelle.⁵

Dans des cas plus extrêmes, la disponibilité biologique est insuffisante pour permettre les essais précliniques et seule la synthèse totale ou bien d'autres procédés (hémisynthèse, aquaculture) permettent la réalisation des études précliniques. Ceci est illustré par l'homohalichondrine B isolée d'une éponge rarissime de Nouvelle-Zélande qui possède d'excellentes propriétés antitumorales. L'isohomohalichondrine B, légèrement moins active mais plus accessible par synthèse, est en phase I des essais cliniques.

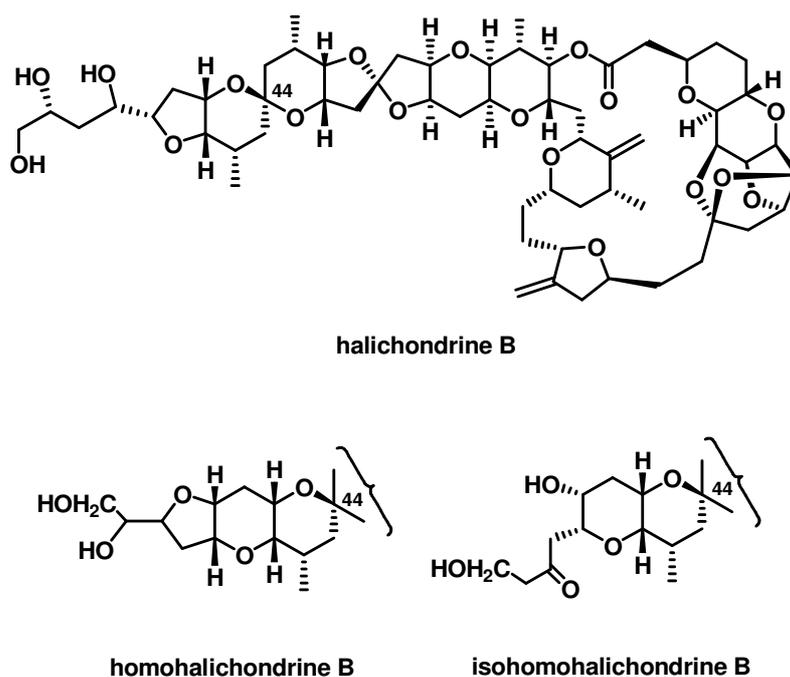


Figure 2. Classe des produits naturels de type halichondrine.

A partir de ces différentes observations, il nous semble essentiel de développer de nouvelles voies d'accès pour la synthèse de substances naturelles complexes aussi bien pour remédier

⁵ Chen, J.; Chen, X.; Bois-Choussy, M.; Zhu, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 87.

Introduction générale

aux problèmes liés à l'extraction des composés que pour préparer des analogues structuraux disposant de propriétés biologiques similaires à la substance naturelle.

Dans le cadre de cet exercice, nous nous sommes intéressés à la synthèse d'analogues contenant un système pipérazine de la famille des ecteinascidines, ainsi qu'à de nouvelles voies d'accès à ces composés. Ces analogues structuraux seront ensuite testés afin d'en évaluer leur propriétés biologiques.

Dans la première partie de ce mémoire, nous présenterons une étude bibliographique détaillée concernant les antitumoraux de type tétrahydroisoquinoléine et plus particulièrement l'exteinascidine 743, ses propriétés biologiques et ses différentes voies de synthèse connues.

Une deuxième partie sera consacrée à la synthèse et aux propriétés biologiques de systèmes pipérazines, architecture pentacyclique simplifiée des ecteinascidines.

La position benzylique de la partie « ouest » de la molécule étant nécessairement substituée, nous discuterons dans une troisième partie, l'utilisation de la DDQ pour la préparation de différents systèmes fonctionnalisés.

Enfin, dans une quatrième partie, nous aborderons une stratégie originale de synthèse de la phthalascidine 650.

Chapitre 1 : Introduction du sujet de recherche

1.1. Bibliographie des antitumoraux de type tétrahydroisoquinoléine

Au cours des trente dernières années, l'activité anticancéreuse des produits de la famille des tétrahydroisoquinoléines polycycliques a été largement étudiée dans le cadre de la recherche de candidats médicaments. Ces molécules sont des agents cytotoxiques qui interviennent dans l'activité antitumorale et antibactérienne et qui comportent aussi d'autres propriétés biologiques dépendantes de leur structure. Le premier alcaloïde isolé de cette famille fut la naphthyridinomycine en 1974.⁶ Parmi les méthodes de production de ces molécules figurent naturellement l'aquaculture, l'hémisynthèse, mais aussi la synthèse totale. 55 substances naturelles faisant partie de cette famille d'alcaloïdes ont ainsi été répertoriées.

L'étude de leurs propriétés biologiques ainsi que leur synthèse représentent depuis, une priorité de plusieurs groupes de recherche et ont fait l'objet de la rédaction d'une revue par Williams et Scott en 2002.⁷ Parmi ces agents cytotoxiques puissants, les saframycines et renieramycines, les safracines, les naphthyridinomycines, les ecteinascidines, les quinocarcines, la tétrazomine et la lémonomycine sont les plus étudiées (Figure 1).⁷ L'un des plus intéressants, l'ecteinascidine 743 (**1**, Et 743), est isolé du tunicier *Ecteinascidia turbinata* localisé en mer des caraïbes (Figure 2). Il comporte des activités antibiotiques et antitumorales actuellement en phase II et III d'études cliniques pour le traitement de plusieurs cancers humains (poumons, prostate, ovaire, colon, mélanome).⁸ Ce composé est un alcaloïde polycyclique à sept centres asymétriques contenant trois motifs tétrahydroisoquinoléines. Il a été isolé pour la première fois par Rinehart et son équipe en 1986.⁹

La source naturelle de l'Et 743 (**1**) n'étant pas assez abondante, ce composé est actuellement obtenu par aquaculture (200g/an à partir de 200 tonnes d'*Ecteinascidia turbinata*),¹⁰ par

⁶ (a) Sygusch, J.; Brisse, F.; Hanessian, S.; Kluepfel, D. *Tetrahedron Lett.* **1974**, *46*, 4021. (b) Kluepfel, D.; Baker, H. A.; Piattoni, G.; Sehgal, S. N.; Sidorowicz, A.; Singh, K.; Vezina, C. *J. Antibiot.* **1975**, *28*, 497. (c) Sygusch, J.; Brisse, F.; Hanessian, S. *Acta Crystallogr.* **1976**, *B32*, 1139.

⁷ Scott, J.; Williams, R. M. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 1669.

⁸ (a) Izibcka, E.; Lawrence, R.; Raymond, E.; Eckhardt, G.; Faircloth, G.; Jimeno, J.; Clark, G.; Von Hoff, D. D. *Ann. Oncol.* **1998**, *9*, 981; (b) Ghielmini, M.; Colli, E.; Erba, E.; Bergamasci, D.; Pampallona, S.; Jimeno, J.; Faircloth, G.; Sessa, C. *Ann. Oncol.* **1998**, *9*, 989; (c) Jin, S.; Gorfajin, B.; Faircloth, G.; Scotto, K. W. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2000**, *97*, 6775; (d) Ryan, D. P.; Supko, J. G.; Eder, J. P.; Seiden, M. V.; Demetri, G.; Lynch, T. J.; Fischman, A. J.; D; Davis, J.; Jimeno, J.; Clark, J. W. *Clin. Cancer Res.* **2001**, *7*, 231; (e) Takashi, N.; Li, W.; Banerjee, D.; Guan, Y.; Wada-Takahashi, Y.; Brennan, M. F.; Chou, T. C.; Scotto, K. W.; Bertino, J. R. *Cancer Res.* **2002**, *62*, 6909; (f) Aune G. J.; Furuta T.; Pommier Y. *Anti-Cancer Drugs* **2002**, *13*, 545. (g) Blay, J. Y.; Le Cesne, A.; Verweij, J.; Scurr, M.; Seynaeve, C.; Bonvalot, S.; Hogendoorn, P.; Jimeno, J.; Evrard, V.; van Glabbeke, M.; Judson I. *Eur. J. Cancer* **2004**, *40*, 1327; (h) Zelek, L.; Yovine, A.; Brain, E.; Turpin, F.; Taamma, A.; Riofrio, M.; Spielman, M.; Jimeno, J.; Misset, J. L. *Br. J. Cancer* **2006**, *94*, 1610.

⁹ (a) Holt, T. G. Ph. D. Dissertation, University of Illinois, Urbana, 1986; (b) Holt, T. G. *Chem. Abstr.* **1987**, *106*, 193149u.

¹⁰ (a) <http://www.marinebiotech.org/altsource.html>; (b) <http://www.pharmamar.com/en/pipeline/>; (c) Mendola, D. In *Drugs from the sea*; Fuestani, N., Ed.; Karger, Basel, **2000**, p. 120.

synthèse totale¹¹ ou par héli-synthèse¹² pour permettre les études cliniques. Plus récemment, un analogue structural, la phthalascidine 650, composé synthétique,¹³ a montré une activité comparable à l'Et 743, démontrant ainsi l'intérêt de ne pas se limiter à la seule synthèse des composés d'origine naturelle mais de rechercher et tester de nouveaux analogues potentiellement plus performants.

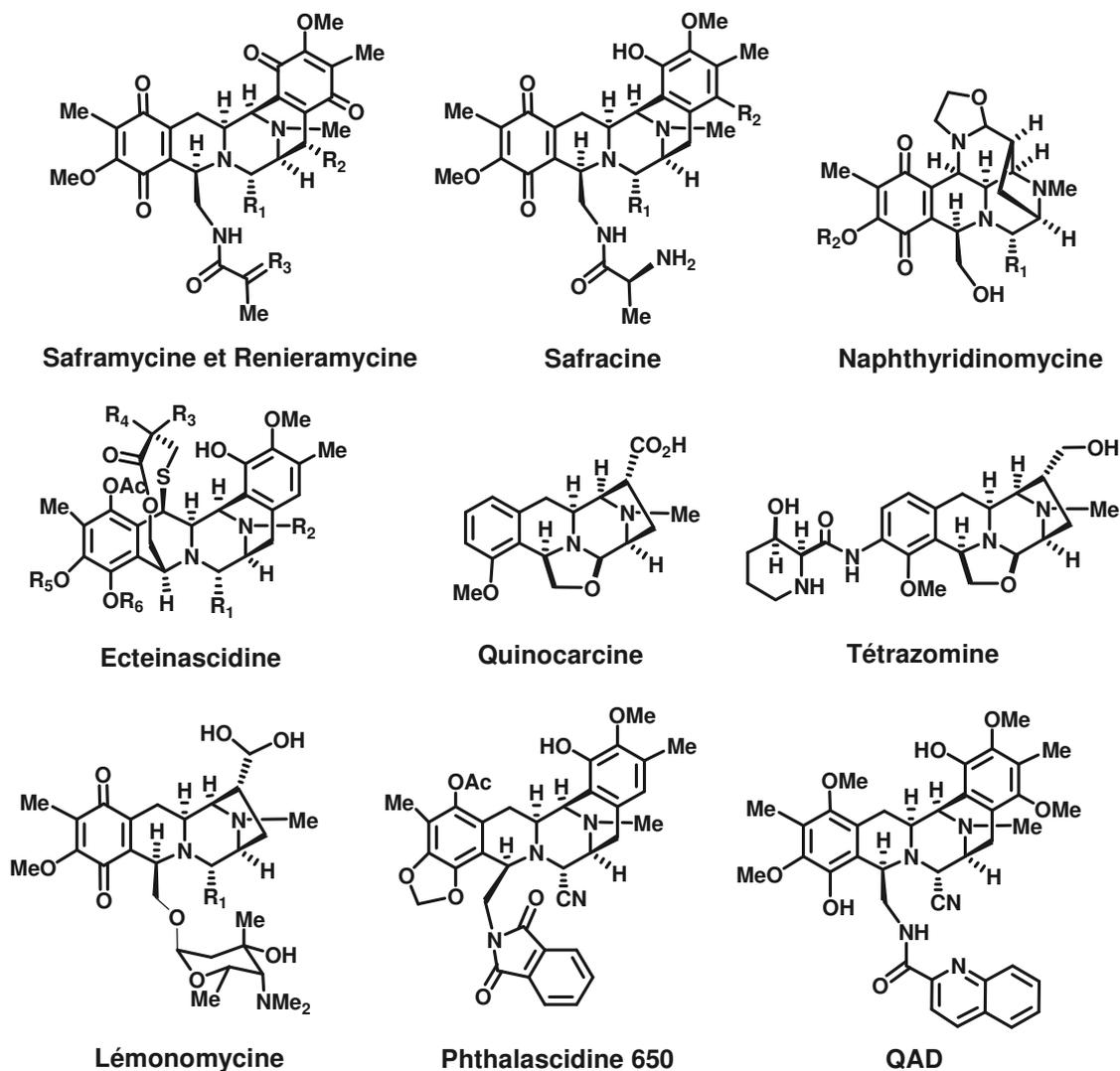


Figure 3. Famille des tétrahydroisoquinoléines.

¹¹ (a) Corey, E. J.; Gin, D. Y.; Kania, R. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9202; (b) Martinez E. J.; Corey, E. J. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 993; (c) Endo, A.; Kann, T.; Fukuyama, T. *Synlett* **1999**, 1103; (d) Endo, A.; Yanagisawa, A.; Abe, M.; Tohma, S.; Kan, T.; Fukuyama, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 6552; (e) De Paolis, M.; Chiaroni, A.; Zhu, J. *Chem. Commun.* **2003**, 2896. (f) De Paolis, M.; Chen, X.; Zhu, J. *Synlett* **2004**, 729-731. (g) Chen, X.; Chen, J.; De Paolis, M.; Zhu, J. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4397. (h) Zheng, S.; Chan, C.; Furuuchi, T.; Wright, B. J. D.; Zhou, B.; Guo, J.; Danishefsky, S. *J. Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1754.

¹² a) Cuevas, C.; Pérez, M.; Martín, M. J.; Chicharro, J. L.; Fernández-Rivas, C.; Flores, M.; Francesch, A.; Gallego, P.; Zarzuelo, M.; de la Calle, F.; García, J.; Polanco, C.; Rodríguez, I.; Manzanares, I. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2545; b) R. Menchaca, V. Martínez, A. Rodríguez, N. Rodríguez, M. Flores, P. Gallego, I. Manzanares, C. Cuevas, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 8859.

¹³ (a) Martinez, E. J.; Owa, T.; Schreiber, S. L.; Corey, E. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1999**, *96*, 3496; (b) Martinez, E. J.; Corey, E. J.; Owa, T. *Chem. Biol.* **2001**, *8*, 1151.

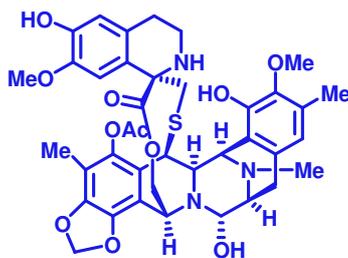


Figure 4. Et 743 (1).

Depuis cette découverte, l'intérêt pour l'activité biologique de ces structures a considérablement augmenté par le biais d'une littérature extrêmement riche concernant la synthèse et l'évaluation biologique d'analogues contenant ces systèmes pipérazines.¹⁴ Le groupe de Myers a reporté très certainement la méthode la plus efficace de production de dizaines d'analogues (plus de 70) grâce au développement de la chimie sur support solide, conduisant notamment à la synthèse de composés de type QAD, dont les propriétés d'inhibition de prolifération de cellules cancéreuses humaines sont les meilleurs à ce jour.^{14a-b}

1.2. Isolement et détermination structurale de l'ecteinascidine 743

Des activités antitumorales *in vivo* d'extraits éthanoliques des ascidies coloniales *Ecteinascidia turbinata* ont pour la première fois été décrites par l'équipe de Sigel en 1969.¹⁵ L'isolement des ecteinascidines, à partir d'invertébrés marins tropicaux, fut reporté par l'équipe de Rinehart en 1986⁹ et publié en 1990.¹⁶ Dans cet article, l'isolement de six ecteinascidines incluant l'Et 729 (2), 743 (1), 745 (3), 759A, 759B (4), et 770 (5) est reporté (Figure 5).^{16a} Le procédé d'isolement de ces six composés repose sur une extraction dans un

¹⁴ (a) Myers, A. G.; Lanman, B. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12969; (b) Myers, A. G.; Plowright, A. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5114; (c) Plowright, A. T.; Schaus, S. E.; Myers, A. G. *Chem. Biol.* **2002**, *9*, 607. (d) Ong, C. W.; Chang, Y. A.; Wu, J.-W.; Cheng, C.-C. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8245; (e) Lane, J. W.; Chen, Y.; Williams, R. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12684; (f) Lane, J. W.; Estevez, A.; Mortara, K.; Callan, O.; Spencer, J. R.; Williams, R. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 3180; (g) Tang, Y.-F.; Liu, Z.-Z.; Chen, S.-Z. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 7091; (h) Liu, Z.-Z.; Wang, Y.; Tang, Y.-F.; Chen, S.-Z.; Chen, X.-G.; Li, H.-Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 1282; (i) González, J. F.; Salazar L.; de la Cuesta E.; Avendaño C. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7447; (j) González, J. F.; de la Cuesta E.; Avendaño C. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 112; (k) Ceballos, P. A.; Pérez, M.; Cuevas, C.; Francesch, A.; Manzanares, I.; Echavarren, A. M. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 1926; (l) Puthongking, P.; Patarapanich, C.; Amnuoyopol, S.; Suwanborirux, K.; Kubo, A.; Saito, N. *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, *54*, 1010; (m) Koizumi Y.-I.; Inamura, K.-I.; Kubo, A.; Saito, N. *Heterocycles* **2006**, *70*, 477; (n) Gomez-Monterey, I. M.; Campiglia, P.; Bertamino, A.; Mazzoni, O.; Diurno, M. V.; Novellino, E.; Grieco, P. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 8083; (o) Veerman, J. J. N.; Bon, R. S.; Hue, B. T. B.; Girones, D.; Rutjes F. P. J. T.; van Maarseveen, J. H.; Hiemstra, H. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4486.

¹⁵ Sigel, M. M.; Wellham, L. L.; Lichter, W.; Dudeck, L. E.; Gargus, J. L.; Lucas, L. H.; Dans Food-drugs from the Sea, Proceedings, 1969; Yougken, H. W. Edition, Marine Technology Society, Washington DC, 1970, pp 281.

¹⁶ (a) Rinehart, K. L.; Holt, T. G.; Fregeau, N. L.; Keifer, P. A.; Sun, F.; Li, H.; Martin, D. G. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4512; (b) Rinehart, K. L.; Holt, T. G.; Fregeau, N. L.; Keifer, P. A.; Sun, F.; Li, H.; Martin, D. G. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 1676; (c) Rinehart, K. L.; Holt, T. G.; Fregeau, N. L.; Keifer, P. A.; Wilson, G. R.; Perun, T. J., Jr; Sakai, R.; Thompson, A. G.; Stroh, J. G.; Shield, L. S.; Seigler D. S. *J. Nat. Prod.* **1990**, *53*, 771.

mélange méthanol/toluène (3 : 1) et une partition successive de l'extrait avec du toluène, de l'acétate d'éthyle et du *n*-butanol avec des rendements compris entre 1.10^{-4} et 1.10^{-5} %.^{16c} L'élucidation de la structure et de la stéréochimie des ecteinascidines 729 et 743 ont été reportées simultanément par Rinehart^{16a,b} et Wright.¹⁷ Les structures ont été déterminées par des études RMN et par spectrométrie de masse. En 1992, Rinehart publia l'isolement des ecteinascidines 722 (6), 736 (7) et 743 N-oxyde en position 12 (8).^{18a} Les structures cristallines de l'oxyde d'amine de l'Et 743 (8) et de l'Et 729 (9), l'un des dérivés synthétiques, ont aussi été obtenues confirmant l'architecture des ecteinascidines.¹⁸ Quatre précurseurs biosynthétiques présumés (Et 594 (10), Et 597 (11), Et 583 (12), Et 596 (13)) ont aussi été isolés en 1996 par l'équipe de Rinehart (Figure 5).¹⁹ Dans cette publication, la stéréochimie absolue des ecteinascidines a été déterminée par les méthodes spectroscopiques classiques (spectrométrie de masse et RMN) mais aussi à partir de l'élucidation structurale d'un dérivé cystéinique trifluoroacétylé, obtenu par clivage du macrocycle à dix chaîons de l'Et 597. Plus récemment, l'équipe de Saito a isolé d'un tunicier Thaïlandais découvert au large des îles de Phuket, *Ecteinascidia thurstoni* Herdman 1891, les ecteinascidines 770 (5) et 786 (14). Ces dernières ont été obtenues par addition de cyanure de potassium aux extraits de ce tunicier. L'Et 770 fut isolée en faible quantité, alors que l'Et 786 est l'analogue nitrile de l'Et 759B.²⁰

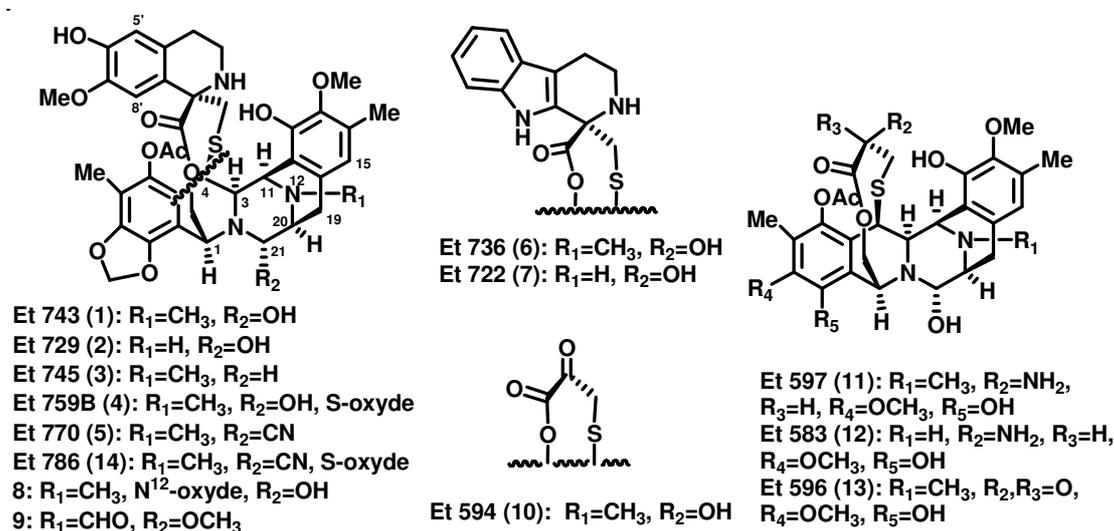


Figure 5. Famille des ecteinascidines.

¹⁷ Wright, A. E.; Forleo, D. A.; Gunawardana, G. P.; Gunasekera, S. P.; Koehn, F. E.; McConnel, O. J.; *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4508.

¹⁸ (a) Sakai, R.; Rinehart, K. L.; Guan, Y.; Wang, A. H.-J. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **1992**, *89*, 11456; (b) Guan, Y.; Sakai, R.; Rinehart, K. L.; Wang, A. H.-J. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **1993**, *10*, 793.

¹⁹ Sakai, R.; Jares-Erijaman, E.; Manzanares, I.; Elipe, M. V.; Rinehart, K. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9017.

²⁰ Suwanboriux, K.; Chapurant, K.; Amnuoyopol, S.; Pummangura, S.; Kubo, A.; Saito, N. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 935.

L'hypothèse structurale de l'Et 743, issue des travaux de Rinehart¹⁶ et Wright¹⁷ en 1990 fut confirmée par cristallographie en 1992.^{18a} L'ecteinascidine 743 est un alcaloïde comportant trois tétrahydroisoquinoléines reliées par un système pipérazine et un macrocycle cystéinique à dix chaînons, ce dernier étant relié à une des trois tétrahydroisoquinoléines par un carbone quaternaire asymétrique. Ce composé comporte sept centres asymétriques, trois atomes d'azote et neuf cycles. En ce qui concerne l'isolement de l'Et 743, la chromatographie centrifuge à contre-courant²¹ est une méthode de choix en comparaison des chromatographies en phase normale ou inverse. Cette méthode a permis l'évaluation biologique des différentes fractions recueillies à partir de la culture du tissu cellulaire CV-1.^{16c} L'évaluation biologique préliminaire des ecteinascidines sur les lignées cellulaires L1210 et P388 fut aussi réalisée par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse (LC/FABMS).^{16c,22} Les différentes analyses de spectrométrie de masse et de RMN ont permis la caractérisation complète des différentes ecteinascidines initialement isolées (Figure 6).^{16,17} L'Et 743 possède un pouvoir rotatoire $[\alpha]_D^{25} = +114$ ($c = 0,1$; CH₃OH) et une formule brute C₃₉H₄₃N₃O₁₁S déterminée par spectrométrie de masse (HRMS-FAB). Le spectre RMN du proton est caractérisé de quelques signaux typiques des protons H-1 (s large, 4,80 ppm), H-3 (d large, 3,56 ppm, $J=4,9$ Hz), H-4 (s large, 4,46 ppm), H-11 (d, 4,47 ppm, $J=3,0$ Hz) et H-21 (d, 4,15 ppm, $J=4,0$ Hz).

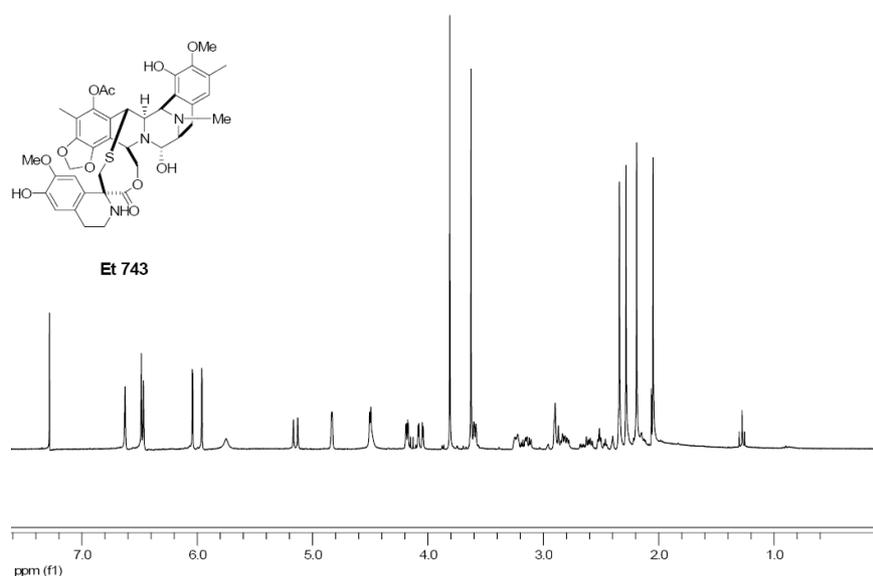


Figure 6. Spectre RMN du proton ¹H de l'ecteinascidine 743 (1).^{5,23}

²¹ (a) Ito, Y. *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.* **1986**, 17, 65; (b) Ito, Y.; Sandlin, J.; Bowers, W. G. *J. Chromatogr.* **1982**, 244, 247.

²² (a) Stroth, J. G.; Cook, J. C.; Milberg, R. M.; Brayton, L.; Kihara, T.; Huang, Z.; Rinehart Jr., K. L.; Lewis, I. A. S. *Anal. Chem.* **1985**, 57, 985; (b) Stroth, J. G.; Cook, J. C.; Rinehart Jr., K. L. *Adv. Mass Spectrom.* **1986**, 10B, 625.

²³ Copyright fournit par l'American Chemical Society.

La formation et la fermeture du cycle à dix chaînons, la formation de la troisième et dernière tétrahydroisoquinoléine, la transamination, l'oxydation, puis une condensation de Pictet-Spengler constitueraient les dernières étapes du schéma biosynthétique.

1.4. Propriétés et activités biologiques des ecteinascidines et phthalascidines

1.4.1. Les ecteinascidines

Les ecteinascidines possèdent les activités biologiques les plus prometteuses en comparaison des autres tétrahydroisoquinoléines de cette famille d'antitumoraux. Le mode d'action unique de l'Et 743 en fait un composé d'intérêt majeur dans cette classe d'agents antitumoraux. Des activités remarquables vis-à-vis de plusieurs lignées cellulaires *in vitro* et de tumeurs humaines *in vivo*, de l'ordre du nanomolaire, ont donné lieu à des études cliniques actuellement avancées en phase II/III en Europe et aux Etats-Unis pour les cancers des ovaires, du sein, de l'endomètre, et de la prostate.^{8,27} Les propriétés biologiques des Et 743, 729, 597, 583 et 594 incluant leur activité cytotoxique, antimétabolique, enzymatique et antimicrobienne sont résumées dans le Tableau 1.¹⁹ Les ecteinascidines qui ne comportent pas la tétrahydroisoquinoléine de la partie supérieure (Et 594, 597, 583) sont généralement 10 à 50 fois moins actives que les Et 743 et 729. Par contre, toutes les ecteinascidines provoquent une inhibition de la synthèse de l'ADN, de l'ARN et de l'activité de l'ARN polymérase, mais une inhibition plus faible de l'activité de l'ADN polymérase. Cette étude a de plus démontré une plus forte inhibition de la synthèse de l'ARN et de l'activité de l'ARN polymérase en comparaison à l'ADN. Au contraire, pour l'inhibition de la synthèse des protéines, les Et 597, 583 et 594 se sont montrées plus actives que les Et 743 et 729.

| Composés | Lignées cellulaires IC ₅₀ (nmol/L) | | | | | Inhibition de synthèse IC ₅₀ : μmol/L | | | Inhibition enzymatique IC ₅₀ : μmol/L | | <i>Bacillus</i> <i>subtilis</i> CMI : |
|-------------|--|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--|------|------|--|-------------------|---|
| | P388 ^a | A549 ^a | HT29 ^a | MEL28 ^a | CV-1 ^a | protéine | ADN | ARN | ADNp ^c | ARNp ^c | μg/disque |
| Et 743 (1) | 0,3 | 0,3 | 0,7 | 6,6 | 1,3 | >1,3 | 0,13 | 0,04 | 2,6 | 0,13 | 0,02 |
| Et 729 (2) | 0,3 | 0,3 | 0,7 | 6,7 | 3,3 | >1,3 | 0,27 | 0,03 | 2,0 | 0,07 | 0,08 |
| Et 597 (11) | 3,3 | 3,3 | 3,3 | 3,3 | 4,1 | 1,1 | 0,13 | 0,02 | - | 0,41 | 0,14 |
| Et 583 (12) | 16,6 | 16,6 | 16,6 | 8,3 | 41,6 | 1,7 | 1,7 | 0,66 | - | 0,83 | 0,74 |
| Et 594 (10) | 16,3 | 32,6 | 40,8 | 40,8 | 40,8 | 1,3 | 0,82 | 0,82 | - | 1,6 | 0,37 |

^a P388= lymphome murin; A549 = carcinome humain du poumon; HT29 = carcinome humain du colon; MEL28 = mélanome humain; CV-1 = rein de singe. ^b ADNp = inhibition de l'ADN polymérase; ARNp = inhibition de l'ARN polymérase

Tableau 1. Profil biologique des ecteinascidines.¹⁹

²⁷ Henriquez R.; Faircloth, G.; Cuevas, C.; Dans *Anticancer Agents from Natural Products*, Cragg G. M., Kingston D. G., Newman D. J., Taylor & Francis Edition, New York, 2005, p. 215.

L'Et 729 possède une plus grande activité *in vivo* contre la leucémie P388 que les Et 743 et 745 (Tableau 2).^{16c} A une dose de produit injectée correspond une augmentation de la durée de vie des souris traitées avec le composé par rapport à un groupe contrôle exprimé par T/C (groupe traité/groupe contrôle).

| Composé | Dose (µg/kg) | T/C |
|---------|--------------|-----|
| Et 729 | 3,8 | 214 |
| Et 743 | 15 | 167 |
| Et 745 | 250 | 111 |

Tableau 2. Activités *in vivo* des Et 729, 743 et 745 contre la leucémie P388.^{7,16c}

Les Et 729 et 736 ont montré des activités marquées *in vitro* contre la lignée L1210 avec des IC₉₀ de 2.5 et 5 ng/mL, respectivement.^{18a} Bien que l'Et 722 soit aussi un composé hautement actif *in vivo* contre plusieurs lignées cellulaires, l'Et 729 reste comparativement plus active *in vivo* comme le montre la plupart des données du Tableau 3.^{18a}

| Lignées cancéreuses | Et 722 | | Et729 | |
|---------------------|----------------|----------------|--------------|-------|
| | Dose (µg/kg) | T/C | Dose (µg/kg) | T/C |
| P388 ^a | 25 | 265 | 12.5 | 190 |
| B16 ^a | 50 | 200 | 12.5 | 253 |
| Lewis ^a | 50 | 0,27 | 25 | 0,00 |
| LX-1 ^a | 75 | 0,00 | 25 | 0,00 |
| M5076 ^a | - ^b | - ^b | 12,5 | > 204 |
| MX-1 ^a | - ^b | - ^b | 37,5 | 0,05 |

^a P388 = lymphome murin; B16 = mélanoma de la souris; Lewis = carcinome pulmonaire; LX-1 = carcinome humain pulmonaire; M5076 = sarcome ovarien; MX-1 = carcinome humain mammaire. ^b légèrement actif, données non précisées.

Tableau 3. Activité *in vivo* des Et 722 et 729 contre plusieurs lignées cancéreuses.^{7,18a}

Le mécanisme d'action des ecteinascidines a été étudié par plusieurs groupes. L'Et 743 possède une structure similaire à la saframycine S, le membre le plus actif de la famille des saframycines, indiquant que l'alkylation de l'ADN pourrait être responsable de son activité.²⁸ Pommier²⁹ et Hurley³⁰ ont montré que l'alkylation de l'ADN se déroule au niveau du brin

²⁸ Mikami, Y.; Yokoyama, K.; Tabeta, H.; Nakagaki, K.; Arai, T. *J. Pharm. Dyn.* **1981**, *4*, 282.

²⁹ (a) Pommier, Y.; Kolhagen, G.; Bailly, C.; Waring, M.; Mazumder, A.; Kohn, K. W. *Biochemistry* **1996**, *35*, 13303; (b) Aune, G. J.; Furuta, T.; Pommier, Y. *Anti-Cancer Drugs* **2002**, *13*, 545.

³⁰ (a) Moore, B. M., II; Seaman, F. C.; Wheelhouse, R. T.; Hurley, L. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 5475; (b) Moore, B. M., II; Seaman, F. C.; Wheelhouse, R. T.; Hurley, L. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2490; (c) Erratum: Moore, B. M., II; Seaman, F. C.; Wheelhouse, R. T.; Hurley, L. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2490; (d) Seaman, F. C.; Hurley, L. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 13028; (e) Zewail-Foote, M.; Hurley, L. H. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 2493; (f) Zewail-Foote, M.; Hurley, L. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6485.

mineur comme postulée pour les saframycines. Alors que les détails du mécanisme moléculaire ne sont pas encore élucidés, l'Et 743 semble être alkylée par l'azote exocyclique N-2 de la guanine au niveau du brin mineur de la double hélice de l'ADN (Schéma 2). En 1998, l'équipe d'Hurley montra sur la base d'études RMN que l'azote N-12 de l'Et 743 était protoné au cours de l'alkylation de l'ADN.^{30b} L'expulsion d'une molécule d'eau est ensuite envisagée, formant une espèce iminium réactive vis à vis de l'azote N-2 de la guanine, et entraînant par conséquent la formation de l'espèce Et 743-ADN.

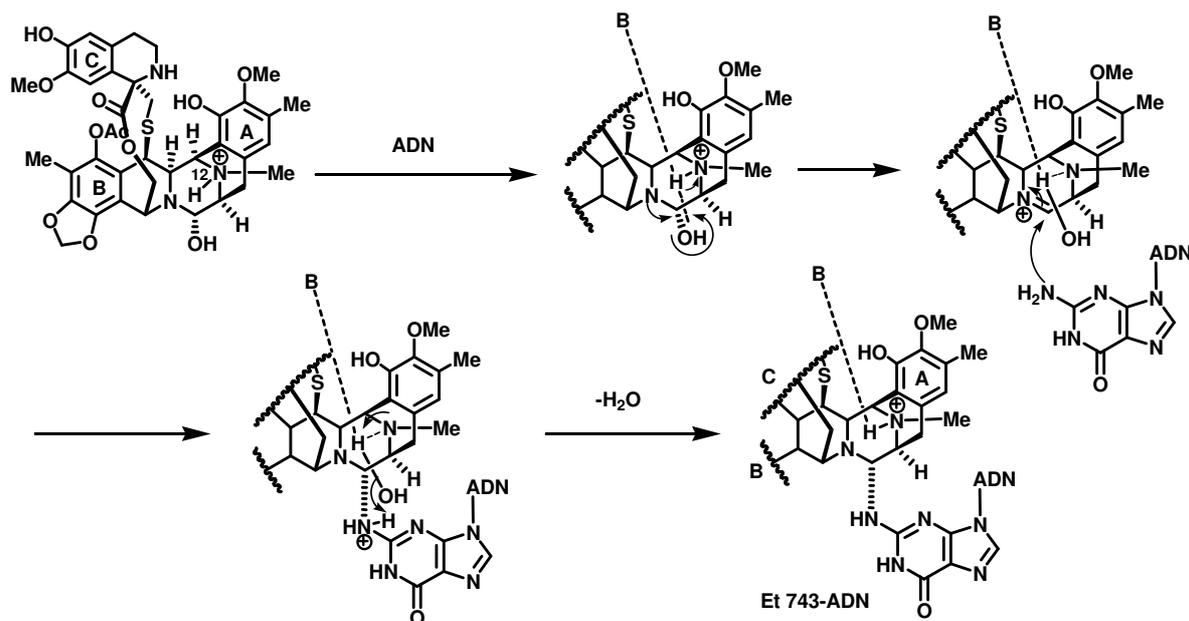


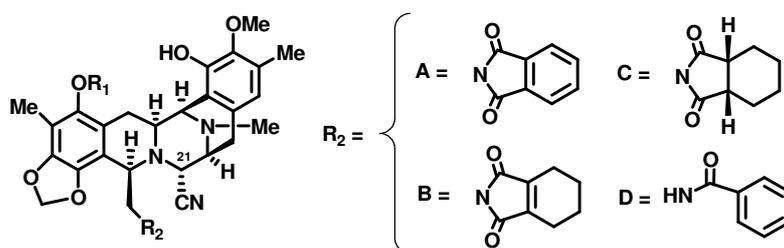
Schéma 2. Mécanisme proposé de l'alkylation de l'ADN par l'Et 743.⁷

L'adduit ainsi formé entraîne une déformation du brin mineur de l'ADN.^{30d} De plus, la partie aromatique C de la tétrahydroisoquinoléine est perpendiculaire à l'ensemble de la structure pentacyclique de type pipérazine, et serait par conséquent responsable des propriétés uniques des ecteinascidines en comparaison aux autres molécules de cette famille d'agents antitumoraux qui sont assez planes. Cette déformation perturberait l'interaction ADN-protéine et serait donc responsable des activités biologiques supérieures des ecteinascidines. L'Et 743 perturbe aussi le réseau de microtubules des cellules cancéreuses, ce qui semble être particulier au mode d'action des ecteinascidines dans cette famille d'alcaloïdes.³¹ L'Et 743 n'interagit pas directement avec la tubuline mais semble la désorganiser. L'Et 743 défavorise la polymérisation des microtubules. Dans une moindre mesure, ces observations sont également valables pour l'Et 735 et 736.

³¹ García-Rocha, M.; García-Gravalos, M. D.; Avila, J. *Br. J. Cancer* **1996**, 73, 875.

1.4.2. Les phthalascidines

De manière à obtenir des analogues structuraux plus simples d'accès, le groupe de Corey a synthétisé et évalué une série de nouveaux membres de cette classe de composés, nommés phthalascidines du fait de la présence d'un noyau phthalimide (Tableau 4). Le plus actif d'entre eux, la phthalascidine 650 (Pt 650) comporte des activités très similaires à l'Et 743 et s'est montrée plus stable.¹³ Il est évident que cette découverte est importante dans la mesure où ces molécules sont structurellement moins complexes et plus simples à synthétiser que les ecteinascidines naturelles.



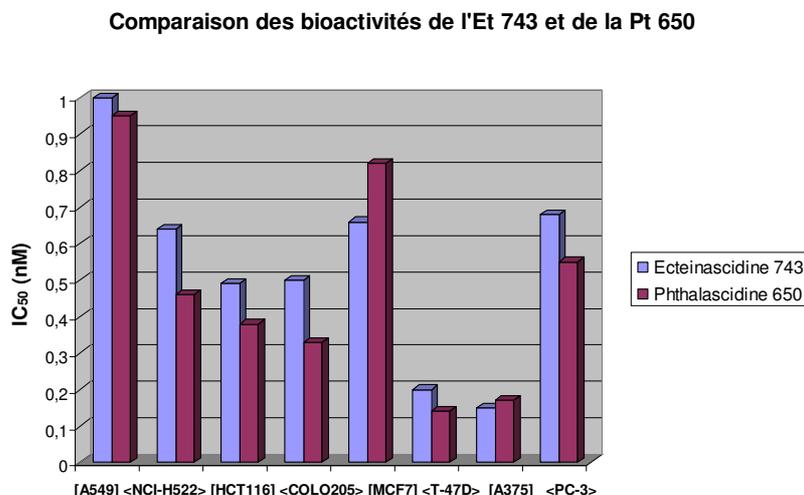
| | | Lignée cellulaire, IC ₅₀ (nM) | | | |
|---------------------------------------|----------------|--|-------------|-------------|-------------|
| R ₁ | R ₂ | A549 | HCT116 | A375 | PC-3 |
| CH ₃ C(O) | A | 0,95 | 0,38 | 0,17 | 0,55 |
| CH ₃ C(O) | D | 3,2 | 0,59 | 0,35 | 0,64 |
| CH ₃ C(O) | C | 1,5 | 0,85 | 0,27 | 1,1 |
| CH ₃ C(O) | B | 1,2 | 0,61 | 0,35 | 0,75 |
| CH ₃ OCH ₂ C(O) | A | 1,6 | 0,87 | 0,31 | 0,90 |
| CH ₃ S(O) ₂ | A | 1,7 | 0,58 | 0,29 | 0,86 |
| CH ₃ CH ₂ (O) | A | 2,1 | 1,2 | 0,51 | 2,9 |
| CH ₃ | A | 3,1 | 1,4 | 0,55 | 3,1 |
| CH ₃ CH ₂ | A | 3,9 | 1,7 | 0,97 | 2,4 |
| Et 743 | | 1 | 0,49 | 0,15 | 0,68 |

^a A549 = carcinome humain du poumon; HCT116 = carcinome humain du colon; A375 = mélanome humain malin; PC-3 = carcinome humain de la prostate.

Tableau 4. Activité *in vitro* des phthalascidines.^{13a}

Les évaluations d'activité antiproliférative ont démontré que la phthalascidine 650 était l'analogue le plus actif et comportait un profil comparable à l'Et 743 vis-à-vis de huit lignées cellulaires cancéreuses.^{13a} Pour évaluer l'efficacité des composés testés, les types sauvages *p53* (A549, HCT116, MCF - 7 et A375) et mutants *p53* (NCI-H522, COLO205, T - 47D et PC - 3) des lignées cellulaires ont été testés (Graphique 1). Après trois jours d'exposition, ces deux composés présentent des IC₅₀ identiques, inférieurs à 1 nM pour les huit lignées

cellulaires. Les lignées cellulaires A375 et T-47D sont les plus sensibles alors que la lignée A549 est la plus résistante.



Graphique 1. Comparaison des activités cancéreuses de l'Et 743 et Pt 650.^{13a}

L'Et 743 est un nouvel agent spécifique d'alkylation de la guanine au niveau du brin mineur de l'ADN.^{18a,19,29,30} Cette propriété indique que l'activité anticancéreuse est probablement due à l'association avec ADN. L'association ADN-protéine a été prouvée pour l'Et 743 et la Pt 650 par l'équipe de Corey.^{13a} Cette étude montre que cette association est supérieure pour l'Et 743 que pour la Pt 650. Cette différence est probablement due à la vitesse de dissociation de la liaison C₂₁-OH de l'Et 743 en comparaison à la liaison C₂₁-CN de la Pt 650 pour former l'intermédiaire iminium réactif vis à vis de l'ADN. Ce fait est aussi corrélé à l'activité anticancéreuse, fonction du degré d'association à l'ADN. En effet, le degré d'association pour la lignée A375 est supérieur à celui de la lignée A549 et expliquerait donc en partie la sensibilité par rapport à une lignée cellulaire.

1.5. Synthèse totale et études synthétiques

Les objectifs de la synthèse totale sont en général la confirmation structurale des substances ainsi que la mise au point de méthodologies permettant l'accès à ces composés par voies chimiques. A ce jour, trois synthèses totales de l'Et 743 ont été publiées, chronologiquement par l'équipe de Corey,^{11a,b} celle de Fukuyama,^{11c,d} puis plus récemment par celle de Zhu.^{11e-h} Une procédure hémisynthétique fut aussi développée par l'équipe de Cuevas de la société PharmaMar et une synthèse formelle par celle de Danishefsky.

1.5.1. Synthèse totale de Corey de l'ecteinascidine 743

En 1996, l'équipe de Corey réalisa la synthèse de l'Et 743 en 42 étapes avec un rendement global de 1.2% à partir de deux composés (sésamol **24** et 3,5-dihydroxy-4-méthoxy-benzoate de méthyle **25**).^{11a,b} Cette synthèse convergente fait intervenir le couplage d'une α -amino-lactone **26** cyclique et d'un α -amino-acide **27**, tous deux optiquement purs, afin d'obtenir le lactame **28** après fonctionnalisation (Schéma 3). Une bis-annélation intramoléculaire de type Mannich (Pictet-Spengler) s'effectue alors en milieu acide *via* la formation d'un iminium obtenu après déshydratation pour aboutir à l'hexacycle **29**.³² A partir du système hexacyclique **30**, obtenu en sept étapes à partir de **29**, une hydroxylation sélective en présence d'anhydride phénylsélenique ((PhSeO)₂O) conduit au composé **31**. La chaîne cystéinique est ensuite greffée permettant d'obtenir le macrocycle à dix chaînons **32** par addition-1,4 de Michaël en position benzylique (après élimination de l'alcool tertiaire dans les conditions réactionnelles de Swern). La synthèse est ensuite complétée en trois étapes, comprenant une réaction stéréosélective de Pictet-Spengler avec l'amine **22**.³³

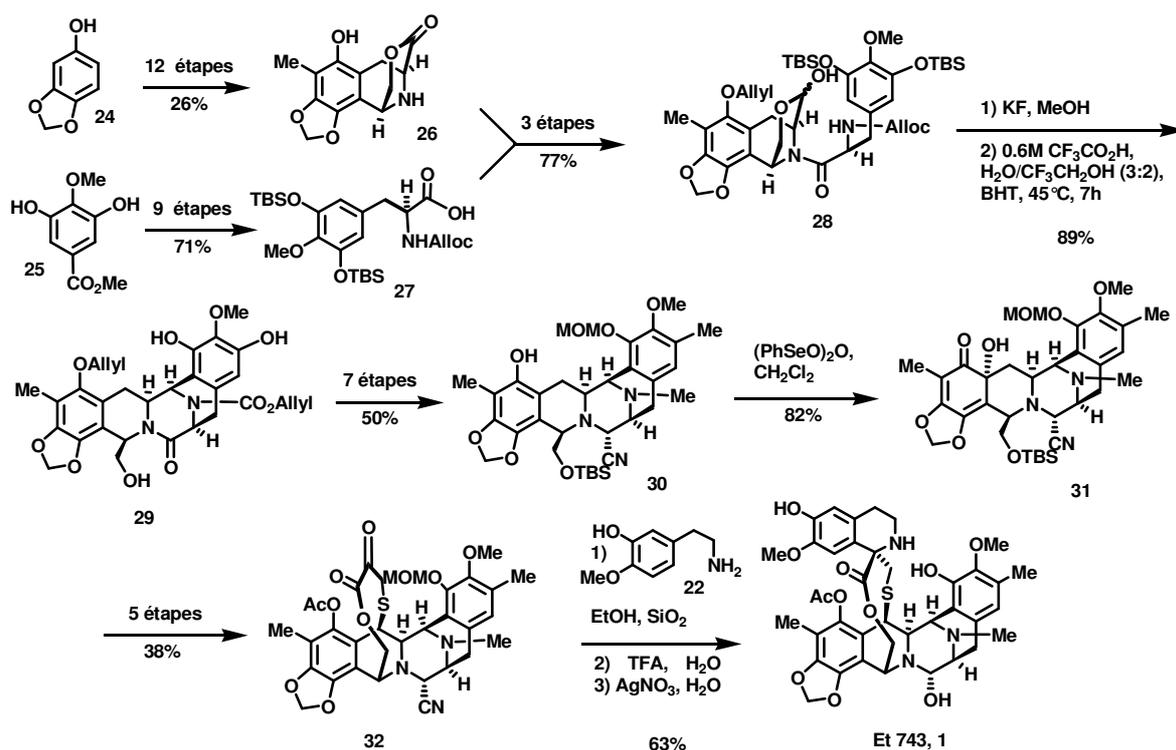


Schéma 3. Synthèse totale de l'Et 743 par Corey.^{11a,b}

³² (a) Mannich, C.; Krosche, W. *Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.)* **1912**, 250, 647; (b) Arend, M.; Westermann, B.; Risch, N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 71044; (c) Bur, S. K.; Martin, S. F. *Tetrahedron* **2001**, 57, 3221.

³³ (a) Pictet A.; Spengler, T. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1911**, 44, 2030; (b) Whaley W. M.; Govandrichi, T. R. *Org. React.* **1951**, 6, 151; (c) Cox, E. D.; Cook, J. M. *Chem. Rev.* **1995**, 95, 1797. (d) Chrzanowska M.; Rozwadowska, M. D. *Chem. Rev.* **2004**, 104, 3341. (d) Larghi, E. L.; Amongero, M.; Bracca, A. B. J.; Kaufman, T. S. *Arkivoc* **2005**, xii, 98.

La synthèse d'un analogue synthétique simplifié, la Pt 650, fut aussi réalisée à partir de **29** en 10 étapes avec un rendement de 37%.^{11b}

1.5.2. Synthèse totale de Fukuyama

L'équipe de Fukuyama publia en 2002 la deuxième synthèse totale à partir de deux précurseurs α -amino-alcool **33** et α -amino-acide **34** préalablement synthétisés.^{11c,d} Ces deux composés sont engagés dans une élégante réaction à quatre composants (**33**, **34**, **35**, **36**) de type Ugi afin d'obtenir après fonctionnalisation un intermédiaire synthétique de type lactame **37** (Schéma 4).³⁴ Une étape clé de couplage intramoléculaire de type Heck³⁵ avec contrôle de la stéréosélectivité à partir de l'énamide cyclique **38** est ensuite réalisée afin d'obtenir, après fonctionnalisation, l'amino-aldéhyde **39**.

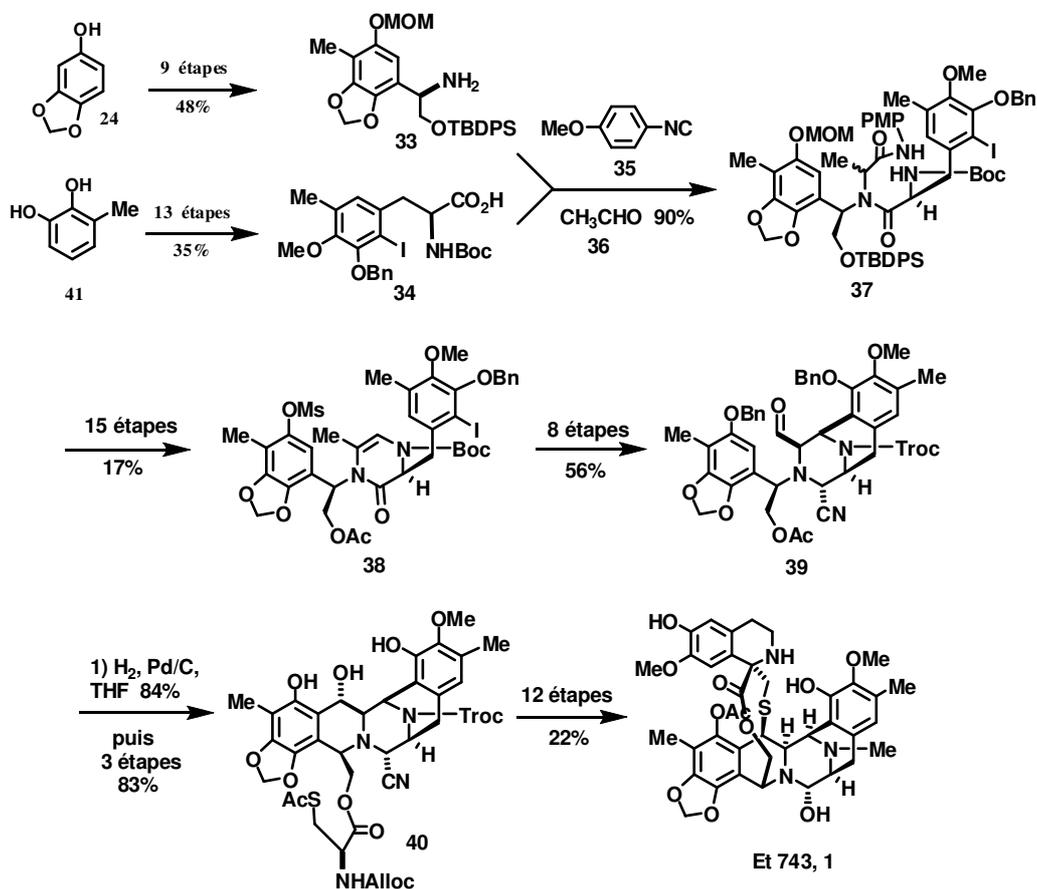


Schéma 4. Synthèse multicomposant de l'Et 743 par Fukuyama.^{11c,d}

³⁴ Pour une revue: Gokel, G.; Lüdke, G.; Ugi, I. Dans *Isonitrile chemistry*; Ugi, I., Edition; Academic Press: New York, 1971; p. 145.

³⁵ Pour des revues: (a) Link, J. T.; Overman, L. E.; Dans *Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions*; Diederich, F.; Stang, P. J., Editions, Wiley-VCH Verlag GmbH: Weinheim, Germany, 1998; p. 231; (b) Bräse, S.; De Meijere, A. Dans *Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions*; Diederich, F.; Stang, P. J., Editions, Wiley-VCH Verlag GmbH: Weinheim, Germany, 1998; p 99; (c) Shibasaki, M.; Boden, C. D. J.; Kojima, A. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 7371. (d) Heck, R. F. *Org. React.* **1982**, *27*, 345.

Ce composé est utilisé comme plateforme pour la préparation de **40**, permettant la substitution intramoléculaire phénolique afin de donner l'état d'oxydation requis en position C₄, essentiel pour la construction du macrocycle cystéinique à dix chaînons. Après déprotection du dérivé cystéinique et substitution nucléophile en milieu acide de la position benzylique, des étapes classiques de synthèse organique finalisent la préparation de **1**. A partir du sésamol **24** et du 3-méthylcatéchol **41** cette équipe a pu réaliser la synthèse totale de **1** en 59 étapes avec un rendement global de 0.3%.

1.5.3. Synthèse totale de Zhu

La première équipe française décrivant la synthèse de **1** est celle de Zhu en 2006.^{5,11e-g} Cette synthèse est achevée en 37 étapes à partir du 3-méthylcatéchol **41** et du sésamol **24** (Schéma 5). L' α -amino-alcool **42** est obtenu en sept étapes avec un rendement global de 50% à partir de **41**. L'une des étapes clé de l'assemblage de **1** fait intervenir une réaction stéréosélective de Pictet-Spengler³³ par condensation d'un α -amino-alcool **42** et de l'aldéhyde de Garner **43**.³⁶ La complète diastéréosélectivité 1,3-*cis* de cette réaction peut s'expliquer par la configuration *trans* de l'intermédiaire iminium **44'** dû à la planéarité 1,3-allylique en milieu acide (imine protonée) ainsi que par la position pseudoéquatoriale du substituant en C-3 aboutissant donc à la formation de **44** (Figure 7).³⁷

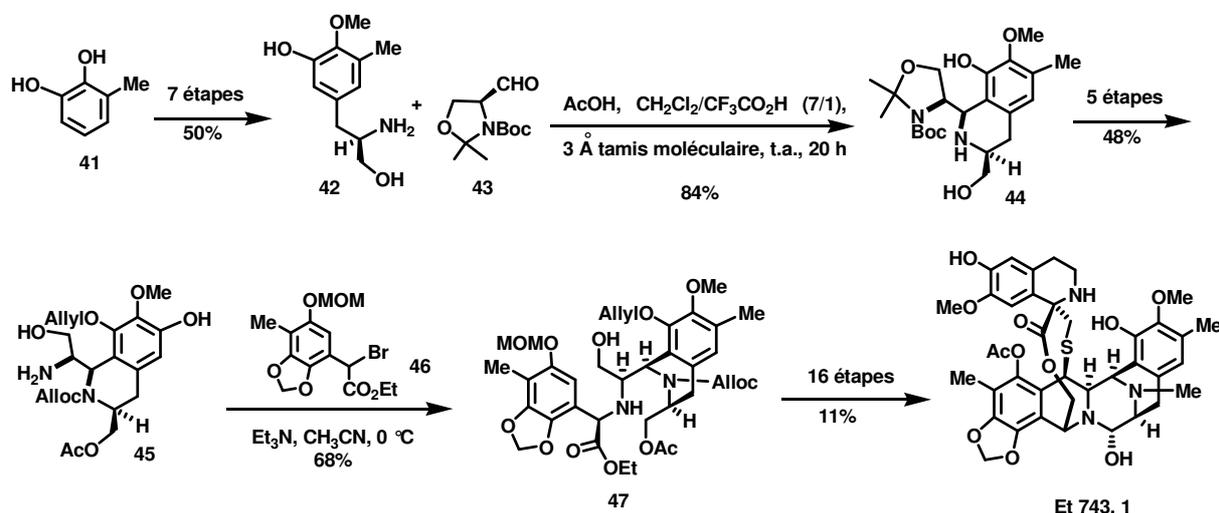


Schéma 5. Synthèse de l'Et 743 en 37 étapes par l'équipe de Zhu.⁵

³⁶ (a) Garner, P.; Park, J. M. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2361. (b) Garner, P.; Park, J. M. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2979. (c) Garner, P.; Park, J. M.; Malecki E. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 4395.

³⁷ (a) Massiot, G.; Mulamba T. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1983**, 1147; (b) Bailey, P. D.; Hollinshead, S. P.; McLay, N. R.; Morgan K.; Palmer, S. J.; Prince, S. N.; Reynolds, C. D.; Wood, S. D. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1.* **1993**, 431; (c) Myers A. G.; Kung, D. W.; Zhong, B.; Movassaghi, M.; Kwon, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8401; (b) Myers A. G.; Kung, D. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10828.

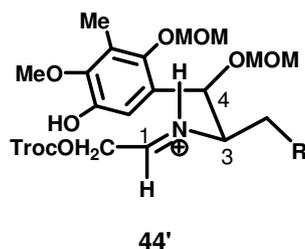


Figure 7. Etat de transition de l'intermédiaire iminium **44'**.³⁹

Après cinq étapes de protection et déprotection, l'intermédiaire **45** obtenu est engagé dans une réaction de substitution nucléophile avec le composé α -bromé **46** qui semble être de type S_N1 au vue de la sélectivité permettant la formation de **47**. Cette dernière pourrait s'expliquer par la formation d'un intermédiaire *ortho*-quinone méthide **48**.³⁸ Cette équipe a aussi récemment développé un accès similaire aux ecteinascidines 597 et 583.³⁹

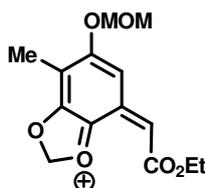


Figure 8. Etat de transition de l'intermédiaire *ortho*-quinone méthide **48**.

A partir du point d'assemblage entre **42** et **43**, 23 étapes permettent d'obtenir **1** avec un rendement global de 3%. Le rendement global de la synthèse est donc de 1.5% en 37 étapes à partir de **24**, **41** et **43**.

1.5.4. Approche synthétique par hémisynthèse de Cuevas et Manzanares

A partir de la cyanosafracine B (**49**), un antibiotique d'origine bactérienne obtenu par fermentation de la souche de bactéries *Pseudomonas fluorescens*,⁴⁰ Manzanares de la société PharmaMar a reporté la préparation à grande échelle de plusieurs ecteinascidines et phthalascidines.^{12,14k} L'optimisation du procédé de fermentation a permis de produire le composé cyano **49** à l'échelle du kilogramme, représentant une source sophistiquée et bon

³⁸ Pour une revue: Van de Water, R. W.; Pettus, T. R. R. *Tetrahedron* **2002**, 58, 5367.

³⁹ Chen, J.; Chen, X.; Willot, M.; Zhu, J. *Ang. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 8028.

⁴⁰ Ikeda, Y.; Idemeto, H.; Hirayama, F.; Yamamoto, K.; Icao, K.; Asao, T.; Munakata, T. *J. Antibiot.* **1983**, 36, 1279.

marché en produit de départ pour la synthèse de la famille des ecteinascidines. L'une des étapes originale qui n'a pas été discutée jusqu'à présent mais récurrente dans les trois dernières synthèses présentées est une étape de transamination à partir du composé **50** en présence du iodure de 1-méthyl pyridinium-4-carboxaldéhyde et de 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène (DBU) permettant la formation de l' α -cétoster cyclique **52** via l'intermédiaire imine **51** préalablement formé (Schéma 6). Seulement deux étapes suffisent ensuite pour introduire les fonctions requises à la condensation de **1**. L'Et 743 a été obtenue avec un rendement global de 1% en 21 étapes à partir de **49** et fait de cette approche une solution valable pour les études biologiques et cliniques de ce composé. Il est aussi intéressant de noter qu'à partir de cette substance, seulement neuf étapes ont suffi à la synthèse de la Pt 650 avec un rendement de 14 % à partir de **49**.

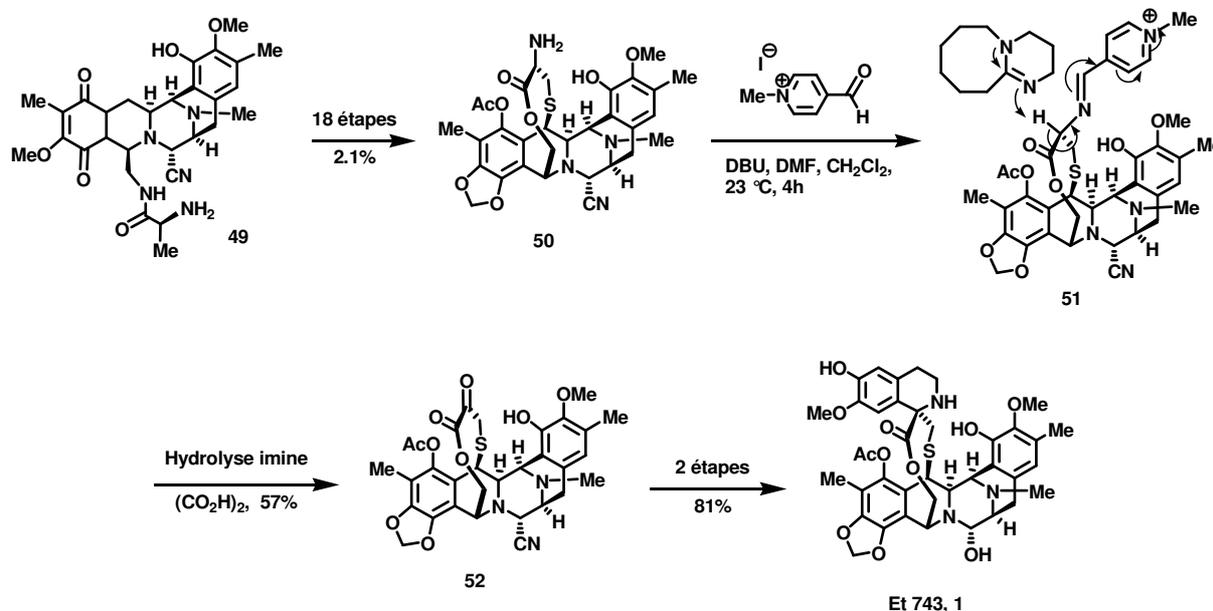


Schéma 6. Hémisynthèse de l'Et 743 à partir de la cyanosafraïne B.¹²

1.5.5. Synthèse formelle de Danishefsky

Depuis les années 2000, l'équipe de Danishefsky s'emploie à l'élaboration d'une stratégie adaptable à la synthèse de la famille des saframycines et ecteinascidines à travers l'étude et la construction d'un système pipérazine polycyclique.^{11i,41} Cette étude a abouti à la synthèse

⁴¹ (a) Zhou, B.; Edmonson, S.; Padron, J.; Danishefsky, S. J. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 2039; (b) Zhou, B.; Guo, J.; Danishefsky, S. J. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 2043; (c) Chan, C.; Zheng, S.; Zhou, B.; Guo, J.; Heid, R. M.; Wright, B. J. D.; Danishefsky S. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1749; (d) Zhou, B.; Guo, J.; Danishefsky S. J. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 43.

stéréosélective de deux précurseurs **53** et **54** adaptable à la préparation de plusieurs composés de cette famille (Schéma 7). Le couplage peptidique de ces deux précurseurs conduit après fonctionnalisation à la synthèse de **55**. Ce composé est ensuite soumis à la cyclisation de Pictet-Spengler en conditions acides de type vinylogue. Afin d'introduire une fonction alcool secondaire en position benzylique, l'époxydation de l'alcène **56** correspondant par le diméthyldioxirane (DMDO) puis l'ouverture de l'époxyde par NaBH₃CN est effectuée afin de former le composé désiré **57**.¹¹ⁱ Cinq étapes ont ensuite été conduites afin d'obtenir le composé hexacyclique **58**, précédemment décrit par Fukuyama,^{11c,d} qui a conduit après 10 étapes à la synthèse de **1**. L'équipe de Danishefsky a donc décrit une synthèse formelle de **1** en 15 étapes à partir des deux précurseurs **53** et **54** avec des rendements compris entre 1,6 et 2,3%.

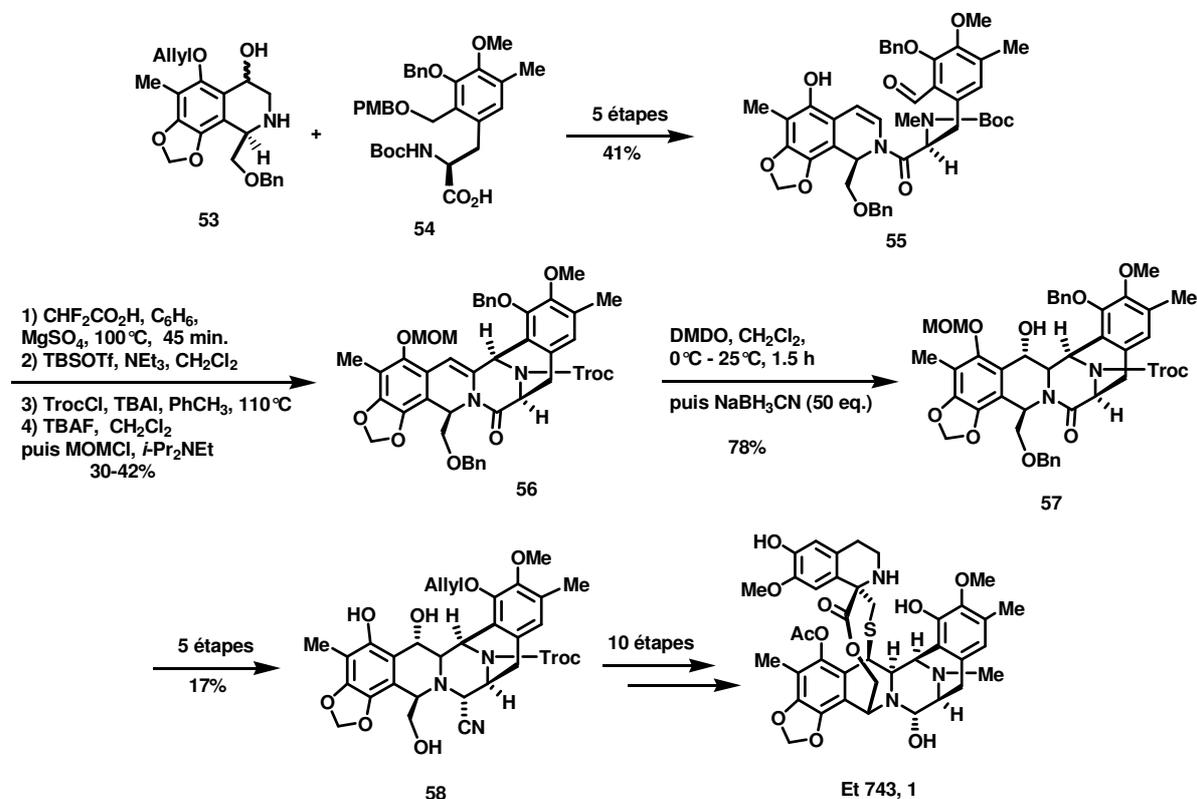


Schéma 7. Synthèse formelle de l'Et 743 par Danishefsky.¹¹ⁱ

1.5.6. Approche de Williams

Le groupe de recherche de Williams a reporté plusieurs synthèses totales de membre de cette famille d'antibiotiques antitumoraux⁷ afin d'évaluer les activités biologiques de composés de type (-)-Térazomine,⁴² (-)-Jorumycin,^{14e,f} (-)-Renieramycin G⁴³ et (-)-Cribostatin 4.⁴³

⁴² Scott J. D.; Williams R. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2951.

Concernant la recherche d'un système pipérazine pentacyclique pouvant conduire à la synthèse totale de l'Et 743,⁴⁴ une cycloaddition asymétrique de Staudinger a été envisagée par condensation de l'aldéhyde **59** et de la benzylamine conduisant à l'imine correspondante (Schéma 8).⁴⁵ La réaction entre le cétène généré *in situ*, entre **60** optiquement pur, en présence de NEt_3 et de l'imine préalablement formée a conduit à la formation de **61** comme précurseur synthétique hautement fonctionnalisé. Après sept étapes, l'obtention de la tétrahydroisoquinoléine **62** a permis de constituer la partie « Ouest » de la structure pentacyclique envisagée.

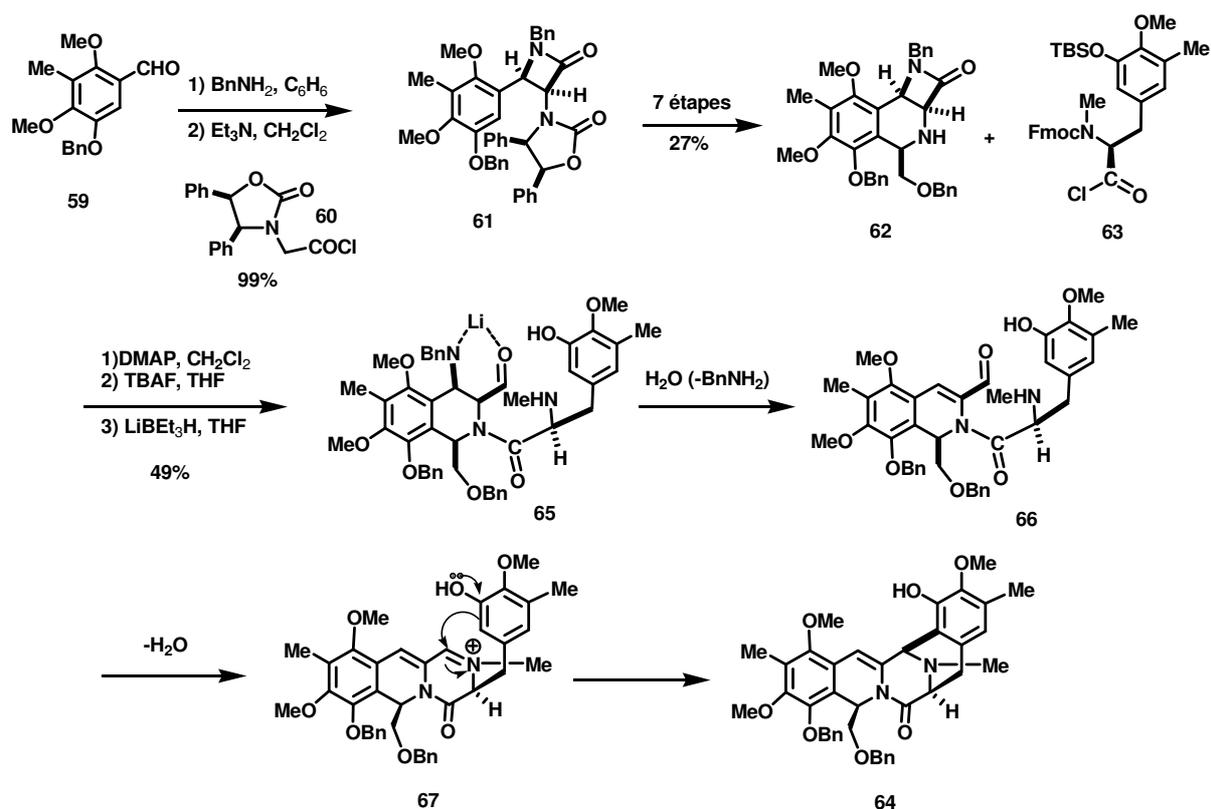


Schéma 8. Approche synthétique de Williams.⁴⁴

L'amine **62** est ensuite engagée dans une réaction d'acylation avec le chlorure d'acide **63** qui après déprotection du groupement silylé par le fluorure de tétrabutyl ammonium (TBAF) et réduction de l'amide cyclique par le triéthylborohydrure de lithium (super hydrure[®])⁴⁶ conduit

⁴³ (a) Vincent, G.; Williams, R. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2517; (b) Vincent, G.; Chen, Y.; Lane, J. W.; Williams, R. M. *Heterocycles* **2007**, *72*, 385. (c) Vcent, G.; Lane, J. W.; Williams, R. M. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 3719.

⁴⁴ (a) Herberich, B.; Kinugawa, M.; Vazquez, A.; Williams, R. M. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 543. (b) Jin, W.; Williams, R. M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4635. (c) Jin, W.; Metebo, S.; Williams, R. M. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2095.

⁴⁵ (a) Staudinger, H.; Meyer, J. *Helv. Chim. Acta* **1919**, *2*, 235; (b) Matsui, S.; Hashimoto, Y.; Saigo, K. *Synthesis* **1998**, 1161.

⁴⁶ Brown, H. C.; Krishnamurthy, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 1669

au composé **64**. En effet, celui-ci est obtenu en passant par un complexe **65** présumé qui, après hydrolyse et élimination d'une molécule de benzylamine, conduit à l'aldéhyde **66**, et subit spontanément une cyclisation intramoléculaire de type Mannich par la formation de l'iminium **67** et substitution électrophile aromatique régiosélective en *ortho* du phénol.

Plus récemment, cette équipe s'est inspirée des travaux de Zhu^{11e-h} en utilisant un substrat similaire pour l'élaboration de la tétrahydroisoquinoléine **71** constituant la partie « Ouest » de l'Et 743.⁴⁷ Celle-ci est obtenue par condensation aldolique entre le phénol **68** et l'aldéhyde de Garner **43** dans les conditions préalablement développées par Casiraghi (Schéma 9).⁴⁸ Après trois étapes menant à **70**, la condensation avec le glyoxalate d'éthyle conduit à l'imine correspondante. L'imine est ensuite engagée dans une cyclisation intramoléculaire radicalaire par addition lente de *n*-Bu₃SnH et AIBN, donnant **71** avec une régiosélectivité 6-*endo* exclusive et correspondant à l'isomère 1,3-*cis*.

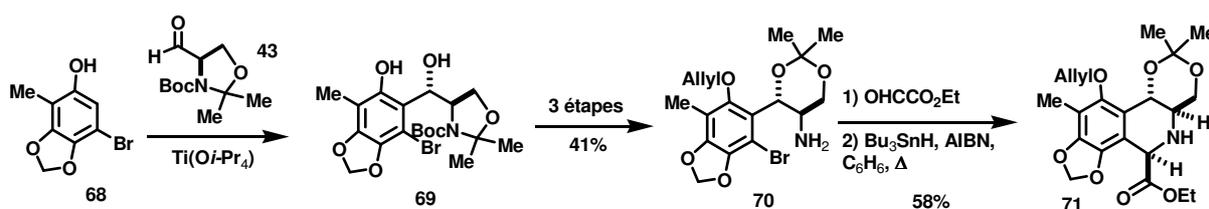


Schéma 9. Synthèse radicalaire stéréosélective de **71**.⁴⁷

L'ensemble des travaux précédemment décrits représente principalement les études qui ont été menées dans le cadre d'une synthèse dirigée vers l'ecteinascidine 743.

Cependant de nombreux autres groupes de recherches ont travaillé sur l'élaboration de méthodes et techniques de synthèses dirigées vers la construction de la structure pipérazine polycyclique contenue dans l'Et 743, aussi bien pour synthétiser cette dernière que pour obtenir des analogues et les tester. Parmi ces équipes, celles de Kubo,^{14l,m,49} Liu,^{14g,h}

⁴⁷ Fishlock, D.; Williams, R. M. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3299.

⁴⁸ Casiraghi, G.; Cornia, L.; Rassa, G. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 4919.

⁴⁹ (a) Saito, N.; Tashiro, K.; Maru, Y.; Yamaguchi, K.; Kubo, A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1997**, 53; (b) Saito, N.; Kamayachi, H.; Tachi, M.; Kubo, A. *Heterocycles* **1999**, *51*, 9; (c) N. Saito, M. Tachi, R. Seki, H. Kamayachi, A. Kubo, *Chem. Pharm. Bull.* **2000**, *48*, 1549; (d) Saito, N.; Seki, R.; Kameyama, N.; Sugimoto, R.; Kubo, A. *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, *51*, 821.

Chapitre 1 : Introduction du sujet de recherche

Magnus,⁵⁰ Grieco,¹⁴ⁿ Chandrasekhar⁵¹ et Avendano^{14i,j,52} ont reporté d'intéressantes approches synthétiques qui représentent une source d'inspiration indéniable.

Au cours de nos travaux, nous étudierons la mise en place d'une nouvelle voie de synthèse basée sur l'obtention de tétrahydroisoquinoléines comme précurseurs synthétiques, ainsi que leurs activités biologiques. Par association, la synthèse d'analogues de systèmes pipérazines polycycliques de la phthalascidine 650 sera envisagée.

⁵⁰ (a) Magnus, P.; Mathews, K. S.; Lynch, V. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2181. (b) Magnus, P.; Mathews, K. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12476.

⁵¹ Chandrasekhar, S.; Reddy, N. R.; Rao, Y. S. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 12098.

⁵² (a) González, J. F.; de la Cuesta E.; Avendaño C. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4395. (b) González, J. F.; de la Cuesta E.; Avendaño C. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 6319.

Chapitre 2 : Synthèse de systèmes pipérazines pentacycliques

2.1. Objectifs et rétrosynthèse envisagée

Depuis 2003, le laboratoire de Catalyse et Synthèse Organique s'est impliqué dans un programme de développement de méthodologies adaptées à la synthèse de tétrahydroisoquinoléines qui sont notamment présentes dans la famille des agents antitumoraux de type ecteinascidine. La synthèse de ce type de composé est effectuée avec comme principal objectif la découverte de nouvelles molécules biologiquement actives. La simplification de la structure de ces molécules représente l'un de nos principaux objectifs dans le but d'optimiser leurs profils et activités biologiques. En effet, le degré de fonctionnalisation des parties aromatiques des tétrahydroisoquinoléines ainsi que des structures polycycliques ont fait l'objet d'évaluations biologiques au cours d'études structure-activité. Ces études biologiques ont été réalisées en collaboration avec le « Centre for Molecular Drug Design » de l'Université de Salford sous la supervision du Professeure Sylvie Ducki. De plus le développement et l'application de nouvelles méthodes de synthèse ont été un objectif de nos travaux afin d'optimiser les séquences réactionnelles en diminuant le nombre d'étapes pour obtenir aussi bien les substances naturelles que leurs analogues.

Notre stratégie de synthèse se base sur une nouvelle approche pour construire le corps hexacyclique de type pipérazine contenu dans l'Et 743 et la Pt 650, mais aussi pour la fonctionnalisation de la position benzylique C-4 de l'Et 743 par une méthode directe à partir de dérivés β -phényléthylamine.

Les points clefs de notre approche reposent sur la synthèse de la structure pipérazine **72** et de la tétrahydroisoquinoléine **73** comportant un carbone quaternaire asymétrique qui permettrait d'obtenir l'Et 743 (Schéma 10). L'hexacycle **72** serait donc obtenu par oxydation préliminaire de l'alcool primaire **74** en aldéhyde suivie de la cyclisation spontanée de l'amine secondaire. La bis-tétrahydroisoquinoléine **74** serait obtenue par une condensation de type Pictet-Spengler³³ entre l' α -amino-aldéhyde protégé **75** et l' α -amino-alcool **76**. La tétrahydroisoquinoléine **75** proviendrait d'une condensation de Pictet-Spengler avec un dérivé glyoxalate ou de la réduction diastéréosélective de la dihydroisoquinoléine correspondante

obtenue par une réaction de Bischler-Napieralsky.⁵³ Ces α -amino-alcools **76** et **77** seraient obtenus préalablement par une condensation de Knoevenagel avec les aldéhydes **78** et **81** correspondants. L' α -amino-alcool **77** serait obtenu par une oxydation en position benzylique de **79** puis ouverture du cycle oxazolidinone. Cette synthèse serait donc réalisée à partir de deux composés disponibles commercialement, le sésamol **24** et le 3-méthylcatéchol **41**.

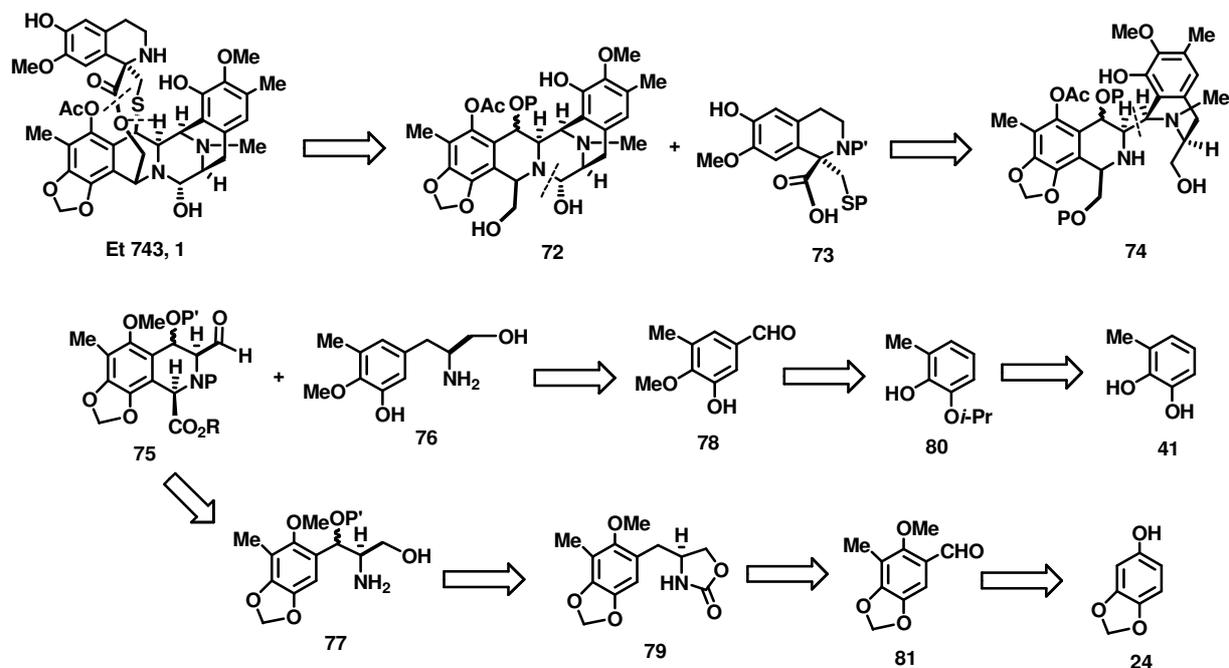


Schéma 10. Schéma rétrosynthétique envisagé pour l'Et 743.

Nous envisagerons tout d'abord la préparation d'analogues de la phthalascidine **650** afin d'établir une stratégie de synthèse générale transposable à la synthèse de phthalascidines et d'ecteinascidines. La Pt **650** serait alors obtenue par une oxydation cyclisante à partir de la (1,3')-bis-tétrahydroisquinoléine **82** (Schéma 11) issue de la condensation directe entre l' α -amino-aldéhyde **83** et l' α -amino-alcool phénolique **76**. Ce dernier serait préparé comme décrit précédemment alors que **83** serait obtenu par réduction de la dihydroisquinoléine **84** préalablement obtenue par réaction de Bischler-Napieralski avec **85**. En effet, la réduction diastéréosélective de **84** permettrait d'obtenir majoritairement le diastéréoisomère 1,3-*cis* désiré. L'ensemble de ces composés serait également préparé à partir du sésamol **24** et du 3-méthylcatéchol **41**.

⁵³ Bischler, A.; Napieralski, B. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1893**, *26*, 1903.

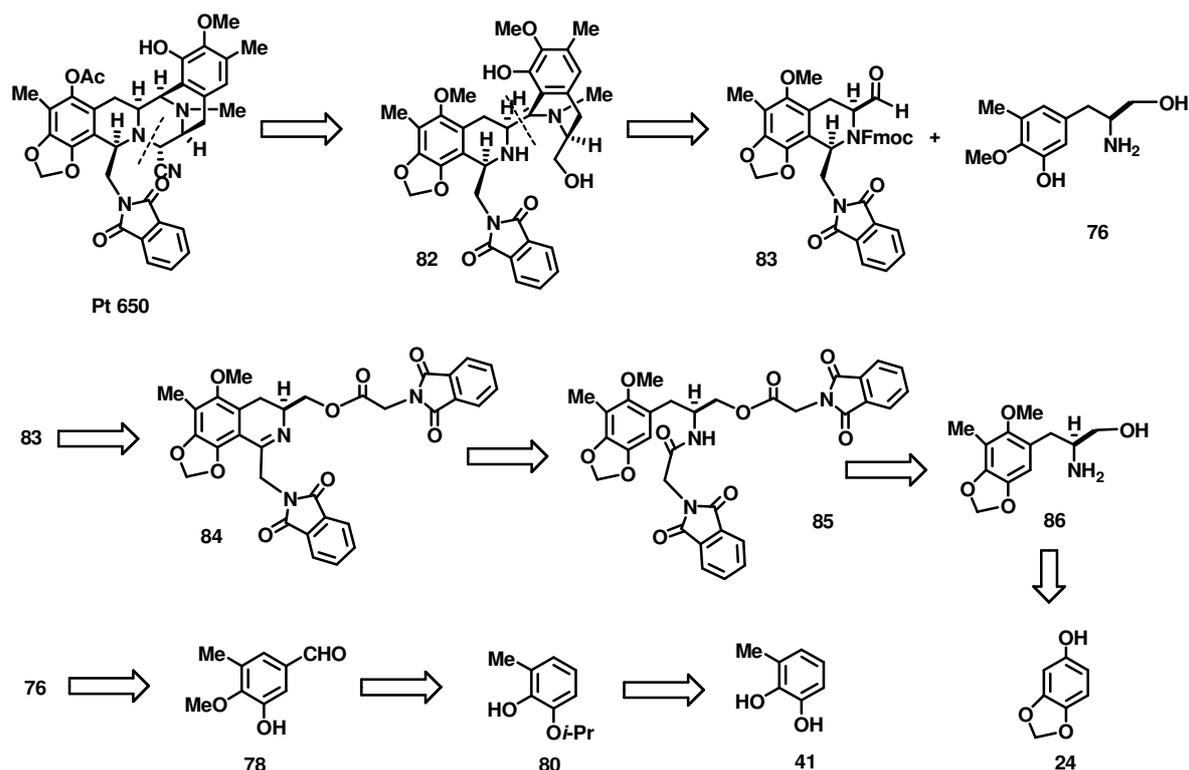


Schéma 11. Schéma rétrosynthétique envisagé pour la Pt 650.

Notre stratégie repose donc sur la synthèse de fragments tétrahydroisoquinoléines et (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléines qui seront assemblés par différentes méthodes de synthèse existantes et dont nous détaillerons les différentes possibilités. Compte tenu de l'intérêt potentiel de ces tétrahydroisoquinoléines, nous pourrions évaluer leurs propriétés biologiques *via* la chimiothèque de l'UMR. Cette possibilité est un avantage de notre stratégie.

2.2. Bibliographie et méthodes de synthèse des tétrahydroisoquinoléines

2.2.1. Généralités

Les tétrahydroisoquinoléines sont une classe importante de composés hétérocycliques dont les propriétés biologiques diverses et variées sont reconnues dans le domaine de la chimie médicinale.⁵⁴ Les tétrahydroisoquinoléines sont essentiellement étudiées comme agents neurotoxiques et ont prouvé leur implication dans les pathologies du système nerveux central.⁵⁵ Cette famille de composés est aussi utilisée notamment dans le traitement des

⁵⁴ Bentley, K. W. *The isoquinoline Alkaloids*, Harvard Academic Publisher, Amsterdam, 1998.

⁵⁵ (a) Yamanaka, Y.; Walsh M. J.; Davis, V. E. *Nature* **1970**, 227, 1143. (b) Sandler, M.; Bonham-Carter, S.; Hunter K. R.; Stern, G. M. *Nature* **1973**, 241, 439. (c) Manini, P.; d'Ischia M.; Protà, G. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 5048. (d) Manini, P.; d'Ischia M.; Protà, G. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9, 923.

maladies cardiovasculaires, des maladies cardiaques, des embolies pulmonaires et joue un rôle notable comme agent antithrombotique artériel et veineux.⁵⁶ A travers cette étude bibliographique, nous présenterons les différentes réactions les plus employées pour la construction du cycle tétrahydroisoquinoléine.

2.2.2. Réaction de Pictet-Spengler

La condensation de Pictet-Spengler est une des méthodes les plus anciennes (1911) et toujours parmi la plus employée pour la synthèse de tétrahydroisoquinoléines et de tétrahydro- β -carbolines, leurs analogues indoliques.³³ Cette réaction s'effectue par condensation d'un dérivé de type β -aryléthylamine et d'un composé carbonylé. L'intermédiaire imine ou iminium (cas d'une amine secondaire alkylée ou acylée), entraîne ensuite une cyclisation intramoléculaire de type substitution électrophile aromatique. Dans le cas des tétrahydroisoquinoléines, cette réaction est effectuée dans un solvant protique polaire (MeOH, EtOH, *i*-PrOH...) ou dans des conditions plus drastiques en présence d'un acide de Brönsted (HCl, HCO₂H, H₂SO₄, CH₃CO₂H, CF₃CO₂H, CH₃SO₃H, CF₃SO₃H)⁵⁷ ou de Lewis (LiCl, LiBr, AuCl₃/AgOTf, BF₃.Et₂O, TiCl₄, Ti(O-*i*Pr)₄, Yb(OTf)₃).^{11e.g.58} Le succès de la cyclisation de Pictet-Spengler dépend beaucoup de la densité électronique du noyau aromatique. Dans le cas de la dopamine **87**, la position de cyclisation étant enrichie par la présence d'un hydroxyle en position *para*, la condensation avec des composés carbonylés variés conduit directement aux tétrahydroisoquinoléines de type **88** soit à température ambiante, soit au reflux du solvant protique utilisé, en fonction des substituants présents sur l'aromatique (Schéma 12).⁵⁹

⁵⁶ Ueno, H.; Yokota, K.; hoshi, J.; Yasur, K.; Hayashi, M.; Hase, Y.; Uchida, I.; Aisaka, K.; Katoh S.; Cho, H. *J. Med. Chem.* **2004**, *48*, 3856.

⁵⁷ (a) G. Hahn and K. Stiehl, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1936**, *69*, 2627; (b) Ohwada, T.; Yokoyama A.; Shudo, K. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 611; (c) Ohwada, T.; Uchiyama, M.; Taniguchi, T.; Tanaka T.; Nakamura, S. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2087; (d) Aubry, S.; Pellet-Rostaing, S.; Faure, R.; Lemaire, M. *J. Heterocyclic Chem.* **2006**, *43*, 139.

⁵⁸ (a) Myers, A. G.; Kung, D. W.; Zhong, B.; Movassaghi, M.; Kwon, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8401; (b) Myers, A. G.; Kung, D. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10828; (c) A. Ganesan and N. Srinivisan, *Chem. Commun.* **2003**, *6*, 801; (d) Youn, S. W. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 2521; (e) Myers, A. G.; Kung, D. W.; Zhong, B.; Movassaghi, M.; Kwon, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8401; (f) Myers, A. G.; Kung, D. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10828; Gremmen, C.; Wanner, M. J.; Koomen, G. -J. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 8885; (g) Cheung, G. K.; Earle, M. J.; Fairhurst, R. A.; Heany, H.; Shuhaibar, K. F.; Eyley, S. C.; Ince, F. *Synlett* **1991**, 721; (h) Horiguchi, Y.; Kodama, H.; Nakamura, M.; Yoshimura, T.; Hanezi, K.; Hamada, H.; Saitoh, T.; Sano, T. *Chem. Pharm. Bull.* **2002**, *50*, 253. (i) Manabe, K.; Nobutou, D.; Kobayashi, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 5154.

⁵⁹ (a) Kametani, T.; Fukumoto, K.; Agui, H.; Yagi, H.; Kigasawa, K.; Sugushura, H.; Hiiragi, M.; Hayasaka T.; Ishimaru, M. *J. Chem. Soc. (C)* **1968**, 112; (b) Kametani, T.; K. Kigasawa, K.; Hiiragi, M.; Ishimaru, M.; Uryu T.; Haga, S. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1* **1973**, 471. (c) Hudlicky, T.; Kutchan, M. T.; Shen, G.; Sutliff E. V.; Corsica, J. C. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 1738; (d) Cheng, Y. T.; Bobbitt, J. M. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 443; (e) Wang, Y.; Liu, Z. Z.; Chen S. Z.; Liang, X. T. *Chin. Chem. Lett.* **2004**, *15*, 505.

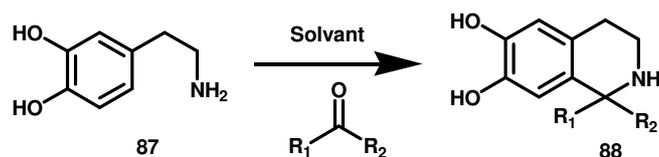


Schéma 12. Cyclisation directe de Pictet-Spengler.

En présence d'un groupement méthoxy sur l'aromatique, comme dans le cas de **89**, une activation de l'imine intermédiaire **90** par un acide de Brønsted ou de Lewis est nécessaire pour permettre la cyclisation (Schéma 13). Cette observation peut s'expliquer par le fait qu'un groupement méthoxy possède un effet électrodonneur plus faible ($\sigma = -0,28$) qu'un hydroxyle ($\sigma = -0,38$), relatif au coefficient σ de Hammett.⁶⁰

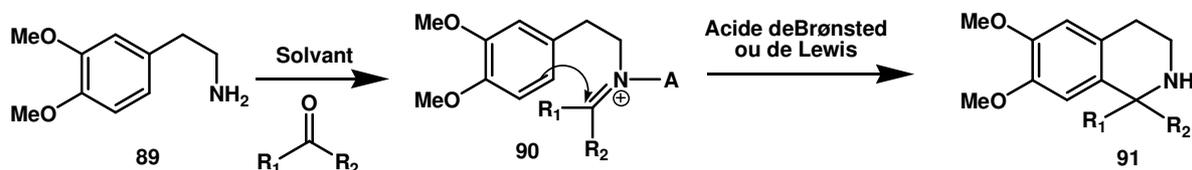


Schéma 13. Cyclisation par activation acide de l'intermédiaire imine.

L'intérêt pharmaceutique des tétrahydroisoquinoléines et tétrahydro- β -carboline est aussi très dépendant de la stéréochimie de ces dérivés. Malheureusement, il n'existe que très peu de versions énantiométriques de la réaction de Pictet-Spengler.⁶¹ Une méthode catalytique énantiosélective a été développée par le groupe de Jacobsen avec les tétrahydro- β -carboline (Schéma 14). Les tétrahydro- β -carboline chirales **94** issues de la condensation de la tryptamine **92** et de différents aldéhydes *via* la formation d'une imine activée **93**, sont ainsi obtenues avec d'excellents excès énantiométriques par l'utilisation d'un catalyseur organique chiral **95** (Schéma 14).^{61c}

⁶⁰ (a) Smith, M. B.; March, J.; Dans March's Advanced Organic Chemistry, 2001, 5th edition, Chapter 9, p. 363. (b) Hine, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 4877; (c) Matsui, T.; Ko, H. C.; Hepler, L. G. *Can J. Chem.* 1974, 52, 2906; (d) Mc Daniel, D. H.; Brown, H. C. *J. Org. Chem.* **1958**, 23, 420; (e) Hammett, L. P.; Dans Physical Organic Chemistry, 1970, 2nd. Edition, McGraw-Hill, New York.

⁶¹ (a) Kawate, T.; Yamada, H.; Soe, T.; Nakagawa, M. *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, 7, 1249; (b) Kawate, T.; Yamada, H.; Matsulizu, M.; Nishida, A.; Nakagawa, M. *Synlett* **1997**, 761; (c) Yamada, H.; Kawate, T.; Matsulizu, M.; Nishida, A.; Yamaguchi, K.; Nakagawa, M. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 6348; (d) Hino, T.; Nakagawa, M. *Heterocycles* **1998**, 49, 499; (e) Taylor, M. S.; Jacobsen, E. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 10558; (f) Seayad, J.; Seayad, A. M.; List, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 1086;

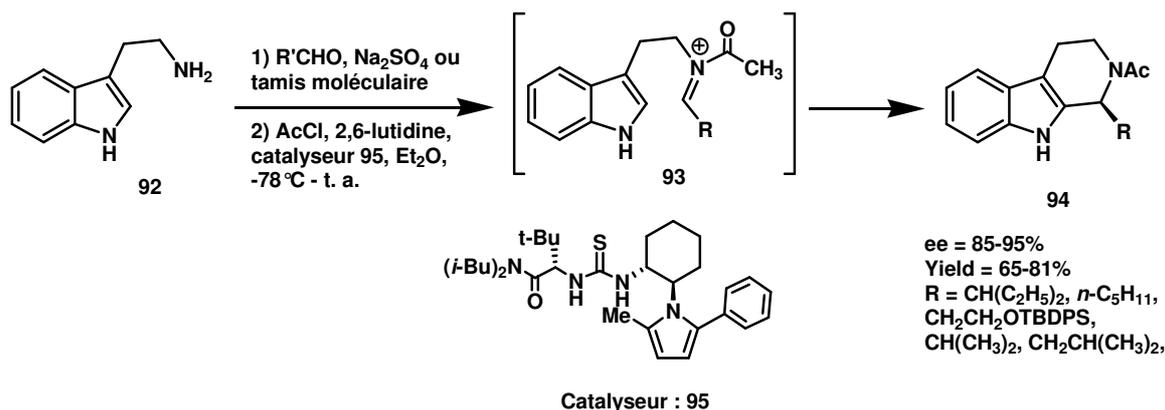


Schéma 14. Version énantiosélective et catalytique de Pictet-Spengler.^{61e}

La synthèse de tétrahydroisoquinoléines énantio-pures par condensation de Pictet-Spengler a aussi été réalisée de manière diastéréocontrôlée à partir d'une copule chirale de type *p*-tolyl-sulfinyle préalablement greffée sur l'amine en présence de trifluorure de bore (Schéma 15).⁶² Dans ces conditions, de bons rendements et des diastéréosélectivités correctes sont obtenus. L'isomère *trans* est obtenu majoritairement et isolé par chromatographie. Cette méthode permet d'accéder après hydrolyse de la copule chirale de **97** aux composés énantio-pures de type **98**.

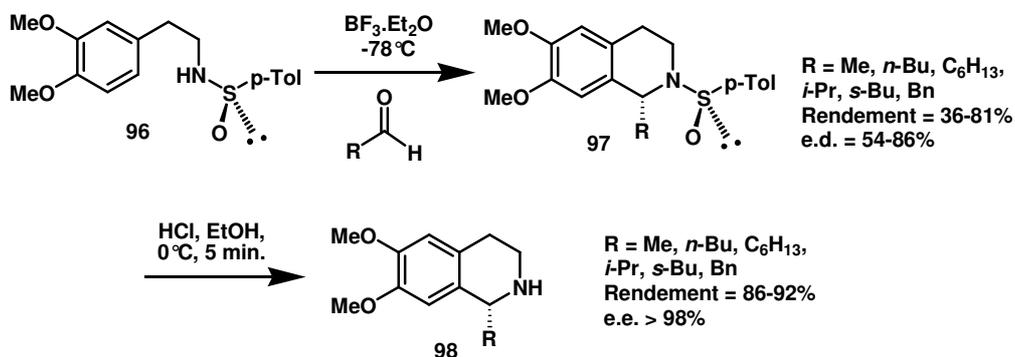


Schéma 15. Synthèse de tétrahydroisoquinoléines énantio-pures.⁶²

2.2.3. Réaction de Bischler-Napieralski

La réaction de Bischler-Napieralski a été découverte en 1894 et repose sur une cyclisation intramoléculaire d'une β -aryléthylamine *N*-acylée conduisant à la formation d'une dihydroisoquinoléine qui est ensuite réduite.^{33d,53,63} Le détail du mécanisme de la réaction de Bischler-Napieralski est rappelé ci-dessous (Schéma 16) dans le cas de l'utilisation de POCl₃ à partir de l'amide **99** conduisant à la dihydroisoquinoléine **104**.

⁶² Gremmen, C.; Wanner M. J.; Koomen, G. J. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 8885.

⁶³ Whaley, W. M.; Govandrichi, T. R. *Org. React.* **1951**, 6, 74.

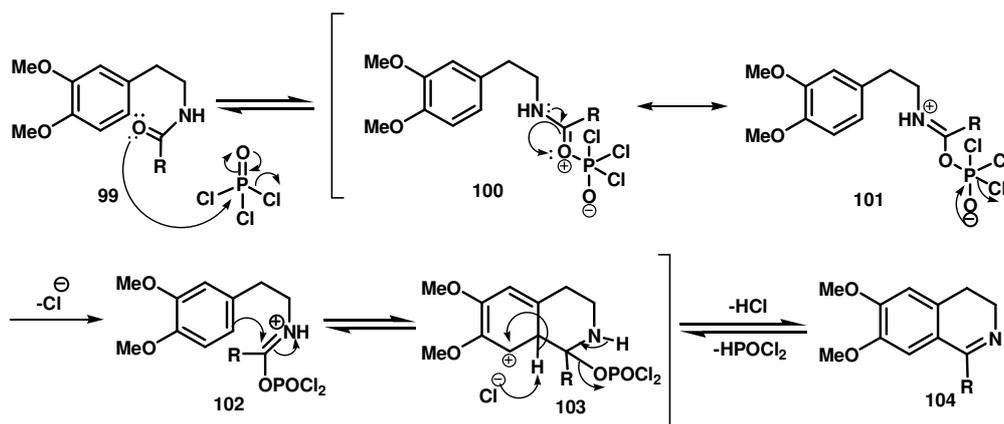


Schéma 16. Mécanisme de la réaction de Bischler-Napieralski.

Cette réaction fait intervenir un réactif permettant d'activer l'amide correspondant. Ces réactifs sont des agents à la fois électrophiles et déshydratants de type POCl_3 , PCl_5 , P_2O_5 , SOCl_2 , $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$, $(\text{CF}_3\text{SO}_2)_2\text{O}$. La dihydroisoquinoléine est généralement réduite par un réducteur de type NaBH_4 , NaBH_3CN , $\text{NaBH}(\text{OAc})_4$ ou par hydrogénation catalytique en présence de Pd/C ou Pt/C . Ces réductions sont aussi bien réalisées en série racémique qu'en version diastéréosélective. La réduction énantiosélective de l'imine a aussi été réalisée avec d'excellents résultats.^{33d,64} Cette méthode a été appliquée à la synthèse de la (*R*)-(-)-praziquantel, par transfert d'hydrure asymétrique utilisant un catalyseur chiral à base de ruthénium (*R,R*)-**107** à partir de la dihydroisoquinoléine **106** avec un excès énantiomérique de 86% (Schéma 17).⁶⁵

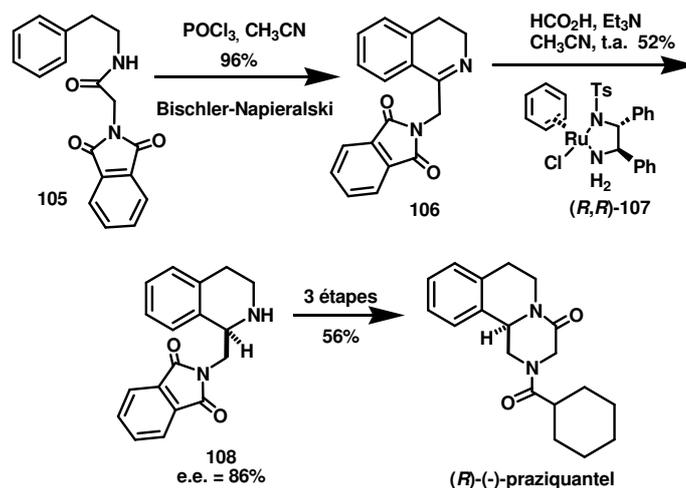


Schéma 17. Synthèse asymétrique de la (*R*)-(-)-praziquantel.⁶⁵

⁶⁴ (a) Willoughby, C. A.; Buchwald, S. L. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 7627; (b) Willoughby, C. A.; Buchwald, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 8952; (c) Morimoto, T.; Achiwa, K. *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, *6*, 2661; (d) Mao, J.; Baker, D. *C. Org. Lett.* **1999**, *1*, 841; (e) Uematsu, N.; Fujii, A.; Hashiguchi, S.; Ikariya, T.; Noyori, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4916.

⁶⁵ Roszkowski, P.; Maurin, J. K.; Czarnocki, Z. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 1415.

La méthode de synthèse de Bischler-Napieralski semble permettre un meilleur contrôle du centre asymétrique créé au cours de la réaction en comparaison avec la cyclisation de Pictet-Spengler qui donne des stéréosélectivités plus faibles.

2.2.4. Réaction de Pomeranz-Fritsch

Cette réaction implique une cyclisation électrophile aromatique en milieu acide à partir d'un acétal donnant le méthyl éther ou l'alcool libre correspondant selon les conditions de solvant utilisées. Cette réaction conduit normalement à l'isoquinoléine correspondante après formation préalable de l'imine et cyclisation, suivie de l'aromatisation.⁶⁶ Cependant, certaines modifications ont été apportées.⁶⁷ En effet, la réaction de Pomeranz-Fritsch a servi à l'élaboration du précurseur synthétique **53** utilisé au cours de la synthèse formelle de l'Et 743 par l'équipe de Danishefsky (Schéma 7). L'adduit de Pomeranz-Fritsch **112** est obtenu en trois étapes à partir de l'azide **111**, *via* une amination réductrice permettant d'introduire la fonction acétal requise pour réaliser la cyclisation intramoléculaire.

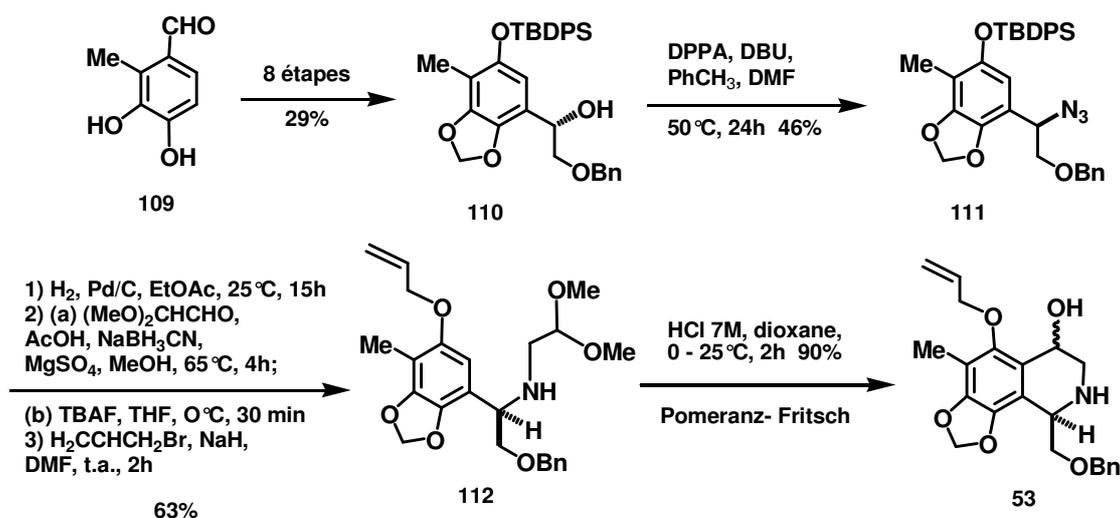


Schéma 18. Cyclisation de Pomeranz-Fritsch.¹¹ⁱ

Cette réaction s'avère intéressante pour l'introduction de diverses fonctions en position benzylique de la tétrahydroisoquinoléine ainsi formée.

⁶⁶ (a) Pomeranz, C. *Monatsh. Chem.* **1893**, *14*, 116; (b) Fritsch, P. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1911**, *44*, 2030; (c) Gensler, W. J. *Org. React.* **1951**, *6*, 191.

⁶⁷ (a) Bobbitt, M.; Kiely, J. M.; Khanna, K. L.; Eberman, R. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 2247; (b) Gluszyńska, A.; Rozwadowska, M. D. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 3289; (c) Kosciolowicz, A.; Rozwadowska, M. D. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 1444.

Cependant, elle ne fonctionne qu'en présence de groupements électrodonneurs sur le noyau aromatique. Dans le cas de groupements électroattracteurs, la formation d'un oxazole de type **116** est observée (Schéma 19).

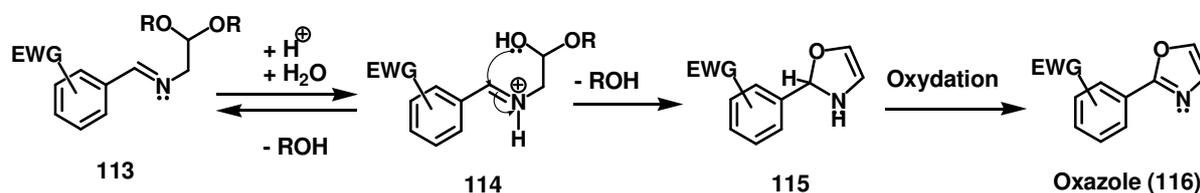


Schéma 19. Formation d'un oxazole en présence de groupements électroattracteurs.

De plus, une version de la réaction de Pummerer est apparentée à celle de Pomeranz-Fritsch, à la seule différence qu'elle fait intervenir un sulfonium afin d'obtenir, après cyclisation, le thioéther benzylique **119** correspondant (Schéma 20).⁶⁸

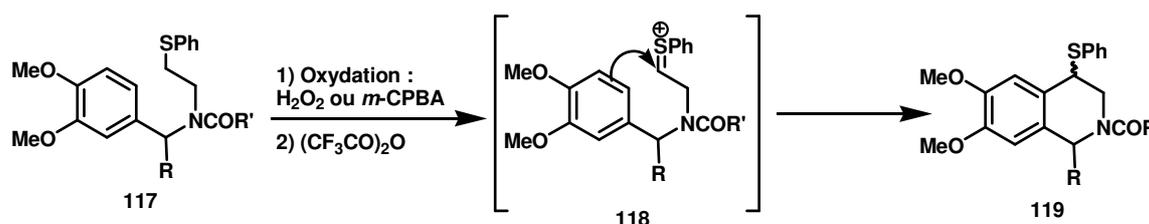


Schéma 20. Cyclisation de Pummerer.^{68b}

En présence d'une fonction aldéhyde, ces réactions de cyclisation peuvent aussi être réalisées lors de réaction de type aldolisation intramoléculaire.

2.2.5. Cyclisation intramoléculaire en présence de Palladium

La synthèse des tétrahydroisoquinoléines grâce à la chimie du palladium est réalisée dans des conditions de cyclisation intramoléculaire de Heck ou d'amination allylique intramoléculaire.

A ce jour, la réaction de couplage de Heck a été peu utilisée pour la synthèse des tétrahydroisoquinoléines.⁶⁹ Cependant, cette réaction est efficace dans l'assemblage

⁶⁸ (a) De Lucchi, O.; Miotti, U.; Modena, G. *Org. React.* **1991**, *40*, 157; (b) Takano, S.; Iida, H.; Inomata, K.; Ogasawara, K. *Heterocycles* **1993**, *35*, 47; (c) Craig, D.; Daniels, K. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 7803; (d) Saitoh, T.; Shikiya, K.; Horiguchi, Y.; Sano, T. *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, *51*, 667.

d'alcaloïdes complexes.^{11c,d,70} Elle a notamment été utilisée pour la synthèse totale de l'Et 743 par l'équipe de Fukuyama (Chapitre 1, Schéma 4).^{11c,d} Récemment, la synthèse de spiro-tétrahydroisoquinoléines de type **122** a été réalisée avec succès par l'équipe de Beccali par l'intermédiaire d'un couplage de Heck de l'*ortho*-iodo bromure de benzyl **120** et d'amines allyliques **121** suivi de la réaction du produit de couplage avec un isocyanate aromatique ArCNO (Schéma 21).^{69b}

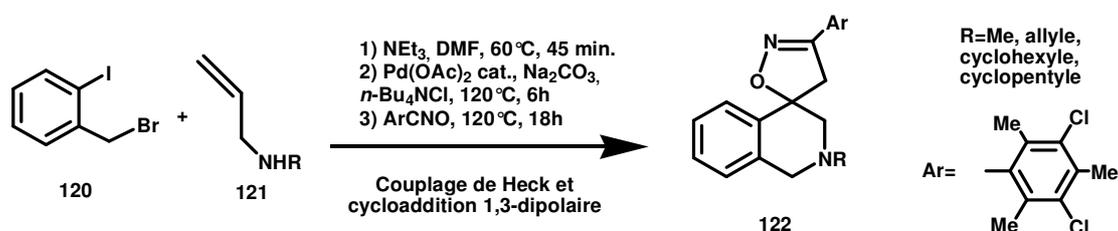


Schéma 21. Synthèse de spiro-tétrahydroisoquinoléines annelées.^{69b}

L'amination intramoléculaire de systèmes π -allyliques en présence de palladium a permis la synthèse stéréosélective de tétrahydroisoquinoléines substituées.⁷¹ En effet, une synthèse énantiosélective de la (*R*)-(+)-Carnégine (**123**) a été envisagée à partir du système π -allylique **124** et d'un ligand chiral **125** en présence d'une source de palladium (0) afin d'obtenir le composé **126** (Schéma 22). Ce dernier est obtenu après douze jours de réaction avec un rendement de 89% et un excès énantiomérique de 88%.

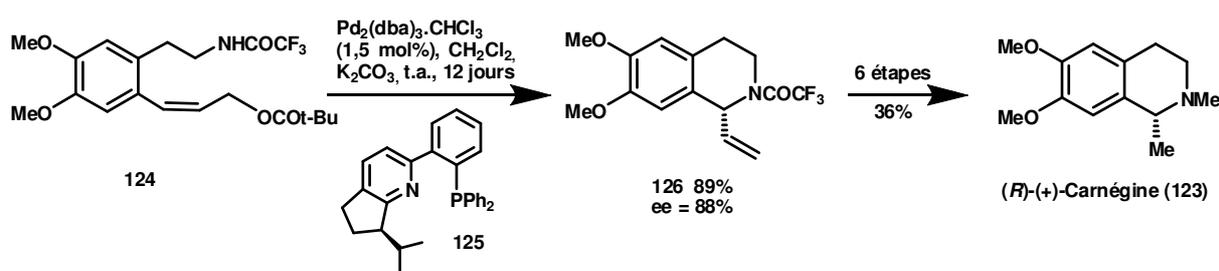


Schéma 22. Synthèse énantiosélective de la (*R*)-(+)-Carnégine.^{71b}

⁶⁹ (a) Kirschbaum, S.; Waldmann, H. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4936; (d) Tietze, L. F.; Thede, K.; Schimpf, R.; Sannicolò, F. *Chem. Commun.* **2000**, 583; (b) Beccali, E. M.; Gianlugi, B.; Martinelli, M.; Masciocchi, N.; Sottocornola, S. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4521; (c) Liu, P.; Huang, L.; Lu, Y.; Dilmeghani, M.; Baum, J.; Xiang, T.; Adams, J.; Tasker, A.; Larsen, R.; Faul, M. M. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 2307.

⁷⁰ (a) Burns, B.; Grigg, R.; Santhakumar, V.; Sridharan, V.; Stevenson, P.; Worakun, T. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 7297; (b) Tietze, L. F.; Burkhardt, O.; Henrich, M. *Liebigs Ann. Chem.* **1997**, 1407;

⁷¹ (a) Eustache, J.; Van de Weghe, P.; Le Nouen, D.; Uyehara, H.; Kabuto, C.; Yamamoto, Y. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4043; (b) Ito, K.; Akashi, S.; Saito, B.; Katsuki, T. *Synlett* **2003**, 1809.

2.2.6. Cyclisation radicalaire

La formation de tétrahydroisoquinoléines par réaction radicalaire a été essentiellement réalisée en présence de radicaux de trialkyl d'étain.⁷² Cette réaction a été utilisée par l'équipe de Williams lors de la synthèse stéréosélective d'un précurseur de l'ecteinascidine 743 (Chapitre 1, Schéma 9).⁴⁷ Cette méthode a également permis la préparation des alcaloïdes protoberberines de type **128** (Schéma 23).^{72c}

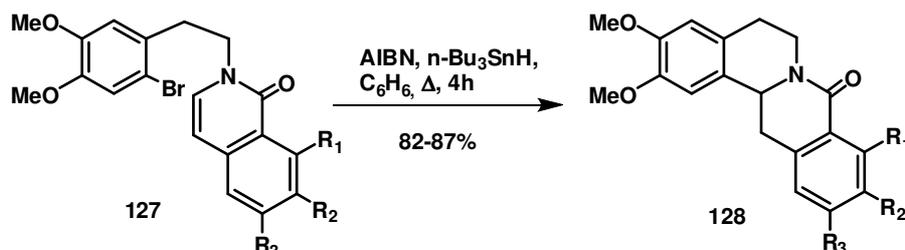


Schéma 23. Synthèse radicalaire de protoberberines.^{72c}

2.2.7. Synthèse de tétrahydroisoquinoléines par amino-condensation

La condensation d'ammoniaque sur un dérivé dicarboxylé ou bien la cyclisation intramoléculaire d'une amine primaire sur un dérivé carbonyle conduisent respectivement aux isoquinoléines et dihydroisoquinoléines correspondantes. Ces composés sont ensuite réduits pour obtenir les tétrahydroisoquinoléines correspondantes. Ces deux méthodes ont été utilisées pour la synthèse de la quinocarcine⁷³ et de tétrahydroisoquinoléines plus simples telles que la (*S*)-carnégine **131** (Schéma 24).⁷⁴ La déprotection de l'amine **129** est suivie d'une amino-condensation intramoléculaire, puis d'une réduction effectuée par transfert d'hydrure assymétrique pour former **131** avec un excès énantiomérique de 88%.^{74a}

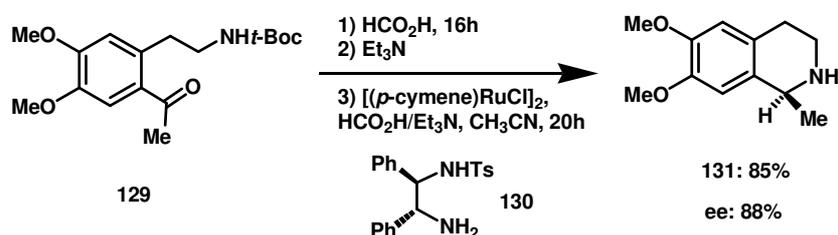


Schéma 24. Synthèse énantiosélective de tétrahydroisoquinoléines par amination réductrice^{74a}

⁷² (a) Tomaszewski, M. J.; Warkentin, J. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 2123; (b) Tomaszewski, M. J.; Warkentin, J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, 1407; (c) Orito, K.; Satoh, Y.; Nishizawa, H.; Harada, R.; Tokuda, M. *Org. Lett.* **2000**, 2, 2535; (d) Ikeda, M.; Hamada, M.; El Bialy, S. A. A.; Matsui, K.; Kawakami, S.; Nakano, Y.; Bayomi, S. M. M.; Sato, T. *Heterocycles* **2000**, 52, 571.

⁷³ Saito, S.; Tanaka, K.; Matsuda, F.; Terashima, S. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 7423.

⁷⁴ (a) Williams, G. D.; Pike, R. A.; Wade, C. E.; Wills, M. *Org. Lett.* **2003**, 5, 4227; (b) Taniyama, D.; Hasegawa, M. Tomioka, K. *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, 10, 221.

2.2.8. Addition nucléophile intramoléculaire de type aza-Michael

L'addition 1,4 de type aza-Michael est une méthode efficace pour la synthèse de tétrahydroisoquinoléines hautement fonctionnalisées.⁷⁵ En effet, la synthèse totale de l'érythrocarine **134** a été réalisée à partir du précurseur **133** obtenu par cyclisation intramoléculaire de type aza-Michael (Schéma 25).^{75b} Ce type de réaction a été utilisé récemment par le groupe de Chandrasekhar pour leurs études synthétiques menées au cours de la synthèse de précurseurs de l'Et 743.⁵¹

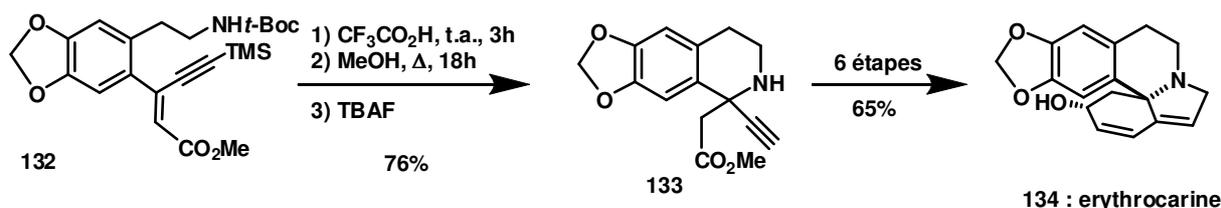


Schéma 25. Synthèse totale de l'érythrocarine par cyclisation de type aza-Michael.^{75b}

2.2.9. Synthèse de 8-hydroxytétrahydroisoquinoléines catalysée par l'or

La synthèse de 8-hydroxytétrahydroisoquinoléines catalysée par l'or est certainement la méthode de synthèse la plus récente de ce type de composé.⁷⁶ Elle est réalisée à partir de furylalanines de type **135**, par incorporation préliminaire d'une fonction alcyne terminale (Schéma 26). En présence d'un complexe cationique d'or, une cyclisation intramoléculaire permet d'aboutir à la formation de 8-hydroxytétrahydroisoquinoléines de type **137**. Cette méthode a pour principal avantage de fournir des tétrahydroisoquinoléines directement fonctionnalisées par un groupement hydroxyle sur la partie aromatique.

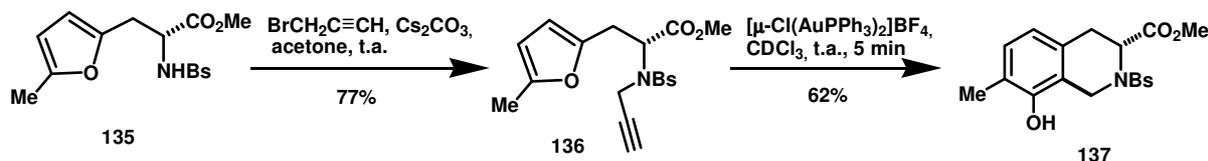


Schéma 26. Synthèse de 8-hydroxytétrahydroisoquinoléines catalysée par l'or.⁷⁶

Les méthodes de synthèse précédemment décrites représentent les techniques principales et les plus originales conduisant à la formation de tétrahydroisoquinoléines.

⁷⁵ (a) Takasu, K.; Maiti, S.; Ihara, M. *Heterocycles* **2003**, *59*, 51; (b) Shimizu, K.; Takimoto, M.; Mori, M. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2323; (c) Ferraccioli, R.; Careni, D.; Catellani, M. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 6903.

⁷⁶ (a) Hashmi, A. S. K.; Haufe, P.; Schmid, C.; Rivas Nass, A.; Frey, W. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 5376; (b) Hashmi, A. S. K.; Salathé, R.; Frey, W. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 6991.

Pour notre part, nous nous sommes familiarisés dans un premier temps avec la méthode de synthèse de Pictet-Spengler sous sa forme racémique mais aussi diastéréoselective. La synthèse de plusieurs nouvelles tétrahydroisoquinoléines incorporant des structures hétérocycliques et des (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléines originales, intermédiaires de synthèse de systèmes pipérazines pentacycliques contenus dans la famille des ecteinascidines a été réalisée. Dans un second temps, nous décrirons l'utilisation de la réaction de Bischler-Napieralski pour la synthèse de la Phthalascidine 650 et de ses analogues (Chapitre 4). Cette réaction permet un meilleur contrôle du centre stéréogénique créé en position 1, et de s'affranchir d'une séquence réactionnelle nécessaire à l'inversion de configuration de ce centre.

2.3. Synthèse de tétrahydroisoquinoléines par réaction de Pictet-Spengler

2.3.1. Synthèse de tétrahydroisoquinoléines sous forme racémique

La cyclisation de Pictet-Spengler implique généralement la condensation d'un dérivé de type β -aryléthylamine et d'un composé carbonylé suivie d'une cyclisation électrophile aromatique intramoléculaire de l'imine ou de l'iminium formé. La réaction de Pictet-Spengler est effectuée soit dans un solvant protique,⁵⁹ soit dans des conditions acides *via* la formation d'un intermédiaire imine.^{11g,62,77} Dans le cas de β -aryléthylamines activées en position 3 par un groupement R_1 , comme la dopamine, une cyclisation directe par condensation de type phénolique est observée.^{57d} Dans le cas de la condensation directe entre la dopamine et l'acide pyruvique ou l'acide 3-benzylthiopyruvique dans l'éthanol à reflux, la formation dans le milieu réactionnel des tétrahydroisoquinoléines correspondantes est observée (Schéma 27). Le précipité est ainsi filtré pour isoler les α -amino-acides purs (Tableau 5, entrés 1-2).

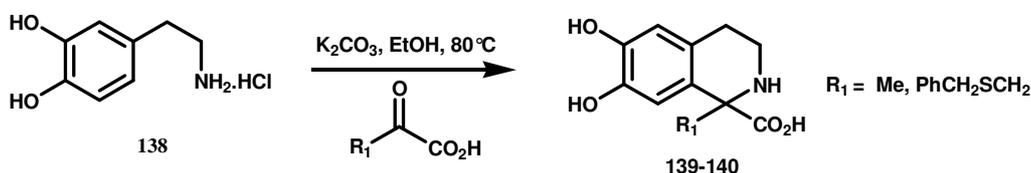


Schéma 27. Cyclisation directe de Pictet-Spengler avec la dopamine.^{57d}

⁷⁷ (a) Ohwada, T.; Yokoyama A.; Shudo, K. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 611; (b) Ohwada, T.; Uchiyama, M.; Taniguchi, T.; Tanaka T.; Nakamura, S. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2087; (c) Gremmen, C.; Willemsse, B.; Wanner, M. J.; Koomen, G. *J. Org. Lett.* **2000**, *2*, 1955; (d) Bois-Choussy, M.; Cadet, S.; De Paolis M.; Zhu, J. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 4503; (e) Grigg, R.; MacLachlan, W. S.; MacPherson, D. T.; Sridharan, V.; Suganthan, S.; Thornton-Pett M.; Zhang, J. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 6585; (f) Dondas, H. A.; Duraisingham, J.; Grigg, R.; MacLachlan, W. S.; MacPherson, D. T.; Thornton-Pett, M.; Sridharan V.; Suganthan, S. *Tetrahedron* **2001**, *56*, 4063.

Lorsque le noyau aromatique n'est pas activé, une procédure en deux étapes est requise. Dans un premier temps, l'imine est formée puis isolée. Dans un second temps, l'imine est activée pour permettre la cyclisation. Cette différence s'explique par l'effet électrodonneur plus faible du groupement méthoxy en comparaison du groupement hydroxy dans le cas de la dopamine. Ainsi les tétrahydroisoquinoléines **142-148** ont été obtenues dans les conditions principalement développées par Ohwada, par la formation préalable de l'imine issue de la condensation de la 3,4-diméthoxyphényléthylamine **141** et d'un dérivé carbonylé, suivie de la cyclisation de l'imine ainsi formée, dans l'acide trifluoroacétique (Schéma 28).^{57d}

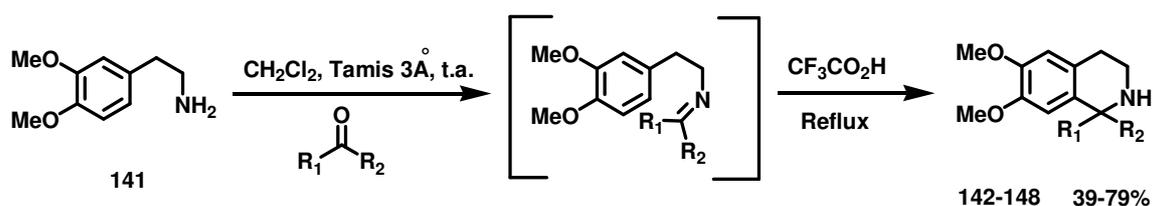


Schéma 28. Synthèse de tétrahydroisoquinoléines à partir de **141**.^{57d,75a,b}

La nature des groupements fonctionnels présents sur la partie aromatique des aldéhydes exerce une forte influence sur la vitesse de cyclisation des imines (Tableau 5).

| Entrée | R ₁ | R ₂ | Produit | T (°C) | Temps (h) | Rendement isolé (%) |
|--------|---|----------------|------------|--------|-----------|---------------------|
| 1 | CH ₃ | - | 139 | 80 | 3 | 91 |
| 2 | PhCH ₂ SCH ₂ | - | 140 | 80 | 0,25 | 70 |
| 3 | C ₆ H ₅ | H | 142 | 72 | 1,5 | 73 |
| 4 | 4-NC-C ₆ H ₅ | H | 143 | 72 | 0,75 | 75 |
| 5 | 4-O ₂ N-C ₆ H ₅ | H | 144 | 72 | 0,75 | 79 |
| 6 | 4-MeO-C ₆ H ₅ | H | 145 | 72 | 6 | 65 |
| 7 | 3-benzo[<i>b</i>]thiophene | H | 146 | 72 | 3 | 68 |
| 8 | 3-(2-C ₆ H ₅ -benzo[<i>b</i>]thiophene) | H | 147 | 72 | 8 | 62 |
| 9 | Ph | COOEt | 148 | 72 | 3 | 39 |

Tableau 5. Synthèse de tétrahydroisoquinoléines racémiques.

Une augmentation de la vitesse réactionnelle est observée lorsque des groupements électroattracteurs sont présents en position *para* du benzaldéhyde comme dans le cas d'un nitro ou cyano (entrées 4 et 5) par rapport à la vitesse observée dans le cas du phényle non substitué (entrée 3). Au contraire, en présence d'un groupement méthoxy électrodonneur, une diminution de la vitesse de réaction ainsi que des rendements plus faibles sont obtenus (entrée 6). Ce phénomène est également observé dans le cas des benzo[*b*]thiophènes et 2-phényl benzo[*b*]thiophènes (entrées 7 et 8). Enfin, la synthèse de tétrahydroisoquinolines incorporant un carbone quaternaire issu de la cyclisation a été tentée à partir de l'amine **141** dans les conditions de cyclisation en deux étapes. Dans le cas du benzoylformate d'éthyle, le rendement de cyclisation reste faible (39%), avec au départ une conversion incomplète en imine.^{57d}

2.3.2. Contrôle de la diastéréosélectivité de la réaction de Pictet-Spengler

Nous avons également étudié la réaction de Pictet-Spengler mettant en jeu un substrat chiral comme la L-DOPA (**149**), comportant deux hydroxyles aromatiques, ainsi que l'ester méthylique de la L-3,4-diméthoxyphénylalanine (**150**).

Dans le cas de la L-DOPA, la cyclisation directe de Pictet-Spengler avec le benzaldéhyde en présence de K₂CO₃ dans différents solvants protiques polaires a été étudiée. Les acides *cis*- ou *trans*-1-phényl-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tétrahydroisoquinoléine-3-carboxyliques **151a** et **152b** ont respectivement été obtenus de manière contrôlée en fonction de la nature du solvant de réaction.

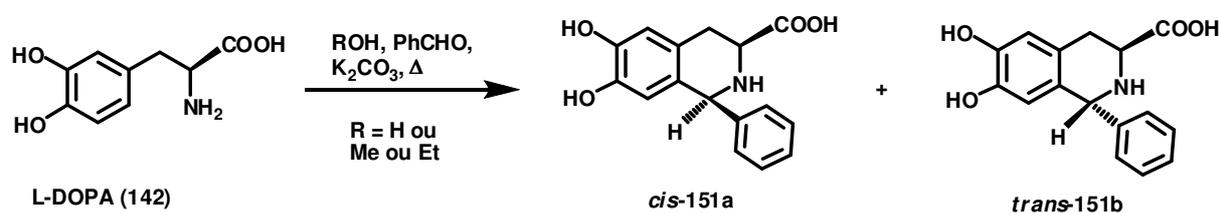


Schéma 29. Cyclisation de Pictet-Spengler avec la L-DOPA **149** et le benzaldéhyde.^{57d}

Lorsque la réaction est effectuée dans l'eau à température ambiante, le composé **151a** est obtenu par précipitation dans le milieu réactionnel après 4 heures de réaction avec un rendement de 60%. Un ratio *cis/trans* de 80 : 20 a été déterminé par RMN du proton du brut

réactionnel (Tableau 6, entrée 1). Lorsque cette même réaction est conduite à 80°C, la vitesse réactionnelle augmente. Cependant, le rendement et la stéréosélectivité obtenus après 15 minutes sont identiques aux résultats obtenus à température ambiante (entrée 2). La réaction de cyclisation a aussi été réalisée dans le méthanol à température ambiante ou à reflux conduisant, après isolement par précipitation sélective de l'isomère *trans*-**151b** pur, à un rendement compris entre 20 et 22% selon les conditions de température (entrées 3 et 4). Globalement, une sélectivité en faveur de l'isomère *cis*-**151a** (70 : 30) est obtenue. Dans l'éthanol à 60°C, nous observons la précipitation des deux diastéréoisomères (entrées 5). Ces travaux ont permis d'isoler sélectivement deux α -amino-acides, mais la diastéréosélectivité de la réaction reste faible.

| Entrée | Conditions | Temps (h) | Ratio <i>cis</i> : <i>trans</i> ^a | Rendement isolé (%) ^b |
|--------|-----------------------|-----------|--|----------------------------------|
| 1 | H ₂ O/20°C | 4 | 80 : 20 | 60 (151a) |
| 2 | H ₂ O/80°C | 0,25 | 75 : 25 | 56 (151a) |
| 3 | MeOH/20°C | 4 | 70 : 30 | 20 (151b) |
| 4 | MeOH/60°C | 0,25 | 65 : 35 | 22 (151b) |
| 5 | EtOH/60°C | 0,25 | 70 : 30 | 25 (151a/151b = 70 : 30) |

^aDéterminé par RMN du proton du brut réactionnel.

^bObtenu par précipitation.

Tableau 6. Conditions réactionnelles de cyclisation entre la L-DOPA et le benzaldéhyde.^{57d}

Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à la synthèse de tétrahydroisoquinoléines à partir de l'ester méthylique de la L-3,4-diméthoxyphénylalanine (**150**) avec plusieurs aldéhydes aromatiques ou hétérocycliques afin d'en étudier la réactivité par rapport à la réaction de Pictet-Spengler (Schéma 30).

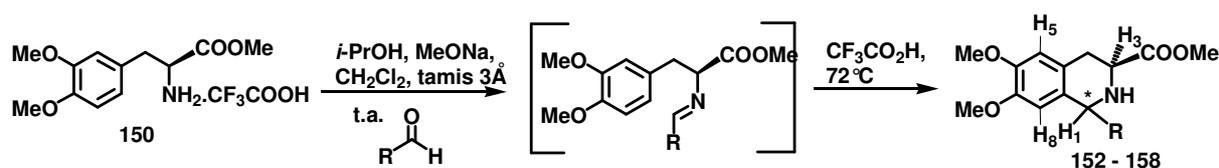
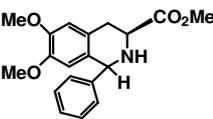
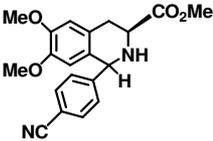
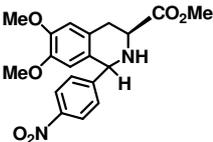
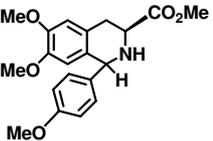
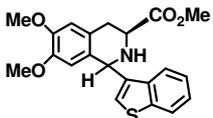
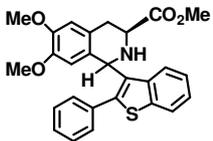
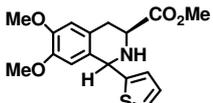


Schéma 30. Réaction de Pictet-Spengler avec **150** et divers aldéhydes.^{57d}

Chapitre 2 : Synthèse de systèmes pipérazines pentacycliques

En fonction de la nature de l'aldéhyde, les composés **152-158** ont été obtenus avec des ratios *cis/trans* compris entre 30 : 70 et 87 : 13 (Tableau 7). En présence de groupements électroattracteurs tels qu'un cyano ou un nitro en *para* de l'aldéhyde aromatique, la stéréosélectivité de la réaction est assez bonne en faveur des isomères *cis*-**153** et **154** (entrées 2 et 3). Dans le cas de noyaux aromatiques électroniquement enrichis (4-méthoxybenzaldéhyde) ou avec un benzo[*b*]thiophène-3-carboxaldéhyde, des ratios diastéréoisomérique *cis/trans* de 50 : 50 sont obtenus pour **155** et **156** (entrées 4 et 5).

| Entrée | Composé | Ratio ^a <i>Cis/trans</i> | Temps (h) ^b | Rendement total (%) | Rendement <i>cis</i> (%) | Rendement <i>trans</i> (%) |
|--------|---|--|------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| 1 |  | 75 : 25 | 1,5 | 74 | 152a : 56 | 152b : 12 |
| 2 |  | 87 : 13 | 0,75 | 79 | 153a : 70 | 153b : 0 |
| 3 |  | 84 : 16 | 0,75 | 76 | 154a : 58 | 154b : 10 |
| 4 |  | 50 : 50 | 6 | 69 | 155a : 31 | 155b : 30 |
| 5 |  | 50 : 50 | 2 | 72 | 156a : 34 | 156b : 31 |
| 6 |  | 85 : 15 | 12 | 49 | 157a : 39 | 157b : 5 |
| 7 |  | 30 : 70 | 2 | 70 | 158a : 18 | 158b : 45 |

^a Déterminé par RMN du proton du brut réactionnel.

^b Déterminé par CCM après conversion complète de l'imine.

Tableau 7. Composés synthétisés avec **150**.^{57d}

En revanche, dans le cas du 2-phényl-benzo[*b*]thiophène-3-carboxaldéhyde stériquement encombrant, la stéréosélectivité en faveur de l'isomère *cis*-**157** est favorisée (entrée 6). Enfin, la cyclisation avec le thiophène-2-carboxaldéhyde donne un ratio *cis/trans* inversé en faveur de l'isomère *trans*-**158** de 30 : 70 (entrée 7). La réaction a aussi été conduite avec le 1-méthylpyrrole-2-carboxaldéhyde, mais le produit désiré n'a pu être isolé.

2.3.3. Caractérisation structurale des tétrahydroisoquinoléines synthétisées

Généralement, les isomères *cis* et *trans* possèdent des propriétés similaires en terme de polarité et de caractéristiques spectroscopiques RMN. Dans la présente série de composés synthétisés (**152-158**), nous observons une différence de polarité suffisamment nette permettant la séparation des diastéréoisomères.⁷⁸ Cette séparation a été réalisée par chromatographie sur gel de silice. Chacun des composés a été caractérisé par spectroscopie RMN du proton et du carbone.

L'attribution exhaustive des signaux de résonance a été faite sur la base des expériences RMN bidimensionnelles de type HSQC (Heteronuclear Single Quantum Correlation) et NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy). Pour la détermination conformationnelle des composés **152-158**, les expériences NOESY nous ont permis de déterminer la configuration absolue de la stéréochimie des diastéréoisomères *cis* et *trans*.⁷⁹ En effet, nous observons dans le spectre bidimensionnel proton-proton (NOESY), la présence ou l'absence d'un signal de corrélation qui correspond typiquement aux interactions entre les protons H-1 et H-3 (Figure 9). Cette particularité a permis d'établir et de confirmer la stéréochimie de nos composés. Par exemple, dans le cas de l'isomère *cis*-**152a**, les deux signaux de résonance localisés à 5,01 ppm et 3,76 ppm et corrélés par un pic d'interaction dans le spectre NOESY ont été attribués respectivement aux protons H-1 et H-3. Au contraire, dans le cas du composé *trans*-**152b**, les protons H-1 et H-3 sont caractérisés par un singulet à 5,19 ppm et un doublet de doublet à 3,72 ppm respectivement, en l'absence de toute corrélation dans le spectre NOESY. D'une manière générale, nous pouvons noter que les déplacements chimiques des trois singulets correspondants aux protons H-1, H-5 et H-8 des isomères *cis* sont plus déblindés que ceux des

⁷⁸ Ungemarch, F.; Soerens, D.; Weber, R.; DiPierro, M.; Campos, O.; Mokry, P.; Cook J. M.; Silverton, J. V. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 6976.

⁷⁹ (a) Dominguez, E.; Lete, E.; Badia, M. D.; Villa, M. J.; Castedo L.; Dominguez, D. *Tetrahedron* **1987**, *43*, 1943; (b) Wang, H.; Usui, T.; Osada H.; Ganesan, A. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1577; (c) Hall L. D.; Sanders, J. K. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5703.

isomères *trans* correspondants. De manière inverse, les déplacements chimiques des carbones C-1 et C-3 appartenant aux isomères *cis* ont des signaux plus blindés que ceux des isomères *trans* correspondants, propriété déjà décrite par l'équipe de Cook concernant la caractérisation d'analogues structuraux de type tétrahydro- β -carbolines (Tableau 8).^{33b,78}

| Composé | δ (ppm) H-1 | δ (ppm) H-5 | δ (ppm) H-8 | δ (ppm) C-1 | δ (ppm) C-3 |
|------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 151a (<i>cis</i>) | 4,87 | 6,41 | 5,88 | 59,1 | 62,3 |
| 151b (<i>trans</i>) | 5,09 | 6,51 | 6,15 | 52,6 | 58,8 |
| 152a (<i>cis</i>) | 5,01 | 6,56 | 6,09 | 56,9 | 63,2 |
| 152b (<i>trans</i>) | 5,19 | 6,59 | 6,28 | 52,5 | 59,3 |
| 153a (<i>cis</i>) | 5,08 | 6,57 | 5,97 | 56,5 | 62,7 |
| 154a (<i>cis</i>) | 5,20 | 6,60 | 6,00 | 56,5 | 62,4 |
| 154b (<i>trans</i>) | 5,32 | 6,66 | 6,22 | 52,6 | 58,4 |
| 155a (<i>cis</i>) | 5,03 | 6,62 | 6,18 | 57,0 | 62,6 |
| 155b (<i>trans</i>) | 5,23 | 6,64 | 6,34 | 52,4 | 58,6 |
| 156a (<i>cis</i>) | 5,57 | 6,71 | 6,34 | 56,9 | 57,9 |
| 156b (<i>trans</i>) | 5,71 | 6,70 | 6,57 | 52,5 | 53,8 |
| 157a (<i>cis</i>) | 5,54 | 6,68 | 6,22 | 56,3 | 57,2 |
| 157b (<i>trans</i>) | 5,63 | 6,72 | 6,25 | 52,4 | 55,2 |
| 158a (<i>cis</i>) | 5,37 | 6,54 | 6,32 | 56,9 | 58,3 |
| 158b (<i>trans</i>) | 5,41 | 6,54 | 6,47 | 51,8 | 55,0 |

Tableau 8. Déplacements chimiques des protons H-1, H-5, H-8 et carbones C-1 et C-3.^{57d}

L'analyse conformationnelle et l'examen du modèle moléculaire montrent deux conformations demi-chaise possibles (A et B, Figure 9) pour les isomères *cis*. Le conformère **A** représente la structure la plus stable aux vues des interactions défavorables entre les groupes ester méthylique et *p*-cyano-phényle visibles pour le conformère **B**.



Figure 9. Conformation et effet NOE observés dans les isomères *cis*.

Afin de confirmer les hypothèses structurales émises, la structure à l'état solide du composé **153a** a été déterminée par cristallographie aux rayons X (Figure 10). Ce composé cristallise dans une conformation demi-chaîse avec une stéréochimie *cis* des substituants en C-1 et C-3 adoptant une position pseudo équatoriale et une orientation axiale des hydrogènes H-1 et H-3.⁸⁰ Une structure de tétrahydro- β -carboline assimilée aux tétrahydroisoquinoléines a été reportée par le groupe de Bailey et montre les mêmes caractéristiques que décrites précédemment.⁸¹

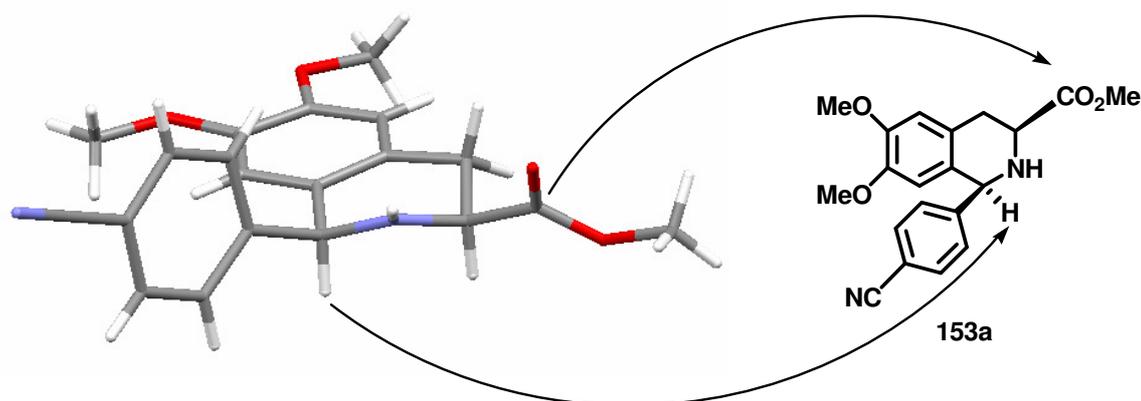


Figure 10. Structure cristalline de **153a**.

2.3.4. Conclusion

A cours de l'étude menée pour la réaction de Pictet-Spengler, 24 tétrahydroisoquinoléines ont été synthétisées. A partir des amines **138** et **141**, 9 composés ont été obtenus en mélange racémique. A partir de la L-DOPA **149** et de l'analogue **150**, 15 tétrahydroisoquinoléines ont été synthétisées par cyclisation diastéréosélective avec une meilleure sélectivité envers les

⁸⁰ Les données cristallographiques ont été déposées au "Cambridge Crystallographic Data Centre" sous la référence CCDC 265040.

⁸¹ Alberch, L.; Bailey, P. D.; Clingan, P. D.; Mills, T. J.; Price R. A.; Pritchard, R. G. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 1887.

isomères *cis*. Quelque soit la nature de l'aldéhyde aromatique (comportant des groupements électrodonneurs ou électroattracteurs) ou hétéroaromatique (benzo[*b*]thiophènes substitués ou non et le thiophène-2-carboxaldéhyde), les produits synthétisés ont été obtenus avec de bons rendements. Cette méthode de synthèse représente un point de départ intéressant pour introduire d'autres types de structures hétérocycliques et envisager la construction des systèmes de type pipérazine contenus dans la famille des ecteinascidines et phthalascidines.

2.4. Synthèse de systèmes pentacycliques de type pipérazine

2.4.1. Synthèse des précurseurs de type (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléine

Pour l'assemblage des deux motifs tétrahydroisoquinoléines qui constituent le corps pentacyclique de type pipérazine, plusieurs groupes ont reportés leur connexion par la formation préalable de la liaison amide à partir de l'amine secondaire de la tétrahydroisoquinoléine mise en jeu (Schéma 33).^{11b,d,41-43}

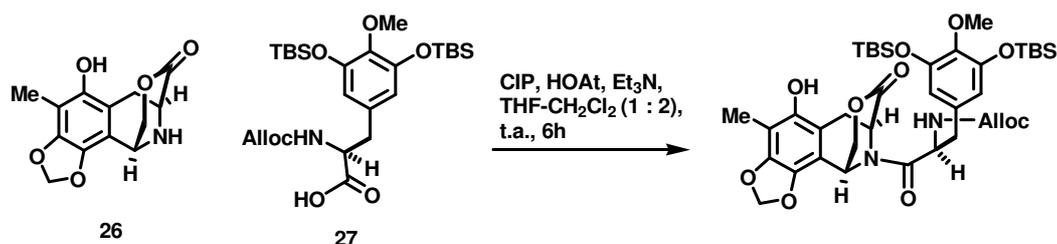


Schéma 31. Exemple de couplage peptidique.^{11b}

Néanmoins, la synthèse directe de (1-3')-bistétrahydroisoquinoléines n'a pas encore été réalisée en utilisant la réaction Pictet-Spengler. Pourtant ce type d'intermédiaire synthétique a déjà été préparé au cours de recherches dirigées vers plusieurs composés appartenant à cette famille (Schéma 32).^{14a,b,82}

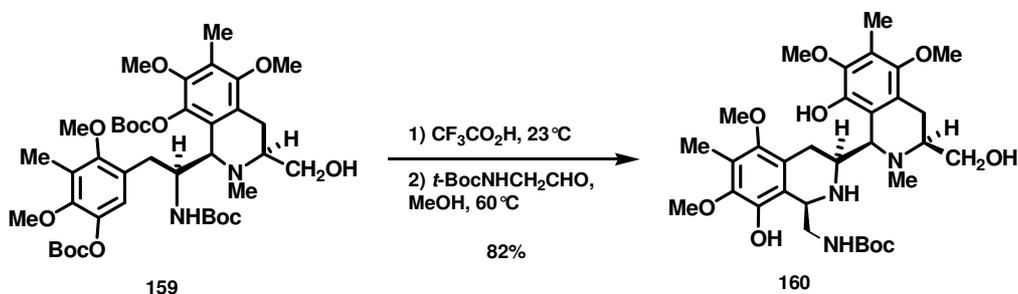


Schéma 32. Synthèse d'un intermédiaire (1-3')-bis-tétrahydroisoquinoléine.^{82a}

⁸² (a) Fukuyama, T. ; Yang, L. ; Ajeck, K ; L. ; Sachleben, R. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 3712; (b) Myers, A. G.; Kung, D. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *122*, 10828.

En se basant sur les travaux préliminaires développés pour la synthèse de tétrahydroisoquinoléines par la réaction de Pictet-Spengler, nous avons synthétisé l'aldéhyde *N*-Boc-1,2,3,4-tétrahydroisoquinoline-3-carboxaldéhyde **163**.⁸³ Ce dernier est obtenu en deux étapes à partir de l' α -amino-alcool **161**, le but étant de le condenser avec un dérivé de la L-DOPA **164** dans des conditions de cyclisation phénolique.^{57d,59} La première étape fait intervenir une protection de l'amine secondaire par un groupement *tert*-butyloxycarbonyl (*t*-Boc) dans le dichlorométhane pour obtenir **162** avec un rendement de 91% et une pureté optique dosée par HPLC (Chiracel OD) de 99% (Schéma 33). Ensuite la fonction alcool primaire a été oxydée en aldéhyde par le réactif de Dess-Martin⁸⁴ dans le dichlorométhane pour donner **163** avec un rendement de 79%. Les α -amino-aldéhydes *N*-protégés sont décrits pour être instables aussi bien chimiquement qu'optiquement.⁸⁵ Pour cela, le dosage de la pureté optique de l'aldéhyde obtenu est indispensable pour la suite de notre séquence réactionnelle. Après dosage HPLC (Chiracel OD) de **163** et du mélange racémique correspondant nous avons évalué l'excès énantiomérique de l' α -amino-aldéhyde *N*-protégé à 94%. La condensation de **164** avec **163** est ensuite réalisée dans des conditions de cyclisation faisant intervenir un solvant protique polaire, le méthanol, en présence de triéthylamine afin de neutraliser le chlorhydrate correspondant. Ces conditions réactionnelles ont conduit la formation de trois (1-3')-bis-tétrahydroisoquinoléines **165**, **166**, **167** (Schéma 33).

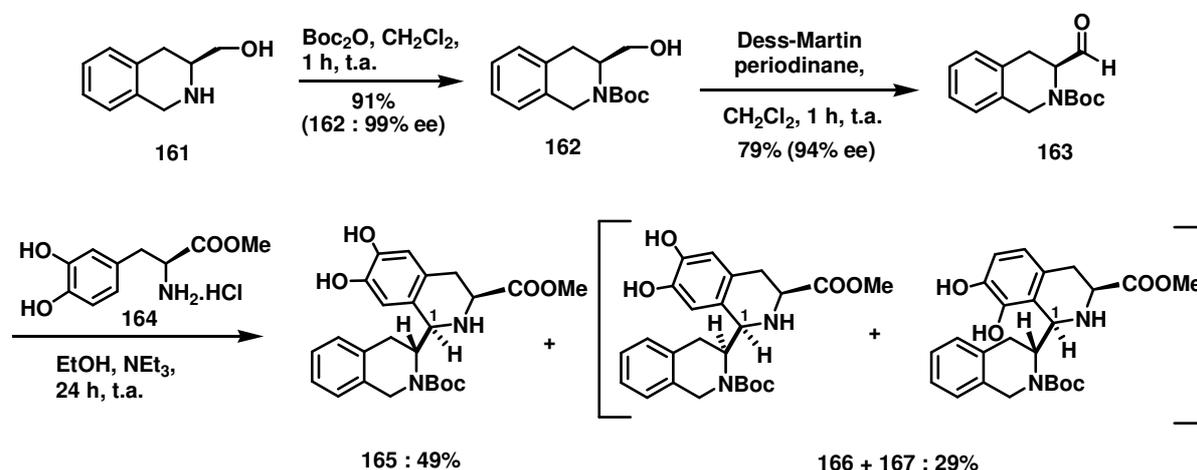


Schéma 33. Synthèse des (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléines **165**, **166** et **167**.

⁸³ Aubry, S.; Pellet-Rostaing, S.; Fenet, R.; Lemaire, M. *Tetrahedron Letters* **2006**, *47*, 1319.

⁸⁴ Dess, D. B.; Martin, J. C. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155.

⁸⁵ (a) Pour une revue, voir : Jurczak, J.; Golebiowski, A. *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 149 ; (b) Rittle, K. E. ; Homnick, C. F.; Ponticello, G. S.; Evans, B. E. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 3016.

Ces trois composés ont été obtenus avec une complète stéréosélectivité *cis* au niveau de la position C-1 de cyclisation. Les isomères **165** et **166** proviennent de la cyclisation *para* du groupement phénolique en position C-3 de la L-DOPA, alors que **167** est obtenu de la cyclisation *ortho* de ce même groupement phénolique. Le composé **165** a pu être séparé par chromatographie sur silice avec un rendement de 49%. Le mélange inséparable des isomères **166** et **167** a été isolé avec un rendement de 29% et un ratio 50 : 50.

La stéréochimie complète des (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléines **165**, **166** et **167** a été déterminée à un stade plus avancé de notre séquence réactionnelle par expériences RMN 2D (HSQC, COSY et NOESY) et confirmée par analyses aux rayons X des dérivés **174** et **178** issus de la N-méthylation des composés **166** et **167** (Schéma 37).

2.4.2. Synthèse des systèmes pentacycliques et élucidation structurale

Comme remarqué au cours de la synthèse, un phénomène d'épimérisation se produit au cours de la réaction de cyclisation de Pictet-Spengler conduisant à la formation de **165** et **167**. Ceci a été confirmé par l'analyse aux rayons X des composés **174** et **178** (Figure 11).⁸⁶

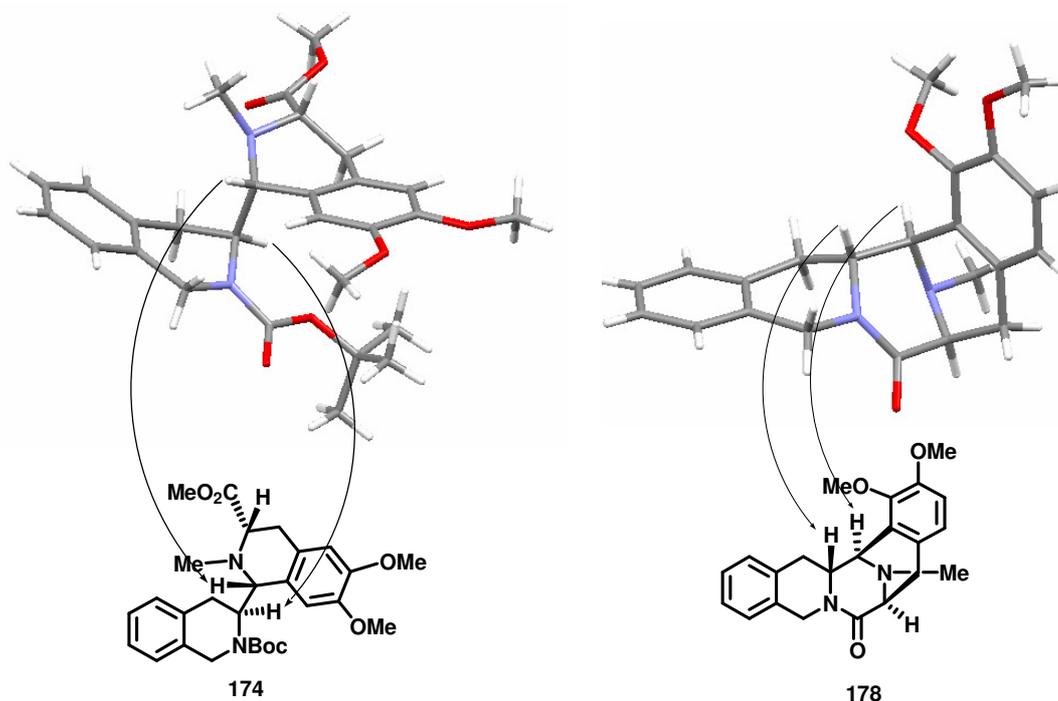


Figure 11. Analyses des structures **174** et **178** aux rayons X.

⁸⁶ Les données cristallographiques ont été déposées au "Cambridge Crystallographic Data Centre" sous les références CCDC 287225 et 286961 pour les composés **174** et **178**.

Ce phénomène d'épimérisation se produirait au niveau du centre asymétrique en α de l'aldéhyde **163**. De plus, les conditions de cyclisation dans un solvant protique polaire semblent favoriser l'épimérisation de l'aldéhyde **163**.⁸⁵ Nous observons aussi la présence de rotamères pour chacun des composés **165**, **166** et **167**. En fait, lorsque nous réalisons une expérience RMN du proton à 80°C dans le DMSO- d_6 du mélange d'isomères **166** et **167**, le spectre se simplifie (mettant en évidence le dédoublement des signaux lorsque l'expérience est réalisée à température ambiante dans le $CDCl_3$). La structure de **163** a donc été confirmée par la présence de deux doublets mettant en évidence le couplage *ortho* des protons du noyau aromatique à 6,45 ppm ($J=8$ Hz) et 6,65 ppm ($J=8$ Hz). De plus, l'intégrité optique du stéréocentre en α de l'aldéhyde **163** a été confirmée par analyse aux rayons X des structures **174** et **178**.⁸⁶ A la suite, nous avons réalisé une séquence réactionnelle de trois étapes de modification fonctionnelle des (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléines afin d'introduire une fonction α -amino-acide requise pour induire un couplage peptidique intramoléculaire à six centres (Schéma 34).⁸⁷

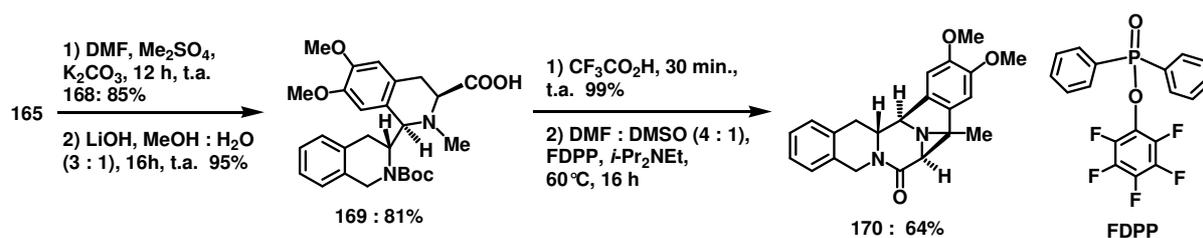


Schéma 34. Synthèse du lactame 170.

Cette séquence réactionnelle a tout d'abord été mise au point à partir du composé **165**. La première étape repose sur la méthylation des hydroxyles aromatiques et de l'amine secondaire en présence de diméthylsulfate (Me₂SO₄) et de carbonate de potassium (K₂CO₃) dans le diméthylformamide (DMF). Cette réaction conduit à l'intermédiaire **168** avec un rendement de 85% (Schéma 34). L'hydrolyse de la fonction ester en acide carboxylique correspondant a été réalisée par l'hydroxyde de lithium (LiOH) dans un mélange MeOH/H₂O (3 : 1) pour donner **169** avec un rendement de 95%. Nous avons alors tenté de réaliser une étape de déprotection-cyclisation concomitante afin d'obtenir la structure pentacyclique recherchée. Des essais infructueux ont été réalisés en présence de K₂CO₃ dans le méthanol, conditions théoriquement appropriées pour déprotéger le groupement *t*-Boc et pouvoir induire la cyclisation entre l'amine secondaire et l'ester. Nous avons également tenté sans succès la

⁸⁷ For a review, see: Humphrey, J. M.; Chamberlain, A. R. *Chem. Rev.* **1996**, 97, 2243.

déprotection en milieu acide avec l'acide trifluoroacétique (CF₃CO₂H) de l'ester **165** ou en présence de triméthylsilyl de triflorométhanesulfonate (TMSOTf).⁸⁸ Finalement, la déprotection de l'amine a été obtenue dans CF₃CO₂H à partir de **169** afin d'obtenir l' α -amino-acide désiré. Cet intermédiaire a ensuite été directement engagé dans l'étape clé de cyclisation intramoléculaire par couplage peptidique. Différents agents de couplage classiques en présence ou non d'un agent d'activation ont été testés (Tableau 9). L'utilisation de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) et de diméthylaminopyridine (DMAP)⁸⁹ ou de chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (EDCI) et de 1-hydroxybenzotriazole (HOBt)⁹⁰ ou bien d'hexafluorophosphate de (benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphonium (PyBop[®])⁹¹ en présence de triéthylamine (NEt₃) s'est montrée inefficace en terme de rendement vis-à-vis de la préparation du composé **170** désiré (entrées 1-3).

| Entrée | Agent de couplage | Solvant | Base (equiv.) | Concentration | Température | Temps | Rendement |
|-----------|--------------------|---------------------------------|---------------------------------------|-------------------|--------------|-------------|------------|
| 1 | DCC/DMAP | CH ₂ Cl ₂ | NEt ₃ (3) | 0,05 mol/L | 20 °C | 24 h | 15% |
| 2 | EDCI/HOBt | DMF | NEt ₃ (3) | 0,05 mol/L | 20 °C | 24 h | 20% |
| 3 | PyBop [®] | DMF | NEt ₃ (3) | 0,05 mol/L | 20 °C | 24 h | 18% |
| 4 | FDPP | CH ₂ Cl ₂ | <i>i</i> -Pr ₂ NEt (5) | 0,05 mol/L | 20 °C | 24 h | 24% |
| 5 | FDPP | DMF | <i>i</i> -Pr ₂ NEt (5) | 0,06 mol/L | 20 °C | 24 h | 28% |
| 6 | FDPP | DMF | <i>i</i> -Pr ₂ NEt (5) | 0,01 mol/L | 60 °C | 24 h | 19% |
| 7 | FDPP | DMF | <i>i</i> -Pr ₂ NEt (5) | 0,06 mol/L | 60 °C | 24 h | 32% |
| 8 | FDPP | DMF/DMSO (4 : 1) | <i>i</i> -Pr ₂ NEt (5) | 0,06 mol/L | 20 °C | 16 h | 32% |
| 9 | FDPP | DMF/DMSO (4 : 1) | <i>i</i> -Pr ₂ NEt (5) | 0,06 mol/L | 60 °C | 16 h | 36% |
| 10 | FDPP | DMF/DMSO (4 : 1) | <i>i</i> -Pr ₂ NEt (5) | 0,10 mol/L | 60 °C | 16 h | 41% |
| 11 | FDPP | DMF/DMSO (4 : 1) | <i>i</i>-Pr₂NEt (5) | 0,15 mol/L | 60 °C | 16 h | 64% |

Tableau 9. Conditions expérimentales du couplage peptidique intramoléculaire.

⁸⁸ Schmidt, U.; Weller, D.; Holder, A.; Lieberknecht, A. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 3227.

⁸⁹ Hassner, A.; Alexanian, V. *Tetrahedron Lett.* **1978**, 19, 4475.

⁹⁰ (a) König, W.; Geiger, R. *Chem. Ber.* **1970**, 103, 788. (b) König, W.; Geiger, R. *Chem. Ber.* **1970**, 103, 2024. (c) König, W.; Geiger, R. *Chem. Ber.* **1973**, 106, 3626.

⁹¹ Coste, J.; Le-Nguyen, D.; Castro, B. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 205.

Finalement, le couplage peptidique intramoléculaire à six chaînons a été optimisé avec de meilleurs rendements en présence de pentafluorophényl diphénylphosphinate (FDPP)⁹² et de di-*iso*-propyléthylamine (*i*-Pr₂NEt) dans le CH₂Cl₂ (entrée 4) ou dans le DMF (entrées 5-7). La cyclisation est finalement réalisée avec succès en présence de FDPP et de *i*-Pr₂NEt dans un mélange de DMF et de DMSO (entrées 8-11) pour produire exclusivement le composé **170** avec 64% de rendement lorsque la réaction est chauffée à 60°C pour une concentration de 0.15 mol/L (entrée 11). La réduction et la fonctionnalisation de la fonction lactame du pentacycle **170** ont ensuite été envisagées afin de permettre l'incorporation des fonctions requises à l'évaluation biologique de cette famille de composés. La réduction de l'amine par action d'hydrure de di-*iso*-propylaluminium (DIBAL-H) dans le tétrahydrofurane (THF) à -78°C conduit à la formation d'un mélange de carbinolamines. Ce mélange est immédiatement mis en réaction dans le CH₂Cl₂ en présence d'acide acétique (AcOH) sous l'action de cyanure de triméthylsilyle (TMSCN), permettant d'obtenir l' α -amino-nitrile **171** avec un rendement de 72%. La stéréochimie de **171** a été déterminée grâce au spectre NOESY de ce composé, par mesure des distances internucléaires issues de l'analyse de l'intensité des pics de corrélation.⁹³ D'autre part, lorsque la réduction de **170** est réalisée en présence d'un excès de DIBAL-H (7 équivalents) à -78°C, la benzylamine **172** est obtenue avec un rendement de 92%.

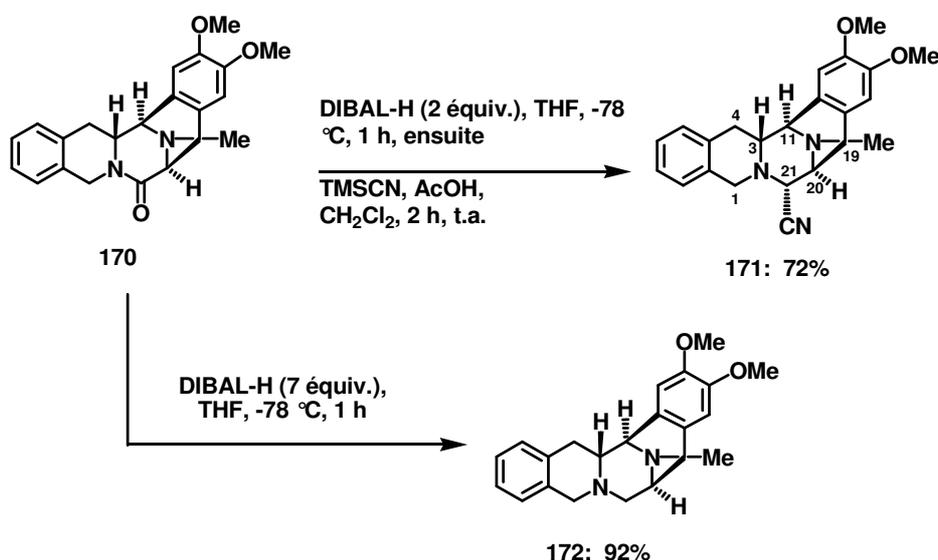


Schéma 35. Synthèse des systèmes pipérazines pentacycliques fonctionnalisés.

⁹² Chen, S.; Xu, J. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 6711.

⁹³ (a) Bodenhausen, G.; Ernst, R. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 1304. (b) Reggelin, M.; Hoffmann, H.; Köck, M.; Mierke, D. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 3272.

La réduction de la fonction nitrile par l'aluminohydrure de lithium (LiAlH_4) suivie de la condensation de l'amine primaire correspondante avec l'anhydride phthalique (Phth_2O) en présence de 1,1'-carbonyldiimidazole (CDI) donne le dérivé phthalimide **173** correspondant avec un rendement global de 62% (Schéma 36). Pour ce composé, la fonction phthalimidométhyle est localisée en position C-21 et non en C-1 comme dans le cas de la Phthalascidine 650. Ceci pouvait se montrer intéressant dans le cas d'une étude structure-activité ou bien en inversant la position C-21 d'alkylation de l'ADN, c'est-à-dire en introduisant une fonction nitrile en position C-1 et un dérivé phthalimide en C-21.

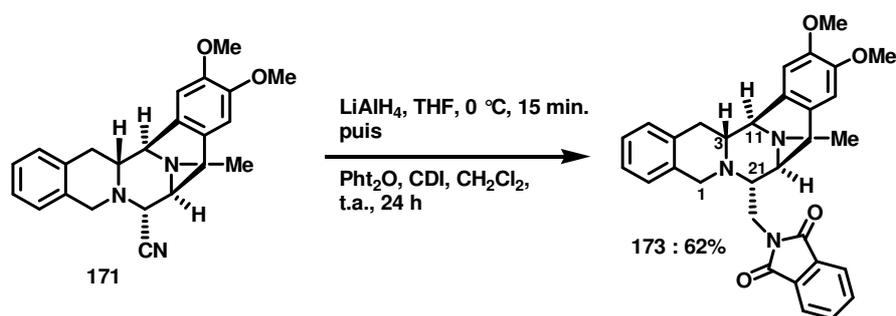


Schéma 36. Réduction de la fonction nitrile et fonctionnalisation de **171**.

Néanmoins, les composés synthétisés comportent la stéréochimie *anti* autour de la liaison C-3–C-11, opposée à celle que l'on trouve dans cette famille d'alcaloïdes. Pour confirmer ces observations, nous avons appliqué la même séquence réactionnelle aux composés **166** et **167**. Pour cela, le mélange des composés **166** et **167** a été engagé dans l'étape de triméthylation simultanée de l'amine et des hydroxyles aromatiques permettant à ce stade la séparation et l'isolement des composés **174** et **175** (Schéma 37). L'obtention de monocristaux de **174** a permis par ailleurs de confirmer sa structure et sa stéréochimie par analyse aux rayons X (Figure 11, page 47).⁸⁶

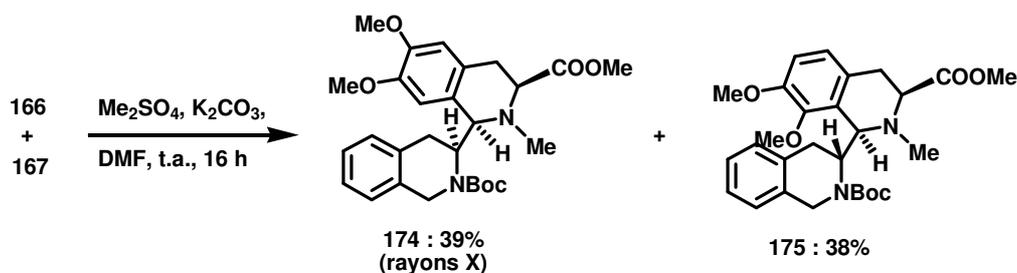


Schéma 37. Séparation des isomères **174** et **175**.

L'hydrolyse de la fonction ester de **174** en acide carboxylique **176** correspondant par LiOH se fait avec un rendement de 95% (Schéma 38). Après déprotection de l'amine dans CF₃CO₂H, l' α -amino-acide ainsi obtenu est engagé dans les conditions optimisées de cyclisation peptidique intramoléculaire. Malheureusement, la structure pentacyclique recherchée n'a pu être isolée. Nous pensons que la formation de l'anhydride mixte formé avec le FDPP engendre un encombrement stérique de l'intermédiaire réactionnel ainsi formé et que la substitution est difficile ou sinon impossible au sein de la cavité.

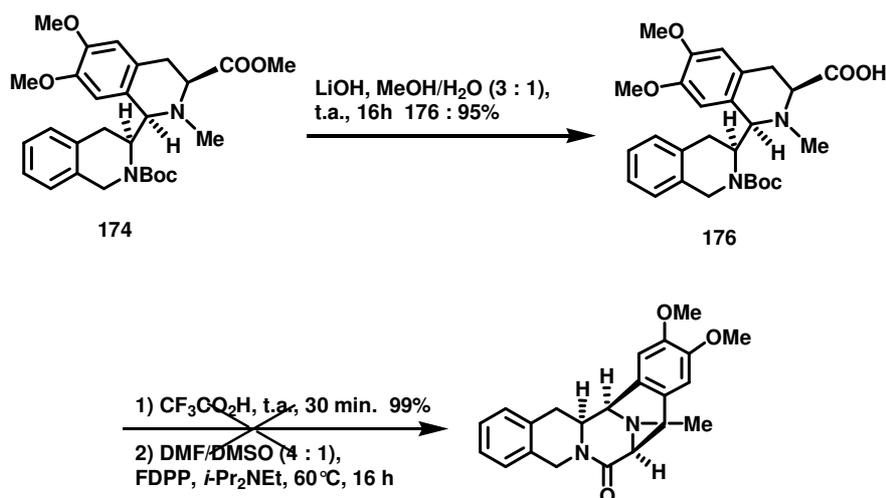


Schéma 38. Hydrolyse de **174** et tentative de cyclisation.

Parallèlement, l'hydrolyse de la fonction ester de **175** suivie du clivage du groupement protecteur *t*-Boc et de la cyclisation intramoléculaire conduit à la formation du pentacycle **178** avec un rendement de 61% (Tableau 9, entrée 11).

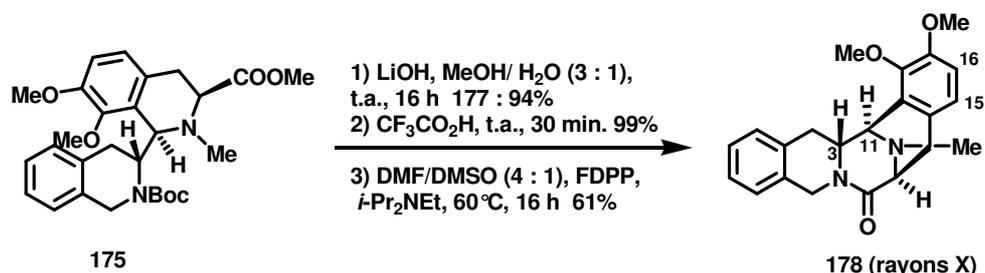


Schéma 39. Synthèse du système pentacyclique **178**.

La structure et la stéréochimie de **178** ont été élucidées sur la base des données RMN et analyse aux rayons X. L'interprétation du spectre RMN du proton révèle que les doublets typiques de chaque proton aromatique se confondent en un singulet localisé à 6,86 ppm. Ce

phénomène résulte d'un effet de couplage de spin dégénéré des signaux de résonance de H-15 et H-16 qui possèdent le même déplacement chimique. De plus, l'expérience HSQC a confirmé cette hypothèse par la présence d'une corrélation entre le signal de résonance des deux protons à 6,86 ppm et les signaux de résonances distincts des deux carbones liés aux protons en question localisés à 112,4 ppm et 124,4 ppm. Néanmoins, l'analyse diffractométrique des rayons X de **174** a révélé une relation stéréochimique *anti* autour de la liaison C-3–C-11, correspondant à l'épimérisation de l' α -amino-aldéhyde **163** au cours de l'étape de cyclisation de type Pictet-Spengler.⁸⁶ Ce phénomène a aussi été observé précédemment au cours de l'étape de cyclisation de type phénolique.^{14e,41c,94}

En appliquant les mêmes procédures de transformation du pentacycle **170**, la fonctionnalisation et la réduction de **178** aboutissent à l' α -amino-nitrile **179** et à la benzylamine **180** avec des rendements respectifs de 69% et 83% (Schéma 40).

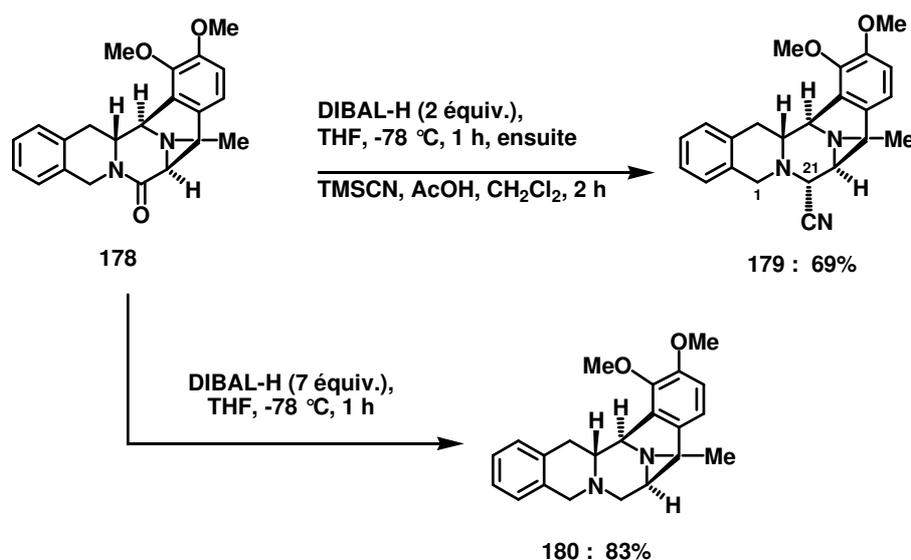


Schéma 40. Synthèse de l' α -amino-nitrile **179** et de la benzylamine **180**.

Dans l'idée d'accéder à des composés tels que l'Et 743 ou la Pt 650, ayant le même comportement vis-à-vis de l'alkylation de l'ADN, la synthèse de (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléines portant une fonction hautement réactive a été envisagée par estérification des acides carboxyliques **169**, **176** et **177** par le pentafluorophénol en présence

⁹⁴ (a) Chan, C.; Heid, R.; Zheng, S.; Guo, J.; Zhou, B.; Furuuchi, T.; Danishefsky, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4596-4598; (b) Chan, C.; Danishefsky, S. J. *Heterocycles* **2006**, *70*, 113.

de PyBop[®] (Schéma 41).⁹¹ Cette réaction a permis de synthétiser les esters de pentafluorophenyl correspondants **181** et **182** respectivement à partir de **169** et **176**. A partir de l'acide **177**, l'ester correspondant s'est avéré instable.

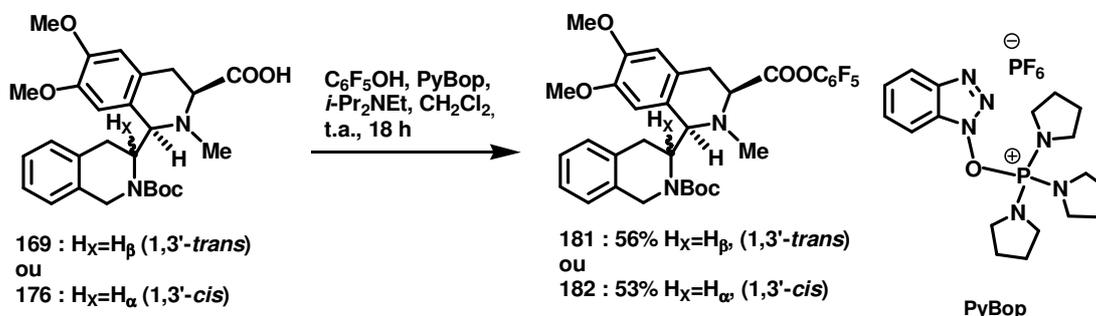


Schéma 41. Synthèse de (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléines réactives.

2.4.3. Evaluation des propriétés antiprolifératives des composés synthétisés

Les évaluations biologiques des composés synthétisés ont été réalisées en collaboration avec le « Centre for Molecular Drug Design » de l'université de Salford (Grande-Bretagne) sous la supervision du Professeure Sylvie Ducki et l'aide du Docteur Jérémie Fournier Dit Chabert.

Le test colorimétrique basé sur la réduction du bromure de 3-(4',5'-diméthylthiazol-2'-yl)-2,5-diphényltétrazolium (MTT) a permis d'évaluer l'activité des molécules sur diverses lignées cellulaires de souris et humaines. Ce test est très utilisé pour évaluer les effets potentiels d'agents anticancéreux sur la prolifération *in vitro* des cellules cancéreuses.

Les cellules cancéreuses ont été cultivées en présence de l'agent anticancéreux potentiel dans des plaques 96 puits en utilisant une procédure déjà reportée dans la littérature.⁹⁵ Le réactif utilisé est le sel de tétrazolium MTT **183**. La fonction tétrazolium qu'il contient est réduite par l'enzyme succinate déshydrogénase mitochondriale des cellules vivantes actives, en formazan **184**. La couleur du milieu évolue du jaune au bleu-violacé. L'intensité de cette coloration est proportionnelle au nombre de cellules vivantes présentes lors du test mais aussi à leur activité métabolique. La quantité de cellules encore vivantes après trois heures d'incubation peut être déterminée spectrophotométriquement en mesurant la densité optique de la solution à deux

⁹⁵ (a) Mosman, T. J. *Immunol. Methods* **1983**, 65, 55; (b) Edmonson J. M., Armstrong L. S. and Martinez A. O. *J. Tissue Culture Methods*, **1988**, 11, 15.

longueurs d'ondes différentes ($\lambda=540$ nm et 610 nm) en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible.

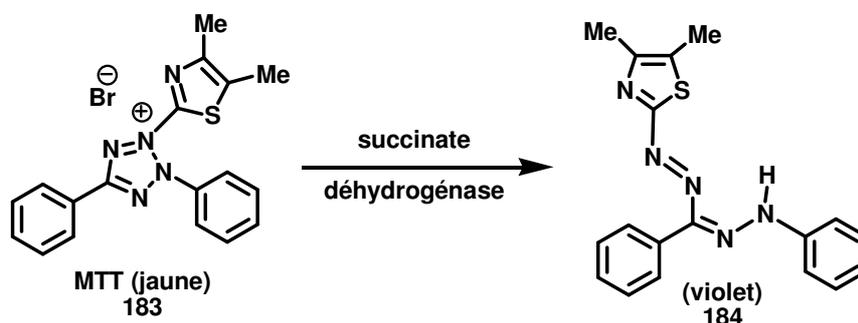
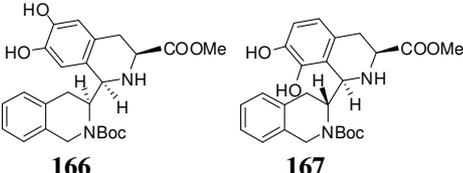
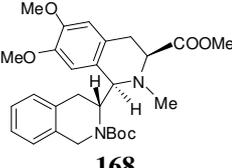
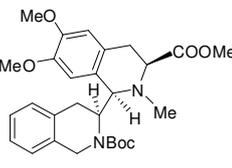
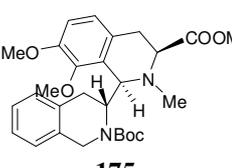


Schéma 42. Principe du test biologique MTT.

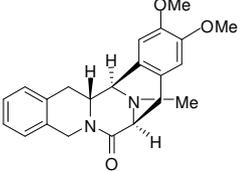
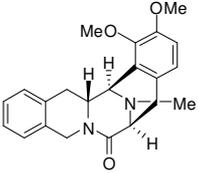
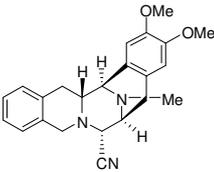
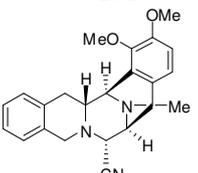
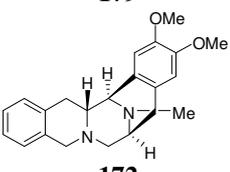
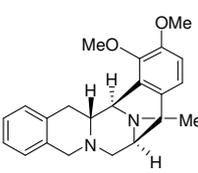
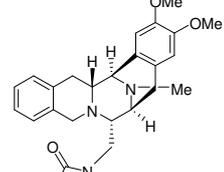
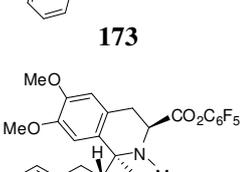
L'activité biologique d'un composé est souvent reportée comme comportant une valeur de concentration d'inhibition à 50%. Cette valeur est la concentration de principe actif impliquant l'inhibition de la moitié de la prolifération cellulaire en comparaison à une valeur contrôle en l'absence de ce principe actif après cinq jours d'incubation. L'ensemble des molécules a préliminairement été testé vis-à-vis de la lignée cellulaires humaine K562 (leucémie myélogène humaine) *in vitro*. Les plus actives ont été sélectionnées afin d'être testées sur d'autres lignées cellulaires. En effet, les composés les plus prometteurs (quatorze d'entre eux) ont été testés sur deux lignées cellulaires humaines supplémentaires (A549 carcinome humain du poumon, MCF-7 carcinome humain du sein) et deux lignées cellulaires de souris comportant une leucémie du sang (P388) et des lymphocytes (L1210). Les composés ont été testés trois fois pour s'assurer de la fiabilité des valeurs de concentration inhibitrice déterminées.⁹⁶ En accord avec des études reportant le mode d'action des alcaloïdes de la famille des ecteinascidines et de ses analogues,^{29,30} les composés **171** et **179** comportant une fonction α -amino-nitrile sont les plus cytotoxiques vis-à-vis de chaque lignées cellulaires (Tableau 10, entrées 7 et 8). En l'absence de groupe partant en position C-21, à travers la formation d'un iminium, tel que les amides **170** et **178** (entrées 5 et 6) et les benzylamines **172** et **180** (entrées 9 et 10), mais aussi comme observé pour plusieurs saframycines, reinieramycines, safracines et ecteinascidines, les cytotoxicités sont plus faibles. De plus, le dérivé phthalimide **173** (entrée 11) n'a pas révélé d'activité antiproliférative confirmant que la présence d'un groupe partant permettant la formation d'une espèce réactive vis-à-vis de

⁹⁶ Aubry, S.; Fournier Dit Chabert, J. ; Pellet-Rostaing, S.; Ducki S.; Lemaire, M. *Bioorg. Med. Chem. Letters* **2007**, *17*, 2597.

l'ADN, telle un iminium, semble essentielle pour l'activité anticancéreuse de cette famille de molécules. Les composés de type (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléines **166-168** et **174, 175** (entrées 1-4) sont cytotoxiques à des concentrations micromolaires. Cependant, dans le cas des (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléines activées **181** et **182** (entrées 12 et 13), les cytotoxicités se rapprochent de celles des α -amino-nitriles **171** et **179** qui comportent aussi une fonction réactive. La cytotoxicité relative aux (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléines semble dépendre de la substitution de la fonction carboxylate. En effet, nous avons constaté que les acides carboxyliques **169, 176** et **177** dont les cytotoxicités ont été évaluées sur les cellules K562 ne présentaient aucune activité. Dans le cas des esters méthyliques **168, 174, 175** moins réactifs vis-à-vis d'une réaction de substitution que les esters pentafluorophényl **181** et **182**, nous observons des cytotoxicités plus faibles. Cette observation pourrait être liée au phénomène d'alkylation de l'ADN par rapport à des entités réactives de type iminium généré par perte d'une molécule d'acide cyanhydrique (HCN) ou d'eau (Schéma 2). Ceci pourrait aussi être lié à un phénomène de transport des composés au sein de la cellule. D'une manière plus générale, une inhibition plus prononcée vis-à-vis de la prolifération des cellules L1210 a été observée avec les composés pentacycliques synthétisés.

| Entrée | Composé | CI ₅₀ (μM) | | | | |
|--------|--|-----------------------|------|-------|------|-------|
| | | K562 | A549 | MCF-7 | P388 | L1210 |
| 1 |  166 167 | 34,6 | >100 | 56,6 | 12,4 | 12,1 |
| 2 |  168 | 44,3 | 62,0 | 37,4 | 57,0 | 6,4 |
| 3 |  174 | 20,8 | 67,5 | 37,5 | 24,6 | 10,0 |
| 4 |  175 | 40,2 | 55,6 | 37,9 | 19,6 | 15,8 |

Chapitre 2 : Synthèse de systèmes pipérazines pentacycliques

| | | | | | | |
|----|---|------|------|------|------|------|
| 5 |  <p>170</p> | >100 | >100 | >100 | >100 | >100 |
| 6 |  <p>178</p> | >100 | >100 | >100 | >100 | >100 |
| 7 |  <p>171</p> | 24,7 | 33,4 | 21,7 | 11,6 | 1,4 |
| 8 |  <p>179</p> | 15,2 | 19,4 | 38,6 | 9,3 | 1,1 |
| 9 |  <p>172</p> | 79,8 | >100 | >100 | 11,1 | 5,1 |
| 10 |  <p>180</p> | >100 | >100 | >100 | >100 | 6,4 |
| 11 |  <p>173</p> | >100 | >100 | >100 | >100 | >100 |
| 12 |  <p>181</p> | 18,8 | 10,5 | 8,1 | 6,1 | 6,1 |

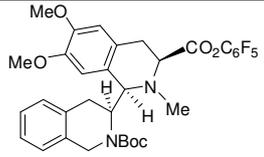
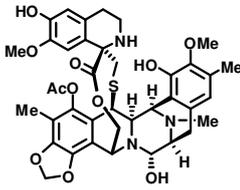
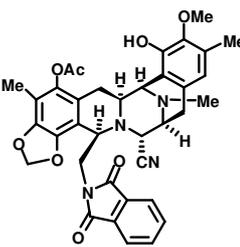
| | | | | | | |
|----|---|------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| 13 |  | 15,9 | 40,0 | 37,2 | 19,0 | 7,3 |
| 14 | <p style="text-align: center;">182</p>  | - | $0,26 \cdot 10^{-3}$ | $0,66 \cdot 10^{-3}$ | $0,22 \cdot 10^{-3}$ | $0,66 \cdot 10^{-3}$ |
| 15 | <p style="text-align: center;">Et 743^{7,13a}</p>  <p style="text-align: center;">Pt 650^{7,13a}</p> | - | $0,95 \cdot 10^{-3}$ | $0,82 \cdot 10^{-3}$ | $0,19 \cdot 10^{-3}$ | - |

Tableau 10. Activités cytotoxiques des composés **166-168**, **170-175** et **178-182**.⁹⁶

2.4.4. Etude de l'influence de nos composés sur le cycle cellulaire

Pour connaître l'influence et le mode d'action des structures pipérazines sur le cycle cellulaire, nous avons utilisé un cytomètre en flux qui permet de connaître la répartition des cellules au niveau de chaque stade du cycle cellulaire.

Le cycle cellulaire des cellules des eucaryotes supérieurs comprend quatre phases. Durant deux de ces phases, phase S et phase M, les cellules exécutent les deux événements fondamentaux du cycle : réplication de l'ADN (phase S, pour synthèse) et partage rigoureusement égal des chromosomes entre les deux cellules filles (phase M, pour mitose). Les deux autres phases du cycle, G1 et G2, représentent des intervalles (Gap). Au cours de la phase G1, la cellule effectue sa croissance, intègre les signaux mitogènes ou anti-mitogènes et se prépare pour effectuer correctement la phase S. Au cours de la phase G2, la cellule se prépare pour la phase M.

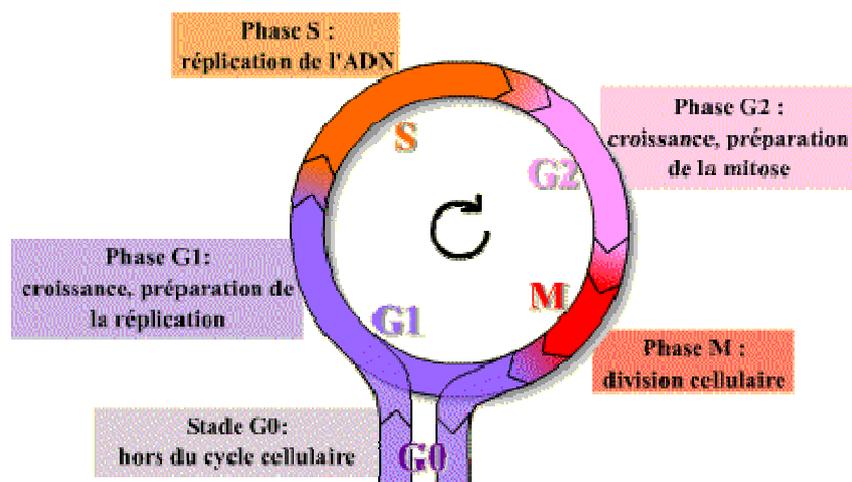


Figure 12. Les quatre phases du cycle cellulaire et le stade G0.⁹⁷

Dans un cycle, les quatre phases se succèdent dans un ordre immuable : G1, S, G2 et M. Les trois premières phases (G1, S, G2) constituent l'interphase, durant laquelle le noyau de la cellule est limité par une enveloppe nucléaire, alors que la mitose (M) est caractérisée par la disparition de cette enveloppe et par l'apparition des chromosomes. Ces derniers deviennent alors visibles au microscope photonique parce qu'ils se compactent. Après la mitose, les cellules peuvent soit passer en G1, soit entrer en G0, stade quiescent de non division.

Le cycle cellulaire représente l'intégralité de la période de division, c'est-à-dire l'ensemble des événements biochimiques et morphologiques qui sont responsables de la prolifération cellulaire. La cytométrie en flux offre une méthodologie rapide et simple à mettre en œuvre pour l'analyse du cycle cellulaire. Elle permet de suivre la distribution des cellules dans les différentes phases du cycle en fonction de divers stimulus ou de l'ajout de certaines drogues. Elle permet aussi d'identifier la présence de cellules avec des contenus anormaux d'ADN.

Nous avons donc utilisé les expériences de cytométrie en flux qui ont permis la détermination de l'influence des composés les plus actifs (**171**, **179**, **181**, **182**) sur le développement et la division des cellules K562 en mesurant la teneur en ADN des cellules eucaryotes. Les résultats obtenus montrent une proportion de cellules émettant un niveau donné de fluorescence proportionnel à la teneur en ADN.⁹⁸ Contrairement aux agents antimittotiques

⁹⁷ <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/cyclecellIBM/index.htm>

⁹⁸ McGown, A. T.; Poppitt, D. G. Swindel, R.; Fox, B. W. *Br. J. Cancer*, **1984**, *36*, 1833.

tels que la colchicine⁹⁹ et la combrestatine A4¹⁰⁰ qui bloquent le cycle cellulaire en phase G2/M, les résultats montrent que trois des composés testés (**171**, **179** et **182**) inhibent de manière significative le cycle cellulaire en phase G0/G1 et S (84,6-91,7% contre 76,7% pour une valeur contrôle non traitée) après 24 heures d'exposition au composé injecté (Tableau 11). Ces résultats sont cohérents avec un comportement d'agent alkylants de l'ADN comme le cisplatine¹⁰¹ ou bien la mitomycine C.¹⁰²

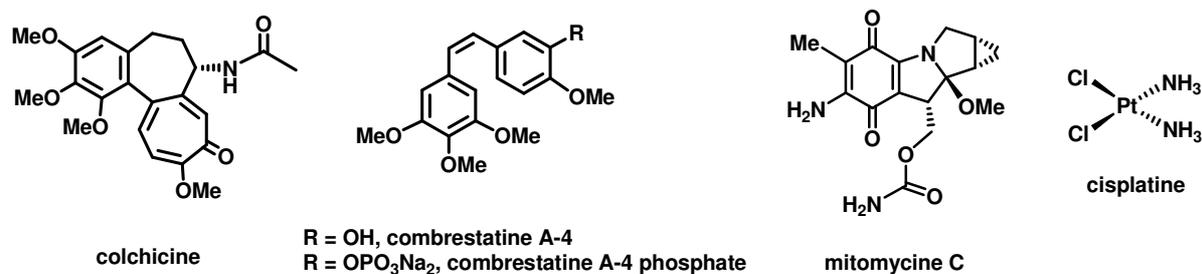


Figure 13. Exemples d'agents alkylants de l'ADN et antimétabolites.

| Composé | G0/G1 (%) | S (%) | G2/M (%) |
|------------|-----------|-------|----------|
| Contrôle | 45,2 | 31,5 | 23,3 |
| cisplatine | 60,5 | 24,1 | 15,4 |
| 171 | 55,4 | 29,2 | 15,4 |
| 179 | 54,8 | 35,1 | 10,1 |
| 181 | 51,2 | 26,5 | 22,3 |
| 182 | 55,4 | 36,3 | 8,3 |

^a Pourcentage de cellules dans chaque phase du cycle cellulaire mesuré par cytométrie en flux.

Tableau 11. Distribution du cycle cellulaire par cytométrie en flux pour les cellules K562.

⁹⁹ Bullough, W. S. *J. Exp. Biol.* **1949**, 26, 287.

¹⁰⁰ Pettit, G. R.; Singh, S. B.; Boyd, M. R.; Hamel, E.; Pettit, R. K.; Schmidt, J. M.; Hogan, F. *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 1666.

¹⁰¹ Rice, J. A.; Crothers, D. M.; Pinto, A. L.; Lippard, S. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1988**, 85, 4158.

¹⁰² Miladenov, E.; Tsaneve, I.; Anachkova, B. *Journal of Cellular Physiology* **2007**, 211, 468.

2.4.5. Conclusion

En conclusion, nous avons donc synthétisé les composés pipérazines pentacycliques α -amino-nitrile avec un rendement de 13% pour **171** et 1.6% pour **179** en 8 étapes à partir de l' α -amino-alcool **161**. Ces composés ont été obtenus par la synthèse d'intermédiaires de type (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléines issues de la condensation de type Pictet-Spengler d'un α -amino-aldéhyde et d'un dérivé de la L-DOPA. Cependant, un phénomène d'épimérisation est observé au cours de l'étape de Pictet-Spengler et a conduit à la synthèse de composés pentacycliques de type pipérazine comportant la stéréochimie *anti* autour de la liaison C3-C11. A la suite de cette analyse structurale déterminée par expériences RMN et rayons X, nous avons introduit les fonctions requises à l'évaluation biologique de nos composés ainsi que diversifié les composés pentacycliques et les (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléines par greffage de fonctions réactives. Les évaluations biologiques ont donné des résultats intéressants en ce qui concerne les cytotoxicités de l'ordre du micromolaire étant donné l'absence de fonctionnalités sur le noyau aromatique de la partie « ouest » et la stéréochimie *anti* contraire à celle de cette famille d'alcaloïde. Une capacité à promouvoir l'arrêt du cycle cellulaire en phase G0/G1 et S a été démontrée aux vues des résultats obtenus pour les composés les plus actifs.

Une large possibilité de modification des noyaux aromatiques des structures pipérazines et des (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléines ainsi que de variation de la stéréochimie de l'axe C-3-C-11 permettrait d'apporter de nombreux résultats à l'évaluation biologique de ces composés et de leurs études dans le cadre d'études de relations structure-activité.

2.5. Experimental section of Chapter 2

2.5.1. Chemistry

General methods : Reactants and solvents were supplied by Aldrich, Acros, Lancaster, Alfa Aesar and Fluka and purchased at the commercial quality and used without further purification. All reactions were carried out under an argon atmosphere with dry solvents under anhydrous conditions, unless otherwise noted. NMR spectra were recorded either on a Bruker AMX-300 (^1H : 300MHz; ^{13}C : 75MHz) or a Bruker DPX-500 (^1H : 500MHz; ^{13}C : 100MHz) instruments using CDCl_3 , $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, MeOD or D_2O as solvent. The chemical shifts (δ ppm) and coupling constants (Hz) are reported in the standard fashion. In the NMR spectra, the nature of the carbons (C, CH, CH_2 , CH_3) was determined by recording DEPT 135 spectra.

The following abbreviations were used to explain the multiplicities: s = singulet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, m = multiplet, br = broad. Infrared spectra were recorded on a Perkin Elmer FT-IR Spectrometer Paragon 500. Electrospray ionization (ESI) mass spectrometry (MS) experiments were performed on a thermo Finnigan LCQ Advantage mass. High-resolution mass spectra (HRMS) were recorded on a Finnigan Mat 95xL mass spectrometer using CI. Analytical thin-layer chromatography was effected on silica gel Merck 60 F254 (0.25 mm). Flash chromatographies were performed on Merck Si 60 silica gel (40-63 μ m). Elemental analyses were performed by the 'Service Central d'Analyses du CNRS' (Solaize, France). Optical rotation was measured at 23°C using a Perkin-Elmer 241 polarimeter. Melting points were measured on a Kofler bench. The protons chemical shifts attribution of (1,3')-bis-tetrahydroisoquinolines does not appear in reason of the presence of rotamers.

General Procedure for the synthesis of tetrahydroisoquinolines **139-140** from 3,4-dihydroxyphenylethylamine **138** : Carbonyl compound (1.1 mmol) and K₂CO₃ (1.1 mmol) were added to a solution of amine (1mmol) dissolved in EtOH (2 mL) under argon. The mixture was stirred at room temperature or at reflux from 0.25 to 3 hours depending on the nature of carbonyl compounds. The reaction was stopped when precipitation of the corresponding α -amino-acid occurred. Then the reaction mixture was filtered and washed with cold reaction solvent (5 mL).

1-Methyl-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-1-carboxylic acid 139 : This compound was obtained as a white solid in 91% yield (270 mg), mp 258-261°C (EtOH). ¹H NMR (D₂O/NaOD, 300 MHz) δ = 6.92 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 3.36 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz), 2.78 (m, 2H), 1.74 (s, 3H). ¹³C NMR (75 MHz, D₂O/NaOD) δ = 177.6 (CO), 148.9 (C), 146.9 (C), 124.5 (C), 123.0 (C), 115.7 (CH), 113.8 (CH), 64.0 (C), 39.8 (CH₂), 25.5 (CH₂), 25.2 (CH₃). CI-MS *m/z* (%) = 224 ([M+H]⁺) (100); 178 ([M+H-HCOOH]⁺) (38). CI-HRMS *m/z* = ([M+H]⁺) calcd 224.0845, found 224.0922.

1-Benzylthiomethyl-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-1-carboxylic acid 140 : This compound was obtained as an orange solid in 70% yield (266 mg), mp 240-242°C (EtOH). ¹H NMR (D₂O/NaOD, 300 MHz) δ = 7.28 (m, 5H), 6.48 (s, 1H), 6.11 (s, 1H), 3.63 (s, 2H), 3.40 (d, 1H, *J* = 16 Hz), 2.78 (d, 1H, *J* = 16 Hz), 2.72 (m, 2H), 2.35 (m, 2H). ¹³C NMR (75 MHz, D₂O/NaOD) δ = 181.1 (CO), 153.3 (2C), 139.5 (C), 129.5 (2CH), 129.2

(2CH), 127.6 (CH), 124.4 (C), 124.3 (C), 116.3 (CH), 114.3 (CH), 65.4 (C), 42.6 (CH₂), 40.2 (CH₂), 37.3 (CH₂), 28.5 (CH₂). CI-MS *m/z* (%) = 346.1 ([M+H]⁺) (100); 300.1([M-HCOOH]⁺) (23). CI-HRMS *m/z* = ([M+H]⁺) calcd 346.1035, found 346.1057.

General Procedure for the Synthesis of Tetrahydroisoquinolines **142-148** from 3,4-Dimethoxyphenylethylamine **141**. To a solution of **141** (1 mmol) stirred in 3 mL of dichloromethane with 3Å molecular sieves under argon was added aldehyde (1.1 mmol) dissolved in 3 mL of dichloromethane. The solution was then stirred from 0.5h to 12h depending on the nature of the aldehyde. The reaction progress was controlled by TLC (diethyl ether/petroleum ether = 2 : 1). When the reaction was complete the solution was diluted with 5 mL of CH₂Cl₂, filtered, washed with 10 mL of CH₂Cl₂, dried on MgSO₄ and evaporated. The Schiff base was then engaged in the next step without further purification.

The corresponding Schiff base (1 mmol) solution was suspended in CF₃CO₂H (100 mmol) and warmed at 72°C under argon between 0.75 and 8 hours. The reaction was controlled by TLC (AcOEt/*n*-heptane = 5 : 5). After complete consumption of the Schiff base the solution was diluted with CH₂Cl₂ and neutralised with saturated aqueous NaHCO₃ solution until pH 9-10. The aqueous phase was then extracted twice with 20 mL of AcOEt. The organic layers were then dried on MgSO₄, filtered, evaporated and purified on flash chromatography (silica gel, *n*-heptane/AcOEt = 5 : 5 → AcOEt) to provide the racemic mixture of the corresponding amine.

1-Phenyl-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline 142^{77a,103} : This compound was obtained as a white solid in 73% yield (196 mg), mp 127-128°C (AcOEt/*n*-heptane), (lit. mp^{77a}: 133-134°C, EtOH/*n*-heptane); ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ = 7.12-7.30 (m, 5H, 5ArH), 6.56 (s, 1H, 5-H), 6.17 (s, 1H, 8-H), 5.00 (s, 1H, 1-H), 3.79 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.53 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.12 (dt, 1H, *J* = 5.0, 12.0 Hz, CH₂CH_AH_BN), 2.96 (ddd, 1H, *J* = 5.0, 8, 12.0 Hz, CH₂CH_AH_BN), 2.82 (m, 1H, CH_AH_BCH₂N), 2.63 (dt, 1H, *J* = 5.0, 15.9 Hz, CH_AH_BCH₂N), 1.89 (br s, 1H, NH). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ = 148.0 (ArC), 147.4 (ArC), 145.3 (ArC), 130.2 (ArC), 129.3 (2ArCH), 128.8 (2ArCH), 128.1 (ArC), 127.7 (ArCH), 111.8 (ArCH), 111.3 (ArCH), 61.8 (CH), 56.2 (2 OCH₃), 42.3 (CH₂), 29.7 (CH₂). ESI-MS *m/z* (%) = 270 ([M+H]⁺). Anal. calcd. for C₁₇H₁₉NO₂. 0.2H₂O C, 74.83; H, 7.11; N, 5.13, found C, 74.90; H, 7.30; N, 4.99.

¹⁰³ Paul, R.; Coppola J. A.; Cohen E. L. *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 720.

1-(4-Cyanophenyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline 143 : This compound was obtained as a white solid in 75% yield (220 mg), mp 127-128°C (AcOEt/*n*-heptane). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ = 7.51 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz, 3'-H and 5'-H), 7.3 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz, 2'-H and 6'-H), 6.56 (s, 1H, 5-H), 6.07 (s, 1H, 8-H), 4.99 (s, 1H, 1-H), 3.77 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.54 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.05 (dt, 1H, *J* = 5.1, 12.2 Hz, CH₂CH_AH_BN), 2.96 (ddd, 1H, *J* = 5.1, 7.6, 12.2 Hz, CH₂CH_AH_BN), 2.83 (m, 1H, CH_AH_BCH₂N), 2.65 (dt, 1H, *J* = 5.1, 16 Hz, CH_AH_BCH₂N), 2.02 (br s, 1H, NH). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ = 150.7 (ArC), 148.3 (ArC), 147.5 (ArC), 132.5 (2ArCH), 130.1 (2ArCH), 128.6 (ArC), 128.1 (ArC), 119.2 (CN), 112.1 (ArCH), 111.5 (ArC), 111.0 (ArCH), 61.2 (CH), 55.2 (2 OCH₃), 41.9 (CH₂), 29.4 (CH₂). ESI-MS *m/z* (%) = 295.1 ([M+H]⁺). Anal. calcd. for C₁₈H₁₈N₂O₂ · 0.2H₂O C, 72.58; H, 6.11; N, 9.41, found C, 72.42; H, 6.18; N, 9.40.

1-(4-Nitrophenyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline 144¹⁰⁴ : This compound was obtained as a pale yellow solid in 79% yield (248 mg), mp 140-141°C (AcOEt/*n*-heptane). ¹H NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ = 8.15 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz, 3'-H and 5'-H), 7.46 (d, 2H, *J* = 8.8 Hz, 2'-H and 6'-H), 6.60 (s, 1H, 5-H), 6.12 (s, 1H, 8-H), 5.09 (s, 1H, 1-H), 3.83 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.61 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.11 (dt, 1H, *J* = 4.9, 12.2 Hz, CH₂CH_AH_BN), 3.04 (ddd, 1H, *J* = 4.9, 7.7, 12.2 Hz, CH₂CH_AH_BN), 2.90 (m, 1H, CH_AH_BCH₂N), 2.75 (dt, 1H, *J* = 4.9, 16 Hz, CH_AH_BCH₂N), 1.61 (br s, 1H, NH). ¹³C NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ = 152.7 (ArC), 148.4 (ArC), 147.7 (ArC), 147.6 (ArC), 130.2 (2ArCH), 128.6 (ArC), 128.1 (ArC), 124.0 (2ArCH), 112.1 (ArCH), 111.0 (ArCH), 61.0 (CH), 56.3 (OCH₃), 56.2 (OCH₃), 42.0 (CH₂), 29.5 (CH₂). ESI-MS *m/z* (%) = 315.1 ([M+H]⁺). Anal. calcd. for C₁₇H₁₈N₂O₄ C, 64.23; H, 5.79; N, 8.81, found C, 64.10; H, 5.90; N, 8.58.

1-(4-Methoxyphenyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline 145¹⁰³ : This compound was obtained as a pale yellow solid in 65% yield (194 mg), mp 95-96°C (AcOEt/*n*-heptane). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ = 7.51 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz, 2'-H and 6'-H), 7.3 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz, 3'-H and 5'-H), 6.56 (s, 1H, 8-H), 6.07 (s, 1H, 5-H), 4.99 (s, 1H, 1-H), 3.77 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.54 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.11 (dt, 1H, *J* = 4.9, 12.0 Hz, CH₂CH_AH_BN), 2.92

¹⁰⁴ (a) Gitto, R.; Caruso, R.; Orlando, V.; Quartarone, S.; Barreca, M. L.; Ferreri, G.; Russo, A.; De Sarro G.; Chimirri, A. *Il farmaco* **2004**, 59, 7; (b) Macchiarulo, A.; De Luca, L.; Costantino, G.; Barreca, M. L.; Gitto, R.; Pellicciari R.; Chimirri, A. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 1860.

(ddd, 1H, $J = 4.9, 7.9, 12.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}$), 2.81 (m, 1H, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CH}_2\text{N}$), 2.63 (dt, 1H, $J = 4.9, 15.7$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CH}_2\text{N}$), 1.90 (br s, 1H, NH). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) $\delta = 159.2$ (ArC), 147.9 (ArC), 147.4 (ArC), 137.5 (ArC), 130.6 (ArC), 130.3 (2ArCH), 128.0 (ArC), 114.1 (2ArCH), 111.8 (ArCH), 111.3 (ArCH), 61.3 (CH), 56.2 (2 OCH₃), 55.6 (CH₃), 42.4 (CH₂), 29.7 (CH₂). ESI-MS m/z (%) = 300.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). Anal. Calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$ C, 72.22; H, 7.07; N, 4.68, found C, 72.00; H, 7.21; N, 4.49.

1-(Benzo[*b*]thiophene-3-yl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline 146 : This compound was obtained as a white solid in 68% yield (221 mg), mp 51-52°C (AcOEt/*n*-heptane). ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) $\delta = 7.86$ (m, 2H, 4'-H and 7'-H), 7.36 (m, 2H, 5'-H and 6'-H), 6.94 (s, 1H, 2'-H), 6.60 (s, 1H, 5-H), 6.35 (s, 1H, 8-H), 5.45 (s, 1H, 1-H), 3.82 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.57 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.14 (ddd, 1H, $J = 5.5, 7.1, 12.2$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}$), 3.05 (dt, 1H, $J = 5.5, 12.2$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}$), 2.86 (m, 2H, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CH}_2\text{N}$ and, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CH}_2\text{N}$), 1.94 (br s, 1H, NH). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) $\delta = 148.2$ (ArC), 147.6 (ArC), 141.4 (ArC), 139.7 (ArC), 138.4 (C_{benzothio}), 129.2 (ArC), 128.0 (ArC), 125.8 (CH_{benzothio}), 124.8 (ArCH), 124.6 (ArCH), 122.9 (ArCH), 122.9 (ArCH), 111.9 (ArCH), 111.0 (ArCH), 56.3 (2 OCH₃), 55.7 (CH), 41.4 (CH₂), 29.6 (CH₂). ESI-MS m/z (%) = 326.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). Anal. Calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{NO}_2\text{S}$ C, 70.12; H, 5.88; N, 4.30, found C, 70.02; H, 5.85; N, 4.26.

1-(2-Phenyl-benzo[*b*]thiophene-3-yl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline 147 : This compound was obtained as a white solid in 62% yield (248 mg), mp 80-81°C (AcOEt/*n*-heptane); ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) $\delta = 7.78$ (d, 1H, $J = 7.9$ Hz, 7'-H), 7.62 (dd, 1H, $J = 1.3, 8.1$ Hz, 4'-H), 7.40-7.50 (m, 5H, 5ArH), 7.24 (ddd, 1H, $J = 1.3, 7.5, 7.9$ Hz, 6'-H), 7.14 (ddd, 1H, $J = 1.2, 7.5, 8.1$ Hz, 5'-H), 6.66 (s, 1H, 5-H), 6.27 (s, 1H, 8-H), 5.49 (s, 1H, 1-H), 3.86 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.52 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.38 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}$), 3.17 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}$), 3.07 (ddd, 1H, $J = 4.1, 8.1, 11.8$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CH}_2\text{N}$), 2.72 (m, 1H, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CH}_2\text{N}$), 1.70 (br s, 1H, NH). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) $\delta = 148.0$ (ArC), 147.8 (ArC), 142.4 (ArC), 139.8 (ArC), 139.1 (C_{benzothio}), 134.7 (ArC), 133.6 (ArC), 130.3 (C_{benzothio}), 130.1 (2ArCH), 129.2 (2ArCH), 128.9 (ArCH), 127.7 (ArC), 125.3 (ArCH), 124.5 (ArCH), 124.4 (ArCH), 122.4 (ArCH), 112.2 (ArCH), 110.3 (ArCH), 56.3 (2 OCH₃), 56.1 (CH), 44.9 (CH₂), 30.0 (CH₂). ESI-MS m/z (%) = 402.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). Anal. Calcd. for $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{NO}_2\text{S} \cdot 0.1\text{H}_2\text{O}$ C, 74.46; H, 5.76; N, 3.46, found C, 74.38; H, 5.78; N, 3.30.

1-Phenyl-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-1-carboxylic ethyl ester 148 :

This compound was obtained as a colourless oil in 39% yield (133 mg). $R_f = 0.2$ (AcOEt/*n*-heptane = 1 : 1). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) $\delta = 7.15$ (m, 5H, 5ArH), 6.64 (s, 1H, 5-ArH), 6.53 (s, 1H, 8-ArH), 4.22 (q, 1H, $J = 7.2$ Hz, 0.5 OCH_2CH_3), 4.21 (q, 1H, $J = 7.2$ Hz, 0.5 OCH_2CH_3), 3.79 (s, 3H, 6- OCH_3), 3.59 (s, 3H, 7- OCH_3), 3.11 (dt, 1H, $J = 4.5, 12.9$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}$), 2.92 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}$), 2.82 (m, 1H, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CH}_2\text{N}$), 2.63 (dt, 1H, $J = 4.5, 15.8$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CH}_2\text{N}$), 2.54 (br s, 1H, NH), 1.19 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) $\delta = 174.7$ (C=O), 148.6 (ArC), 146.9 (ArC), 145.4 (ArC), 129.1 (ArC), 128.5 (2ArCH), 128.3 (2ArCH), 127.8 (ArCH), 127.6 (ArC), 113.8 (ArCH), 111.3 (ArCH), 70.0 (C), 62.1 (OCH_2), 56.3 (OCH_3), 56.1 (OCH_3), 40.8 (CH_2), 29.6 (CH_2), 14.6 (CH_3). ESI-MS m/z (%) = 342 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). Anal. Calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_4$ C, 70.38; H, 6.74; N, 4.10, found C, 70.25; H, 6.89; N, 3.82.

General Procedure for the Synthesis of Tetrahydroisoquinolines **149a** and **149b** from L-DOPA **149**. Benzaldehyde (0.116 g, 1.1 mmol) was added to a solution of **149** (0.197 g, 1mmol) dissolved in 2 mL of water, methanol or ethanol and potassium carbonate (0.152 g, 1.1 mmol) preliminary added at 0°C under argon. The mixture was stirred at room temperature or at reflux between 0.25 and 4 hours. The reaction was stopped when the precipitation of the corresponding α -amino-acid occurred. Then the reaction mixture was filtered off and washed with 5 ml of cold reaction solvent.

cis-1-Phenyl-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid 151a : This compound was obtained as a white solid in 60% yield (171 mg), mp 280-281°C ($\text{H}_2\text{O}/i$ -PrOH). $[\alpha]_D^{23} = -16.2$ (0.01 M NaOH, $c = 0.5$). $^1\text{H NMR}$ ($\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$, 300 MHz) $\delta = 7.32$ (m, 5H, 5ArH), 6.41 (s, 1H, 5-H), 5.88 (s, 1H, 8-H), 4.87 (s, 1H, 1-H), 3.43 (dd, 1H, $J = 4.9, 11.7$ Hz, 3-H), 2.77 (m, 2H, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CHN}$, and $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CHN}$). $^{13}\text{C NMR}$ ($\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$, 75 MHz) $\delta = 181.0$ (C=O), 150.6 (ArC), 148.0 (ArC), 144.4 (ArC), 129.4 (2ArCH), 129.1 (2ArCH), 128.2 (ArCH), 126.3 (ArC), 125.1 (ArC), 116.0 (ArCH), 114.0 (ArCH), 62.3 (CH), 59.1 (CH), 32.4 (CH_2). ESI-MS m/z (%) = 286 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). Anal. Calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}_4 \cdot 0.4 \text{H}_2\text{O}$ C, 65.70; H, 5.40; N, 4.79, found: C, 65.51; H, 5.22; N, 4.79.

trans-1-Phenyl-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid 151b : This compound was obtained as a white solid in 20% yield (57 mg), mp 270-272°C (MeOH).

$[\alpha]_D^{23} = -11.0$ (0.01 M NaOH, $c = 0.5$). $^1\text{H NMR}$ ($\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$, 300 MHz) $\delta = 7.20\text{-}7.32$ (m, 5H, 5ArH), 6.51 (s, 1H, 5-H), 6.15 (s, 1H, 8-H), 5.09 (s, 1H, 1-H), 3.41 (dd, 1H, $J = 4.7$, 10 Hz, 3-H), 2.89 (dd, 1H, $J = 4.7$, 16.4 Hz, $\text{CH}_A\text{CH}_B\text{CHN}$), 2.68 (dd, 1H, $J = 10$, 16.4 Hz, $\text{CH}_A\text{CH}_B\text{CHN}$). $^{13}\text{C NMR}$ ($\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$, 75 MHz) $\delta = 181.6$ (C=O), 153.3 (ArC), 151.7 (ArC), 145.4 (ArC), 129.2 (2ArCH), 128.8 (2ArCH), 127.7 (ArCH), 123.3 (ArC), 123.2 (ArC), 115.8 (ArCH), 115.3 (ArCH), 58.7 (CH), 52.5 (CH), 31.3 (CH_2). ESI-MS m/z (%) = 286 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). Anal. Calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_4$ C, 67.26; H, 5.30; N, 4.91, found: C, 67.00; H, 5.29; N, 4.80.

General Procedure for the Synthesis of Tetrahydroisoquinolines (**152**)-(158) from L-3,4-Dimethoxyphenylalanine methyl ester **150**. At 0°C , to a solution of amino ester salt (**150**) (1mmol) stirred in 3 mL of $\text{CH}_2\text{Cl}_2/i\text{-PrOH}$ (2 : 1) with 3\AA molecular sieves under argon were preliminary added MeONa (1.1 mmol) and aldehyde (1.1 mmol) in 3mL of CH_2Cl_2 . The solution was then stirred at room temperature or at reflux between 0.75h and 12h depending on the nature of aldehyde. The reaction progress was monitored by TLC ($\text{AcOEt}/n\text{-heptane} = 3 : 7$). When the reaction was complete the solution was diluted with 5 mL of dichloromethane, filtered, washed with 10 mL of CH_2Cl_2 and evaporated. The Schiff base was then engaged in the next step without further purification.

The Schiff base (1mmol) contained in $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ (100 mmol) was heated at reflux under argon between 1 and 6 hours. The reaction was controlled by TLC ($\text{AcOEt}/n\text{-heptane} = 1 : 1$). After complete consumption of the Schiff base the solution was diluted with 20 mL of CH_2Cl_2 and neutralized with a saturated aqueous NaHCO_3 solution until pH 9-10. The aqueous phase was then extracted twice with 20 mL of AcOEt. The organic layers were then dried on MgSO_4 , filtered, evaporated and purified by flash chromatography (silica gel, $n\text{-heptane} : \text{AcOEt} = 8 : 2 \rightarrow 6 : 4$) to separate both diastereoisomers.

cis-1-Phenyl-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid methyl ester 152a : This compound was obtained as a white solid in 56% yield (183 mg), mp $120\text{-}121^\circ\text{C}$ ($\text{AcOEt}/n\text{-heptane}$). $R_f = 0.3$ ($\text{AcOEt}/n\text{-heptane} = 7 : 3$). $[\alpha]_D^{23} = -1.7$ (CHCl_3 , $c = 1$). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) $\delta = 7.25$ (m, 5H, 5ArH), 6.56 (s, 1H, 5-H), 6.09 (s, 1H, 8-H), 5.01 (s, 1H, 1-H), 3.77 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.76 (m, 1H, 3-H), 3.68 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.50 (s, 3H, 7-OCH₃), 2.99 (m, 2H, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CHN}$ and $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CHN}$), 2.58 (br s, 1H, NH). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) $\delta = 173.3$ (C=O), 148.1 (ArC), 147.8 (ArC), 144.2 (ArC), 130.5 (ArC),

129.4 (2ArCH), 129.0 (2ArCH), 128.3 (ArCH), 126.4 (ArC), 111.7 (ArCH), 110.9 (ArCH), 63.2 (CH), 56.9 (OCH₃), 56.3 (OCH₃), 56.2 (CH), 52.6 (OCH₃), 32.6 (CH₂). ESI-MS *m/z* (%) = 328 ([M+H]⁺). Anal. Calcd. for C₁₉H₂₁NO₄. 1/6H₂O C, 69.09; H, 6.41; N, 4.24, found: C, 69.07; H, 6.56; N, 4.28.

trans-1-Phenyl-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid methyl ester 152b : This compound was obtained as a white solid in 12% yield (39 mg), mp 115-116°C (AcOEt/*n*-heptane). *R_f* = 0.15 (AcOEt/*n*-heptane = 1 : 1). [α]_D²³ = -8.2 (CHCl₃, *c* = 0.35); ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ = 7.11-7.22 (m, 5H, 5ArH), 6.59 (s, 1H, 5-H), 6.28 (s, 1H, 8-H), 5.19 (s, 1H, 1-H), 3.79 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.72 (dd, 1H, *J* = 5.1, 8.7 Hz, 3-H), 3.64 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.61 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.08 (dd, 1H, *J* = 5.1, 16 Hz, CH_AH_BCHN), 2.94 (dd, 1H, *J* = 8.7, 16 Hz, CH_AH_BCHN), 2.18 (br s, 1H, NH). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ = 174.3 (C=O), 148.3 (ArC), 147.8 (ArC), 145.0 (ArC), 130.6 (ArC), 129.4 (2ArCH), 129.0 (2ArCH), 128.7 (ArCH), 128.4 (ArC), 111.5 (ArCH), 111.2 (ArCH), 59.3 (CH), 56.2 (2OCH₃), 52.5 (CH), 51.7 (OCH₃), 31.5 (CH₂). ESI-MS *m/z* (%) = 328 ([M+H]⁺). Anal. Calcd. for C₁₉H₂₁NO₄. 1/6H₂O C, 69.04; H, 6.54; N, 4.10, found: C, 69.09; H, 6.41; N, 4.24.

cis-1-(4-Cyanophenyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid methyl ester 153a : This compound was obtained as a white solid in 70% yield (246 mg), mp 128-129°C (AcOEt/*n*-heptane). *R_f* = 0.3 (AcOEt/*n*-heptane = 1 : 1). [α]_D²³ = -1.9 (CHCl₃, *c* = 1.75). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ = 7.54 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz, 3'-H and 5'-H), 7.39 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz, 2'-H and 6'-H), 6.57 (s, 1H, 5-H), 5.97 (s, 1H, 8-H), 5.08 (s, 1H, 1-H), 3.77 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.74 (m, 1H, 3-H), 3.69 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.51 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.00 (m, 2H, CH_AH_BCHN and CH_AH_BCHN), 2.44 (br s, 1H, NH). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ = 173.1 (C=O), 149.8 (ArC), 148.4 (ArC), 147.9 (ArC), 132.8 (2ArCH), 130.3 (2ArCH), 129.0 (ArC), 126.6 (ArC), 119.2 (CN), 112.0 (ArC), 111.8 (ArCH), 110.5 (ArCH), 62.7 (CH), 56.5 (CH), 56.3 (2 OCH₃), 56.2 (CH), 52.6 (OCH₃), 32.4 (CH₂). ESI-MS *m/z* (%) = 353 ([M+H]⁺). Anal. Calcd. for C₂₀H₂₀N₂O₄. 0.1H₂O C, 67.64; H, 5.69; N, 7.89, found: C, 67.72; H, 5.67; N, 7.95.

cis-1-(4-Nitrophenyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid methyl ester 154a : This compound was obtained as a pale yellow solid in 58% yield (215 mg), mp 126-127°C (AcOEt/*n*-heptane). *R_f* = 0.2 (AcOEt/*n*-heptane = 1 : 1). [α]_D²³ = -11.2 (CHCl₃, *c* = 1). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ = 8.20 (d, 2H, *J* = 8.6 Hz, 3'-H and 5'-H), 7.53

(d, 2H, $J = 8.6$ Hz, 2'-H and 6'-H), 6.60 (s, 1H, 5-H), 6.00 (s, 1H, 8-H), 5.20 (s, 1H, 1-H), 3.86 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.82 (m, 1H, 3-H), 3.78 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.59 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.00 (m, 2H, CH_AH_BCHN and CH_AH_BCHN), 2.12 (br s, 1H, NH). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) $\delta = 173.1$ (C=O), 151.9 (ArC), 148.5 (ArC), 148.0 (ArC), 147.9 (ArC), 130.4 (2ArCH), 128.9 (ArC), 126.6 (ArC), 124.2 (2ArCH), 111.9 (ArCH), 110.5 (ArCH), 62.4 (CH), 56.5 (CH), 56.3 (2 OCH₃), 52.7 (OCH₃), 32.4 (CH₂). ESI-MS m/z (%) = 373.1 ([M+H]⁺). Anal. Calcd. for C₁₉H₂₀N₂O₆ C, 61.28; H, 5.41; N, 7.52, found: C, 61.02; H, 5.49; N, 7.43.

trans-1-(4-Nitrophenyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid methyl ester 154b : This compound was obtained as a pale yellow solid in 58% yield (37 mg), mp 118-119°C (AcOEt/*n*-heptane). $R_f = 0.1$ (AcOEt/*n*-heptane = 1 : 1). $[\alpha]_D^{23} = -19.8$ (CHCl₃, $c = 0.9$). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) $\delta = 8.07$ (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, 3'-H and 5'-H), 7.33 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, 2'-H and 6'-H), 6.66 (s, 1H, 5-H), 6.22 (s, 1H, 8-H), 5.32 (s, 1H, 1-H), 3.86 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.76 (dd, 1H, $J = 5.2, 8.9$ Hz, 3-H), 3.70 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.66 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.10 (dd, 1H, $J = 5.1, 16.1$ Hz, CH_AH_BCHN), 2.94 (dd, 1H, $J = 7.7, 16.1$ Hz, CH_AH_BCHN), 2.45 (br s, 1H, NH). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) $\delta = 174.0$ (C=O), 152.4 (ArC), 148.7 (ArC), 148.1 (ArC), 147.6 (ArC), 130.0 (2ArCH), 128.0 (ArC), 127.0 (ArC), 124.3 (2ArCH), 111.8 (ArCH), 110.8 (ArCH), 58.4 (CH), 56.3 (2 OCH₃), 52.2 (CH), 52.6 (OCH₃), 31.2 (CH₂). ESI-MS m/z (%) = 373.1 ([M+H]⁺). Anal. Calcd. for C₁₉H₂₀N₂O₆ C, 61.28; H, 5.41; N, 7.52, found: C, 61.11; H, 5.48; N, 7.51.

cis-1-(4-Methoxyphenyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid methyl ester 155a. This compound was obtained as a white solid in 31% yield (111 mg), mp 129-130°C (AcOEt/*n*-heptane). $R_f = 0.2$ (AcOEt/*n*-heptane = 1 : 1). $[\alpha]_D^{25} = -20.5$ (CHCl₃, $c = 0.6$). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) $\delta = 7.24$ (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, 2'-H and 6'-H), 6.86 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, 3'-H and 5'-H), 6.62 (s, 1H, 5-H), 6.18 (s, 1H, 8-H), 5.03 (s, 1H, 1-H), 3.85 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.83 (m, 1H, 3-H), 3.80 (s, 3H, 4'-OCH₃), 3.75 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.59 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.07 (m, 2H, CH_AH_BCHN and CH_AH_BCHN), 2.37 (br s, 1H, NH). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) $\delta = 173.4$ (C=O), 159.5 (ArC), 148.1 (ArC), 147.7 (ArC), 136.5 (ArC), 130.9 (ArC), 130.5 (2ArCH), 126.4 (ArC), 114.3 (2ArCH), 111.6 (ArCH), 110.9 (ArCH), 62.6 (CH), 56.9 (OCH₃), 56.3 (2 OCH₃), 55.6 (CH), 52.5 (OCH₃), 32.6 (CH₂). ESI-MS m/z (%) = 358 ([M+H]). Anal. Calcd. for C₂₀H₂₃NO₅ C, 67.22; H, 6.44; N, 3.92, found: C, 67.43; H, 6.51; N, 3.92.

trans-1-(4-Methoxyphenyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid methyl ester 155b: This compound was obtained as a white solid in 30% yield (107 mg), mp 119-120°C (AcOEt/*n*-heptane). $R_f = 0.1$ (AcOEt/*n*-heptane = 1 : 1). $[\alpha]_D^{23} = -34.3$ (CHCl₃, $c = 0.6$). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) $\delta = 7.09$ (d, 2H, $J = 8.6$ Hz, 2'-H and 6'-H), 6.82 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz, 3'-H and 5'-H), 6.64 (s, 1H, 5-H), 6.34 (s, 1H, 8-H), 5.23 (s, 1H, 1-H), 3.88 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.79 (s, 3H, 4'-OCH₃), 3.78 (m, 1H, 3-H), 3.72 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.67 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.10 (dd, 1H, $J = 5.1, 16.1$ Hz, CH_AH_BCHN), 2.99 (dd, 1H, $J = 8.5, 16.1$ Hz, CH_AH_BCHN), 2.15 (br s, 1H, NH). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) $\delta = 31.4$ (CH₂), 51.7 (OCH₃), 52.4 (CH), 55.6 (OCH₃), 56.2 (2 OCH₃), 58.6 (CH), 111.2 (ArCH), 111.5 (ArCH), 114.1 (2ArCH), 126.0 (ArC), 128.8 (ArC), 130.2 (2ArCH), 137.2 (ArC), 147.8 (ArC), 148.2 (ArC), 159.2 (ArC), 174.3 (C=O). ESI-MS m/z (%) = 358 ([M+H]⁺, 100%). Anal. Calcd. for C₂₀H₂₃NO₅. 0.1H₂O C, 67.22; H, 6.44; N, 3.92, found: C, 66.74; H, 6.54; N, 3.77.

cis-1-(Benzo[*b*]thiophen-3-yl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid methyl ester 156a : This compound was obtained as a pale yellow solid in 34% yield (130 mg), mp 66-67°C (AcOEt : *n*-heptane). $R_f = 0.5$ (AcOEt : *n*-heptane = 1 : 1). $[\alpha]_D^{23} = -10.9$ (CHCl₃, $c = 1$). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) $\delta = 7.85$ (d, 1H, $J = 7.9$ Hz, 7'-H), 7.69 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, 4'-H), 7.45 (s, 1H, 2'-H), 7.30 (dd, 1H, $J = 7.6, 8.2$ Hz, 6'-H), 7.25 (dd, 1H, $J = 7.6, 7.9$ Hz, 5'-H), 6.71 (s, 1H, 5-H), 6.34 (s, 1H, 8-H), 5.57 (s, 1H, 1-H), 3.92 (dd, 1H, $J = 4.1, 10.8$ Hz, 3-H), 3.88 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.74 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.53 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.21 (dd, 1H, $J = 10.8, 15.4$ Hz, CH_AH_BCHN), 3.15 (dd, 1H, $J = 4.2, 15.4$ Hz, CH_AH_BCHN), 2.53 (br s, 1H, NH). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) $\delta = 173.3$ (C=O), 148.3 (ArC), 148.0 (ArC), 141.4 (ArC), 138.5 (ArC), 138.0 (C_{benzothio}), 129.3 (ArC), 126.2 (ArC), 125.9 (ArCH), 124.8 (ArCH), 124.4 (ArCH), 124.0 (ArCH), 123.2 (C_{benzothio}H), 111.8 (ArCH), 110.1 (ArCH), 56.9 (CH), 57.9 (CH), 56.3 (OCH₃), 56.2 (OCH₃), 52.6 (OCH₃), 32.5 (CH₂). ESI-MS m/z (%) = 384.1 ([M+H]⁺). Anal. Calcd. for C₂₁H₂₁NO₄S C, 65.78; H, 5.52; N, 3.65, found: C, 66.09; H, 5.63; N, 3.59.

trans-1-(Benzo[*b*]thiophen-3-yl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid methyl ester 156b : This compound was obtained as a pale yellow solid in 31% yield (119 mg), mp 69-70°C (AcOEt/*n*-heptane). $R_f = 0.3$ (AcOEt/*n*-heptane = 1 : 1). $[\alpha]_D^{23} = +20.9$ (CHCl₃, $c = 1$). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) $\delta = 7.98$ (ddd, 1H, $J = 0.8, 1.1,$

8.1 Hz, 7'-H), 7.89 (ddd, 1H, $J = 0.8, 1.2, 7.9$ Hz, 4'-H), 7.46 (ddd, 1H, $J = 1.3, 7.2, 8.1$ Hz, 6'-H), 7.40 (ddd, 1H, $J = 1.3, 7.2, 8.1$ Hz, 5'-H), 6.82 (s, 1H, 2'-H), 6.70 (s, 1H, 5-H), 6.57 (s, 1H, 8-H), 5.71 (s, 1H, 1-H), 3.91 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.80 (dd, 1H, $J = 4.9, 9.4$ Hz, 3-H), 3.71 (s, 6H, CO₂CH₃, 7-OCH₃), 3.08 (dd, 1H, $J = 4.8, 16.1$ Hz, CH_AH_BCHN), 2.92 (dd, 1H, $J = 9.4, 16.1$ Hz, CH_AH_BCHN), 2.47 (br s, 1H, NH). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) $\delta = 174.1$ (C=O), 148.5 (ArC), 147.9 (ArC), 141.4 (ArC), 139.5 (ArC), 138.3 (C_{benzothio}), 127.8 (ArC), 126.1 (2ArCH), 125.0 (ArC), 124.8 (ArCH), 123.5 (ArCH), 122.4 (CH_{benzothio}), 111.6 (ArCH), 111.0 (ArCH), 56.5 (OCH₃), 56.3 (OCH₃), 53.8 (CH), 52.5 (CH), 52.0 (OCH₃), 31.7 (CH₂). ESI-MS m/z (%) = 384.1 ([M+H]⁺). Anal. Calcd. for C₂₁H₂₁NO₄S · 0.2H₂O C, 65.16; H, 5.53; N, 3.62, found: C, 65.12; H, 5.56; N, 3.52.

cis-1-(2-Phenyl-benzo[b]thiophen-3-yl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid methyl ester 157a : This compound was obtained as a white solid in 36% yield (165 mg), mp 70-72°C (AcOEt/*n*-heptane). $R_f = 0.3$ (AcOEt/*n*-heptane = 3 : 7). $[\alpha]_D^{23} = +94$ (CHCl₃, $c = 0.5$). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) $\delta = 7.68$ (d, 1H, $J = 7.9$ Hz, 7'-H), 7.54 (m, 2H, 2ArH), 7.46 (m, 1H, 4'-H), 7.34 (m, 3H, 3ArH), 7.23 (m, 1H, 6'-H), 7.13 (m, 1H, 5'-H), 6.68 (s, 1H, 5-H), 6.22 (s, 1H, 8-H), 5.54 (s, 1H, 1-H), 3.85 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.83 (dd, 1H, $J = 4.5, 8.8$ Hz, 3-H), 3.76 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.54 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.14 (m, 2H, CH_AH_BCHN, CH_AH_BCHN), 2.54 (br s, 1H, NH). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) $\delta = 173.3$ (C=O), 148.4 (ArC), 148.13 (ArC), 142.8 (ArC), 139.8 (ArC), 138.9 (ArC), 134.6 (C_{benzothio}), 132.6 (C_{benzothio}), 130.1 (2ArCH), 129.7 (ArC), 129.1 (2ArCH), 128.9 (ArCH), 126.2 (ArC), 124.5 (2ArCH), 124.3 (ArCH), 122.3 (ArCH), 112.2 (ArCH), 110.2 (ArCH), 57.2 (CH), 56.4 (2 OCH₃), 56.3 (CH), 52.5 (OCH₃), 32.5 (CH₂). ESI-MS m/z (%) = 460 ([M+H]⁺). Anal. Calcd. for C₂₇H₂₅NO₄S C, 70.57; H, 5.48; N, 3.05, found: C, 70.42; H, 5.73; N, 2.84.

trans-1-(2-Phenyl-benzo[b]thiophen-3-yl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid methyl ester 157b : This compound was obtained as a white solid in 8% yield (37 mg), mp 72-74°C (AcOEt/*n*-heptane). $R_f = 0.3$ (AcOEt/*n*-heptane = 3 : 7). $[\alpha]_D^{23} = -52.6$ (CHCl₃, $c = 1$). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) $\delta = 7.80$ (ddd, 1H, $J = 0.8, 1.2, 8.0$ Hz, 7'-H), 7.63 (m, 2H, 2ArH), 7.54 (m, 1H, 4'-H), 7.46 (m, 3H, 3ArH), 7.25 (ddd, 1H, $J = 1.2, 7.2, 8.0$ Hz, 6'-H), 7.15 (ddd, 1H, $J = 1.3, 7.2, 8.3$ Hz, 5'-H), 6.72 (s, 1H, 5-H), 6.25 (s, 1H, 8-H), 5.67 (s, 1H, 1-H), 4.10 (dd, 1H, $J = 4.1, 8.6$ Hz, 3-H), 3.86 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.58 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.50 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.26 (m, 1H, CH_AH_BCHN), 3.16 (m, 1H, CH_AH_BCHN), 2.50

(br s, 1H, NH). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ = 174.5 (C=O), 148.1 (ArC), 148.0 (ArC), 143.0 (ArC), 139.8 (ArC), 139.0 (ArC), 134.5 ($\text{C}_{\text{benzothio}}$), 133.3 ($\text{C}_{\text{benzothio}}$), 130.2 (2ArCH), 129.0 (2ArCH), 128.9 (ArCH), 128.5 (ArC), 125.1 (ArCH), 125.0 (ArC), 124.5 (ArCH), 124.4 (ArCH), 122.4 (ArCH), 111.6 (ArCH), 110.0 (ArCH), 56.3 (OCH_3), 56.2 (OCH_3), 55.2 (CH), 52.4 (CH), 51.6 (OCH_3), 30.3 (CH_2). ESI-MS m/z (%) = 460 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). Anal. Calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{25}\text{NO}_4\text{S}$ C, 70.57; H, 5.44; N, 3.05, found: C, 70.39; H, 5.63; N, 2.81.

***cis*-1-(Thiophen-2-yl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid methyl ester 158a** : This compound was obtained as a pale yellow oil in 18% yield (60 mg). R_f = 0.3 (AcOEt/*n*-heptane = 1 : 1). $[\alpha]_{\text{D}}^{23}$ = -65.5 (CHCl_3 , c = 1) ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ = 7.20 (d, 1H, J = 4.9 Hz, 5'-H), 7.06 (d, 1H, J = 3.4 Hz, 3'-H), 6.80 (dd, 1H, J = 3.4, 4.9 Hz, 4'-H), 6.54 (s, 1H, 5-H), 6.32 (s, 1H, 8-H), 5.37 (s, 1H, 1-H), 3.80 (s, 3H, 6- OCH_3), 3.78 (m, 1H, 3-H), 3.70 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.59 (s, 3H, 7- OCH_3), 2.99 (m, 2H, $\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{CHN}$, $\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{CHN}$), 2.50 (br s, 1H, NH). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ = 173.0 (C=O), 148.4 (ArC), 147.9 (ArC), 147.8 (*Cthio*), 130.0 (ArC), 126.6 (*CthioH*), 126.5 (*CthioH*), 126.1 (*CthioH*), 125.9 (ArC), 111.6 (ArCH), 110.5 (ArCH), 58.3 (CH), 56.9 (CH), 56.3 (2 OCH_3), 52.6 (OCH_3), 32.3 (CH_2). ESI-MS m/z (%) = 334.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). Anal. Calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_4\text{S} \cdot 0.4\text{H}_2\text{O}$ C, 59.54; H, 5.81; N, 4.11, found: C, 59.77; H, 5.86; N, 3.86.

***trans*-1-(Thiophen-2-yl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid methyl ester 158b** : This compound was obtained as a pale yellow oil in 45% yield (150 mg). R_f = 0.2 (AcOEt/*n*-heptane = 1 : 1). $[\alpha]_{\text{D}}^{23}$ = -17.8 (CHCl_3 , c = 2.25). ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ = 7.13 (d, 1H, J = 4.9 Hz, 5'-H), 6.82 (dd, 1H, J = 3.6, 4.9 Hz, 4'-H), 6.80 (d, 1H, J = 3.6 Hz, 3'-H), 6.54 (s, 1H, 5-H), 6.47 (s, 1H, 8-H), 5.41 (s, 1H, 1-H), 3.81 (dd, 1H, J = 4.9, 9.5 Hz, 3-H), 3.77 (s, 3H, 6- OCH_3), 3.67 (s, 3H, 7- OCH_3), 3.64 (s, 3H, CO_2CH_3), 2.98 (dd, 1H, J = 5.1, 16.1 Hz, $\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{CHN}$), 2.85 (dd, 1H, J = 9.4, 16.1 Hz, $\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{CHN}$), 2.46 (br s, 1H, NH). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ = 174.0 (C=O), 149.6 (ArC), 148.5 (ArC), 147.7 (*Cthio*), 128.3 (ArC), 126.8 (*CthioH*), 126.4 (*CthioH*), 125.6 (*CthioH*), 125.5 (ArC), 111.6 (ArCH), 111.1 (ArCH), 56.3 (OCH_3), 56.2 (OCH_3), 55.0 (CH), 52.5 (OCH_3), 51.8 (CH), 31.4 (CH_2). ESI-MS m/z (%) = 334.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). Anal. Calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_4\text{S} \cdot 0.3\text{H}_2\text{O}$ C, 60.26; H, 5.79; N, 4.13, found: C, 60.19; H, 5.95; N, 3.84.

(S)-tert-butyl 3-(hydroxymethyl)-3,4-dihydroisoquinoline-2(1H)-carboxylate 162¹⁰⁵ : To a solution of amino alcohol **161** (1g, 6.13 mmol) in CH₂Cl₂ (10mL) was added Boc₂O (1.60g, 7.36 mmol). The suspension was stirred at room temperature for 1 hour. The reaction mixture was concentrated and purified by flash chromatography (silica gel, *n*-heptane : AcOEt = 70 : 30) to yield **162** as colorless oil (1.47g, 91%). *Rf* = 0.4 (AcOEt : *n*-heptane = 1 : 1). $[\alpha]_D^{23} = +41.6$ ((CH₃)₂CO, *c* = 1.1). ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ = 7.11 (m, 4H, ArH), 4.69 (m, 1H, CH_AH_BN), 4.50 (m, 1H, CHN), 4.30 (d, 1H, CH_AH_BN, *J* = 16.3 Hz), 3.50 (m, 2H, CH₂OH), 3.03 (dd, 1H, CH_AH_BCHN, *J* = 5.8, 16.3 Hz), 2.80 (d, 1H, CH_AH_BCHN, *J* = 15.8 Hz), 1.50 (s, 9H, (CH₃)₃C). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ = 156.9 (NCO), 133.6 (ArC), 133.4 (ArC), 129.1 (ArCH), 127.3 (ArCH), 126.8 (ArCH), 126.5 (ArCH), 80.8 (C), 64.2 (CH₂), 52.2 (CH), 44.4 (CH₂), 30.4 (CH₂), 28.9 ((CH₃)₃). ESI-MS *m/z* (%) = 264 [M+H]⁺; Anal. calcd. for C₁₅H₂₁NO₃ · 0.2 H₂O: C 67.51; H 8.02; N 5.25 %, found C 67.22; H 7.92; N 5.27 %.

(S)-tert-butyl 3-formyl-3,4-dihydroisoquinoline-2(1H)-carboxylate 163¹⁰⁶ : A 15% weight solution of Dess-Martin periodinane in CH₂Cl₂ (2.49 g, 8.82 mmol) was added to a solution of the Boc-protected alcohol **162** (1.46 g, 5.55 mmol) in CH₂Cl₂ (68 mL) at 0°C. After stirring for 1 hour at ambient temperature, a saturated solution of NaHCO₃ and Na₂S₂O₃ was added to the mixture. After 10 minutes under stirring, the organic layer was separated, dried over MgSO₄, filtered and concentrated. The resulting residue was purified by flash column chromatography (silica gel, *n*-heptane : EtOAc = 95 : 5) to yield **163** (1.26 g, 87%) as a mixture of rotamers (1 : 1, colorless oil). *Rf* = 0.7 (AcOEt : *n*-heptane: 1/1). $[\alpha]_D^{23} = +13.2$ ((CH₃)₂CO, *c* = 0.56). ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) rotamers (50 : 50) δ = 9.52 (s, 0.5H, CHO), 9.47 (s, 0.5H, CHO), 7.14 (m, 4H, ArH), 4.85 (m, 0.5H, CHN), 4.71 (m, 1H, CH_AH_BN), 4.57 (m, 1H, CH_AH_BN), 4.48 (m, 0.5H, CHN), 3.23 (d, 0.5H, CH_AH_BCHN, *J* = 15.1 Hz), 3.10 (m, CH_AH_BCHN and CH_AH_BCHN, 1.5H), 1.53 (s, 4.5H, C(CH₃)), 1.45 (s, 4.5H, C(CH₃)). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) rotamers δ = 201.4 (CHO), 200.8 (CHO), 155.9 (NCO), 155.2 (NCO), 134.5 (ArC), 133.5 (ArC), 132.7 (ArC), 132.3 (ArC), 128.8 (ArCH), 128.2 (ArCH), 127.7 (ArCH), 127.5 (ArCH), 127.4 (ArCH), 127.3 (ArCH), 126.8 (ArCH), 126.7 (ArCH), 81.6 (C), 81.4 (C), 60.9 (CH), 59.6 (CH), 45.5 (CH₂), 44.7 (CH₂), 29.7

¹⁰⁵ Pagé, D.; Nguyen, N.; Bernard, S.; Coupal, M.; Gosselin, M.; Lepage J.; Adam, L.; Brown, W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1585.

¹⁰⁶ Schiller, P. W.; Weltrowska, G.; Nguyen, T. M.-D.; Wilkes, B. C.; Chung, N. N.; Lemieux, C. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3182.

(2CH₂), 28.7 ((CH₃)₃). ESI-MS m/z (%) = 262 [M+H]⁺; Anal. calcd. for C₁₅H₁₉NO₃· 0.2 H₂O C 68.02; H 7.33; N 5.29 %, found C 67.65; H 7.26; N 5.33 %.

Bistetrahydroisoquinolines 165, 166, 167 : A solution of **163** (1.24 g, 4.75 mmol) in ethanol (9.8 mL) was added dropwise to a stirred solution of the methyl ester hydrochloride of L-DOPA **164** (1.41 g, 5.7 mmol) and triethylamine (0.57 g, 5.7 mmol) in ethanol (20 mL) under argon. After 24 hours under stirring, the reaction mixture was evaporated to dryness in vacuo and the residue was dissolved in CH₂Cl₂ (30 mL). The organic layer was washed with a 1M HCl solution (10 mL) separated, dried over MgSO₄, filtered, concentrated and purified by chromatography (silica gel, cyclohexane : EtOAc = 80 : 20 → 70 : 30) affording **165** (1.06 g, 49%, rotamers: 60 : 40) and a mixture of **166** and **167** (0.63 g, 29%) as a yellow solid. Data for **(1R,3S,3'R)-2'-tert-butyl 3-methyl 6,7-dihydroxy-3,3',4,4'-tetrahydro-1,3'-biisoquinoline-2',3(1H,1'H)-dicarboxylate 165** : mp 114-115°C, R_f = 0.3 (AcOEt : *n*-heptane = 1 : 1), [α]_D²³ = -15.2 ((CH₃)₂CO, c = 0.58). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) rotamers (60 : 40) δ = 7.11 (m, 4H), 6.38 (s, 0.4H), 6.31 (s, 0.6H), 5.94 (s, 0.6H), 6.31 (s, 0.4H), 5.62 (m, 3H, NH and 2OH), 5.12 (d, 0.4H, J = 17.4 Hz), 4.92 (d, 0.6H, J = 17.4 Hz), 4.63 (m, 0.6H), 4.47 (m, 0.4H), 4.39 (d, 0.6H, J = 17.4 Hz), 4.25 (m, 1H), 4.11 (m, 0.4H), 3.76 (s, 1.2H), 3.74 (s, 1.8H), 3.58 (d, 0.4H, J = 10.2 Hz), 3.52 (d, 0.6H, J = 10.2 Hz), 2.90 (m, 2.6H), 2.70 (m, 0.8H), 2.58 (m, 0.6H), 1.51 (s, 5.4H), 1.46 (s, 3.6H). ¹³C NMR (CDCl₃, 125MHz) rotamers δ = 174.4 (CO), 174.2 (CO), 155.9 (NCO), 155.6 (NCO), 145.0 (ArC), 144.5 (ArC), 143.2 (ArC), 142.9 (ArC), 133.0 (ArC), 132.8 (ArC), 132.6 (ArC), 132.1 (ArC), 129.8 (ArCH), 129.5 (ArCH), 127.3 (ArCH), 127.1 (ArCH), 126.9 (2ArCH), 126.8 (ArCH), 126.6 (ArCH), 126.5 (ArC), 125.8 (ArC), 125.7 (ArC), 125.3 (ArC), 116.7 (ArCH), 116.3 (ArCH), 116.1 (ArCH), 115.8 (ArCH), 81.2 (2C), 54.1 (CH), 53.8 (CH), 52.8 (CH), 52.7 (CH), 52.4 (CH), 51.4 (CH), 51.1 (OCH₃), 50.9 (OCH₃), 43.6 (CH₂), 42.3 (CH₂), 30.6 (CH₂), 30.4 (CH₂), 30.3 (CH₂), 28.8 ((CH₃)₃), 27.3 (CH₂). FTIR [KBr, cm⁻¹] 3350, 3010, 2975, 1740, 1689, 1600, 1523, 1468; 1380, 1200, 1014, 878, 753; ESI-MS m/z (%) = 455 [M+H]⁺; Anal. calcd. for C₂₅H₃₀N₂O₆ C 66.06; H 6.65; N 6.16 %, found C 66.17; H 7.00; N 5.72 %.

Unseparable **(1R,3S,3'S)-2'-tert-butyl 3-methyl 6,7-dihydroxy-3,3',4,4'-tetrahydro-1,3'-biisoquinoline-2',3(1H,1'H)-dicarboxylate 166** and **(1R,3S,3'R)-2'-tert-butyl 3-methyl 7,8-dihydroxy-3,3',4,4'-tetrahydro-1,3'-biisoquinoline-2',3(1H,1'H)-dicarboxylate 167**

were not characterised ($R_f = 0.4$ (AcOEt : *n*-heptane: 1 : 1)) and directly used in the next step for the synthesis of **174** and **175**.

(1R,3S,3'R)-2'-tert-butyl 3-methyl 6,7-dimethoxy-2-methyl-3,3',4,4'-tetrahydro-1,3'-biisoquinoline-2',3(1H,1'H)-dicarboxylate 168 : Me_2SO_4 (0.28 g, 2.20 mmol) was added dropwise to a solution of K_2CO_3 (0.61 g, 4.40 mmol) in dry DMF (2mL) containing bistetrahydroisoquinoline **165** (0.2 g, 0.440 mmol) under argon. The mixture was stirred at room temperature for an additional time of 12 hours. After dilution with CH_2Cl_2 (10 mL) the organic layer was washed successively with a 1M HCl solution (5 mL) and a 1M NaOH solution (5 mL). The combined organic layers were dried over MgSO_4 , filtered, evaporated under vacuum and chromatographed (silica gel, *n*-heptane : EtOAc, 80 : 20→70 : 30) to yield **168** as a white solid (0.185 g, 85%, rotamers = 50 : 50), mp 67-68°C, $R_f = 0.5$ (AcOEt : *n*-heptane = 1 : 1), $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -28.6$ ($c = 0.50$, $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$). ^1H NMR (CDCl_3 , 500MHz) rotamers (50 : 50) $\delta = 7.18$ -7.11 (m, 4H), 6.56 (s, 0.5H), 6.54 (s, 0.5H), 6.51 (s, 0.5H), 6.43 (s, 0.5H), 4.95 (d, 0.5H, $J = 16.0$ Hz), 4.85 (d, 0.5H, $J = 16.0$ Hz), 4.61 (m, 0.5H), 4.31 (m, 1.5H), 4.16 (d, 0.5H, $J = 16.0$ Hz), 3.98 (m, 0.5H), 3.84 (m, 0.5H), 3.83 (s, 6H), 3.79 (d, 0.5H, $J = 16.4$ Hz), 3.64 (s, 1.5H), 3.59 (s, 1.5H), 3.13 (m, 0.5H), 3.10-2.95 (m, 2.5H), 2.74 (m, 0.5H), 2.62 (s, 1.5H), 2.48 (m, 0.5H), 2.44 (s, 1.5H), 1.55 (s, 4.5H), 1.53 (s, 4.5H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) rotamers $\delta = 173.9$ (CO), 173.8 (CO), 155.7 (NCO), 155.4 (NCO), 147.9 (2ArC), 147.6 (ArC), 147.1 (ArC), 136.3 (ArC), 135.5 (ArC), 135.1 (ArC), 134.6 (ArC), 128.7 (ArCH), 127.8 (ArCH), 127.3 (2ArCH), 127.2 (ArCH), 126.8 (ArC), 126.6 (ArCH), 126.5 (ArCH), 126.1 (2ArCH), 126.0 (ArCH), 125.6 (ArC), 112.1 (ArCH), 111.7 (ArCH), 111.6 (ArCH), 111.3 (ArCH), 80.6 (C), 80.1 (C), 63.3 (CH), 63.0 (CH), 60.4 (CH), 57.9 (CH), 56.2 (3OCH_3), 56.1 (OCH_3), 54.4 (CH), 52.6 (CH), 52.0 (OCH_3), 51.8 (OCH_3), 44.7 (CH_2), 44.6 (CH_2), 40.7 (NCH_3), 39.4 (NCH_3), 31.9 (CH_2), 30.0 (CH_2), 29.3 (CH_2), 28.9 ($(\text{CH}_3)_3$), 28.3 (CH_2). FTIR [KBr, cm^{-1}] 2934, 2855, 1740, 1689, 1610, 1513, 1457, 1393, 1366, 1246, 1167, 1123, 1022, 865, 765; ESI-MS m/z (%) = 497 $[\text{M}+\text{H}]^+$; Anal. calcd. for $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_6$ C 67.72; H 7.31; N 5.64 %, found C 67.44; H 7.51; N 5.47 %.

Bistetrahydroisoquinoline esters 174 and 175 : Me_2SO_4 (0.28 g, 2.20 mmol) was added to a solution of K_2CO_3 (0.61 g, 4.40 mmol) in dry DMF (2mL) containing a mixture of bistetrahydroisoquinolines **166** and **167** (0.2 g, 0.440 mmol) under argon. The mixture was stirred at room temperature for 16 hours. Then CH_2Cl_2 (10 mL) was added and the organic

layer was washed successively with a 1M HCl solution (5 mL) and a 1M NaOH solution (5 mL). The combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered, evaporated under vacuum and purified by chromatography (silica gel, *n*-heptane : EtOAc = 90 : 10 → 80 : 20) to yield **174** (0.085 g, 39%, rotamers = 65 : 35) and **175** (0.083 g, 38%, rotamers = 65 : 35) as white solids.

Data for **(1R,3S,3'S)-2'-tert-butyl 3-methyl 6,7-dimethoxy-2-methyl-3,3',4,4'-tetrahydro-1,3'-biisoquinoline-2',3(1H,1'H)-dicarboxylate 174** : mp 65-66°C, *R_f* = 0.5 (AcOEt : *n*-heptane = 1 : 1), $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +44.8$ ((CH₃)₂CO, *c* = 0.50). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) rotamers (65 : 35) δ = 7.23 (m, 4H), 6.69 (br s, 1H), 6.49 (s, 0.65H), 6.48 (s, 0.35H), 4.93 (d, 0.65H, *J* = 17 Hz), 4.73 (d, 0.35H, *J* = 17 Hz), 4.48 (ddd, 0.35H, *J* = 3.0, 5.3, 9.1 Hz), 4.41 (d, 0.35H, *J* = 16.7 Hz), 4.38 (d, 0.65H, *J* = 17.3 Hz), 4.25 (ddd, 0.65H, *J* = 3.0, 5.3, 9.1 Hz), 3.89 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.82 (s, 1.95H), 3.80 (s, 1.05H), 3.73 (dd, 0.65H, *J* = 3.0, 15.8 Hz), 3.63 (dd, 0.35H, *J* = 3.0, 15.8 Hz), 3.32 (m, 1H), 3.21 (m, 0.35H), 3.11 (m, 1H), 2.98 (m, 0.65H), 2.87 (m, 2H), 2.29 (s, 1.05 H), 2.23 (s, 1.95H), 1.27 (s, 3.15H), 1.16 (s, 5.85H). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) rotamers δ = 175.1 (2CO), 155.0 (NCO), 154.9 (NCO), 148.5 (ArC), 148.3 (ArC), 148.0 (ArC), 147.4 (ArC), 134.7 (ArC), 134.3 (ArC), 133.4 (2ArC), 129.7 (ArCH), 129.5 (ArCH), 129.0 (ArC), 128.6 (ArC), 128.1 (ArC), 127.2 (ArCH and ArC), 127.1 (ArCH), 126.6 (ArCH), 126.5 (2ArCH), 126.2 (ArCH), 111.6 (ArCH), 111.1 (2ArCH), 111.0 (ArCH), 79.6 (2C), 65.8 (CH), 65.6 (CH), 65.0 (CH), 64.5 (CH), 56.7 (OCH₃), 56.5 (OCH₃), 56.4 (CH), 56.3 (CH), 56.1 (CH), 54.4 (CH), 52.5 (OCH₃), 52.4 (OCH₃), 46.3 (NCH₃), 46.1 (NCH₃), 45.0 (CH₂), 44.2 (CH₂), 32.1 (2CH₂), 30.2 (CH₂), 29.9 (CH₂), 28.6 ((CH₃)₃), 28.3 ((CH₃)₃). FTIR [KBr, cm⁻¹] 2950, 2835, 1748, 1690, 1610, 1514, 1455, 1393, 1364, 1229, 1171, 1118, 1031, 883, 767. ESI-MS *m/z* (%) = 497 [M+H]⁺. Anal. calcd. for C₂₈H₃₆N₂O₆ · 0.1 H₂O C 67.48; H 7.27; N 5.62 %, found C 67.10; H 7.47; N 5.28.

Data for **(1R,3S,3'R)-2'-tert-butyl 3-methyl 7,8-dimethoxy-2-methyl-3,3',4,4'-tetrahydro-1,3'-biisoquinoline-2',3(1H,1'H)-dicarboxylate 175** : mp 69-70°C, *R_f* = 0.7 (AcOEt : *n*-heptane = 1/ : 1), $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +19.6$ ((CH₃)₂CO, *c* = 0.50). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) rotamers (65 : 35) δ = 7.23-7.09 (m, 4H), 6.83 (d, 0.65H, *J* = 8.2 Hz), 6.79 (d, 0.35H, *J* = 8.3 Hz), 6.77 (d, 0.65H, *J* = 8.3 Hz), 6.75 (d, 0.35H, *J* = 8.3 Hz), 4.98 (d, 0.35H, *J* = 16.7 Hz), 4.91 (d, 0.65H, *J* = 16.7 Hz), 4.61 (t, 0.65H, *J* = 6.0 Hz), 4.44 (d, 0.65H, *J* = 18 Hz), 4.41 (m, 0.65H), 4.27 (d, 0.35H, *J* = 16.7 Hz), 4.14 (t, 0.35H, *J* = 6.6 Hz), 4.03 (d, 0.35H, *J* = 7.3 Hz), 3.89 (m, 0.35H), 3.89 (m, 0.65H), 3.83 (s, 3H), 3.66 (s, 1.95H), 3.63 (s, 1.05H), 3.48 (s, 1.05H), 3.34 (s, 1.95H), 3.08 (dd, 0.65H, *J* = 6, 15.7 Hz), 3.04 (m, 0.35H), 2.98 (m, 1H), 3.11-

2.95 (m, 2H), 2.37 (s, 1.05H), 2.30 (s, 1.95H), 1.51 (s, 5.85H), 1.45 (s, 3.15H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ = 173.9 (2CO), 155.3 (NCO), 155.1 (NCO), 151.3 (ArC), 151.0 (ArC), 147.4 (ArC), 147.2 (ArC), 134.9 (ArC), 134.7 (ArC), 134.6 (ArC), 133.8 (ArC), 130.6 (ArCH), 130.3 (ArC), 129.9 (ArC), 129.5 (ArCH), 127.2 (ArC), 126.9 (ArC), 126.3 (ArCH), 126.2 (ArCH), 126.0 (ArCH), 125.9 (ArCH), 125.8 (ArCH), 125.6 (ArCH), 124.8 (ArCH), 124.3 (ArCH), 111.7 (ArCH), 111.5 (ArCH), 79.9 (C), 79.8 (C), 60.3 (2OCH₃), 59.9 (CH), 59.4 (CH), 58.3 (CH), 56.5 (CH), 56.2 (OCH₃), 56.1 (OCH₃), 54.8 (CH), 53.1 (CH), 52.0 (OCH₃), 51.9 (OCH₃), 43.9 (CH₂), 43.7 (CH₂), 39.7 (NCH₃), 38.7 (NCH₃), 30.9 (CH₂), 30.5 (CH₂), 28.9 ((CH₃)₃), 28.4 (CH₂), 26.3 (CH₂). FTIR [KBr, cm⁻¹] 2974, 2863, 1741, 1686, 1612, 1490, 1454, 1419, 1365, 1226, 1168, 1117, 1056, 803, 755, 880, 803, 755. ESI-MS m/z (%) = 497 [M+H]⁺. Anal. calcd. for C₂₈H₃₆N₂O₆ [M+H]⁺ 67.72; H 7.31; N 5.64 %, found C 67.36; H 7.51; N 5.38 %.

Bistetrahydroisoquinolines carboxylic acid 169, 176 and 177 : A solution of ester **168**, **174** or **175** (0.1 g, 0.201 mmol) and LiOH.H₂O (16.9 mg, 0.402 mmol) in MeOH : H₂O (1.6 mL, 3 : 1) was stirred at room temperature for 16 hours. Then CH₂Cl₂ (10 mL) was added followed by a 2M solution of HCl (2 mL). The organic layer was separated and the aqueous solution was extracted twice with CH₂Cl₂ (5 mL). The combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered and evaporated affording pure **169** (0.092 g, 95%), **176** (0.092 g, 95%) or **177** (0.091 g, 94%) as light yellow solids.

Data for **(1R,3S,3'R)-2'-(tert-butoxycarbonyl)-6,7-dimethoxy-2-methyl-1,1',2,2',3,3',4,4'-octahydro-1,3'-biisoquinoline-3-carboxylic acid 169** : mp 106-107°C, R_f = 0.2 (AcOEt : MeOH = 9 : 1), $[\alpha]_{\text{D}}^{23}$ = -38.0 ((CH₃)₂CO, c = 0.50). ^1H NMR (CDCl_3 , 500MHz) δ = 7.16 (m, 4H), 6.82 (s, 1H), 6.39 (s, 1H), 5.82 (br s, 1H), 4.82 (d, 1H, J = 16.7 Hz), 4.59 (m, 2H), 4.34 (d, 1H, J = 6.3 Hz), 4.24 (d, 1H, J = 16.7 Hz), 3.76 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.33 (dd, 1H, J = 5, 16.7 Hz), 3.08 (m, 2H), 2.77 (s, 3H), 2.60 (m, 1H), 1.50 (s, 9H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ = 171.6 (CO), 155.8 (NCO), 149.7 (ArC), 148.4 (ArC), 135.2 (ArC), 134.1 (ArC), 128.8 (ArCH), 127.8 (ArCH), 127.2 (ArCH and ArC), 126.5 (ArCH), 125.3 (ArC), 113.6 (ArCH), 113.2 (ArCH), 81.2 (C), 65.4 (CH), 58.9 (CH), 56.8 (OCH₃), 56.6 (OCH₃), 53.4 (CH), 44.9 (CH₂), 40.2 (CH₃), 30.2 (CH₂), 29.1 (CH₂), 29.0 ((CH₃)₃). FTIR [KBr, cm⁻¹] 3422, 2973, 1685, 1519, 1459, 1393, 1360, 1251, 1162, 1151, 1117, 1009, 865, 766. ESI-MS m/z (%) = 483 [M+H]⁺. HRMS (CI) calcd. for C₂₇H₃₄N₂O₆ [M+H]⁺ 483.2495, found 483.2494.

Data for **(1R,3S,3'S)-2'-(tert-butoxycarbonyl)-6,7-dimethoxy-2-methyl-1,1',2,2',3,3',4,4'-octahydro-1,3'-biisoquinoline-3-carboxylic acid 176** : mp 124-125°C, $R_f = 0.2$ (AcOEt : MeOH = 9 : 1), $[\alpha]_D^{23} = +7.2$ ((CH₃)₂CO, c = 0.5). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) rotamers (50 : 50) $\delta = 7.30-7.17$ (m, 4H), 6.74 (s, 0.5H), 6.73 (s, 0.5H), 6.47 (s, 0.5H), 6.41 (s, 0.5H), 4.86 (d, 0.5H, $J = 17.3$ Hz), 4.79 (m, 0.5H), 4.61 (d, 0.5H, $J = 17.3$ Hz), 4.45 (m, 0.5H), 4.38 (d, 0.5H, $J = 17.3$ Hz), 4.21 (d, 0.5H, $J = 17.3$ Hz), 3.89 (s, 1.5H), 3.85 (s, 3H), 3.83 (s, 1.5H), 3.62 (m, 0.5H), 3.43 (m, 1.5H), 3.27 (m, 1H), 3.11 (m, 2.5H), 2.97 (m, 0.5H), 2.51 (s, 1.5H), 2.38 (s, 1.5H), 1.24 (s, 4.5H), 1.17 (s, 4.5H). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) rotamers $\delta = 173.7$ (CO), 173.4 (CO), 155.3 (NCO), 154.5 (NCO), 149.4 (2ArC), 148.4 (ArC), 147.7 (ArC), 132.9 (ArC), 132.7 (2ArC), 132.6 (ArC), 129.8 (ArCH), 129.4 (ArCH), 127.8 (ArCH), 127.7 (ArCH), 127.5 (ArC), 127.4 (ArCH), 127.30 (ArC and ArCH), 126.8 (ArCH), 126.6 (ArC), 126.5 (ArCH), 126.3 (ArC), 112.0 (ArCH), 111.7 (ArCH), 111.2 (2ArCH), 80.7 (C), 80.5 (C), 67.4 (CH), 66.9 (2CH), 65.8 (CH), 56.8 (OCH₃), 56.6 (OCH₃), 56.5 (OCH₃), 56.4 (OCH₃), 53.9 (CH), 52.2 (CH), 47.3 (CH), 47.1 (CH), 45.2 (CH₂), 44.4 (CH₂), 31.3 (CH₂), 31.2 (CH₂), 31.1 (CH₂), 31.0 (CH₂), 28.5 ((CH₃)₃), 28.3 ((CH₃)₃). FTIR [KBr, cm⁻¹] 3428, 2980, 1686, 1520, 1457, 1393, 1359, 1245, 1168, 1150, 1118, 1010, 882, 767. ESI-MS m/z (%) = 483 [M+H]⁺. HRMS (CI) calcd. for C₂₇H₃₄N₂O₆ [M+H]⁺ 483.2495, found 483.2494.

Data for **(1R,3S,3'R)-2'-(tert-butoxycarbonyl)-7,8-dimethoxy-2-methyl-1,1',2,2',3,3',4,4'-octahydro-1,3'-biisoquinoline-3-carboxylic acid 177** : mp 102-103°C; $R_f = 0.2$ (AcOEt : MeOH = 9 : 1), $[\alpha]_D^{23} = +13.4$ ((CH₃)₂CO, c = 0.50). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) $\delta = 8.89$ (br s, 1H), 7.08-7.02 (m, 2H), 6.99 (d, 1H, $J = 6.9$ Hz), 6.88 (d, 1H, $J = 6.9$ Hz), 6.84 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 6.71 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 4.89 (m, 1H), 4.76 (m, 1H), 4.61 (d, 1H, $J = 15.8$ Hz), 4.57 (m, 1H), 4.47 (d, 1H, $J = 15.8$ Hz), 3.76 (s, 3H), 3.70 (m, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.33 (dd, 1H, $J = 6.6, 17.6$ Hz), 3.22 (s, 3H), 3.00 (m, 1H), 2.73 (dd, 1H, $J = 5.6, 17$ Hz), 1.53 (s, 9H). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) $\delta = 168.4$ (CO), 156.6 (NCO), 151.5 (ArC), 146.3 (ArC), 134.4 (ArC), 133.4 (ArC), 128.4 (ArCH), 127.2 (ArCH), 126.4 (ArCH), 125.5 (ArCH), 125.0 (ArCH), 123.3 (ArC), 122.9 (ArC), 113.4 (ArCH), 81.7 (C), 65.2 (CH), 60.6 (OCH₃), 59.8 (CH), 56.1 (OCH₃), 54.4 (CH), 45.5 (CH₂), 40.8 (NCH₃), 30.1 (CH₂), 28.8 (CH₂ and (CH₃)₃). FTIR [KBr, cm⁻¹] 3422, 2974, 1686, 1492, 1457, 1394, 1366, 1278, 1228, 1166, 1197, 1086, 1054, 803, 752. MS (ESI) 483 [M+H]⁺. HRMS (CI) calcd. for C₂₇H₃₄N₂O₆ [M+H]⁺ 483.2495, found 483.2492.

(6S,14aR,15R)-5,6,9,14,14a,15-hexahydro-2,3-dimethoxy-16-methyl-6,15-Imino-7H-isoquino[3,2-b][3]benzazocin-7-one 170 : A solution of **169** (0.08 g, 0.166 mmol) in neat TFA (5 mL) was stirred at room temperature for 30 minutes. The solvent was coevaporated with toluene twice, affording the corresponding amino acid (0.100 g, 99%) as a pale yellow solid which was immediately dissolved in a mixture of DMF : DMSO (0.7 mL, 4 : 1) with *i*-Pr₂NEt (0.106 g, 0.820 mmol) at 0°C. After stirring for 5 minutes FDPP (0.094 g, 0,249 mmol) in DMF : DMSO (0.6 mL, 4 : 1) was added. After 16 hours at 60°C, the reaction mixture was diluted with CH₂Cl₂ (10 mL) and washed with a saturated solution of NaHCO₃ (4 mL). The resulting aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (5 mL) and combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered, evaporated and chromatographed (silica gel, *n*-heptane : EtOAc = 80 : 20 → 50 : 50) affording **166** as a white solid (39 mg, 64%). Data for compound **170** : mp 203-204°C, *R*_f = 0.1 (AcOEt : *n*-heptane = 1 : 1), [α]_D²³ = -72.3 ((CH₃)₂CO, c = 0.50). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) δ = 7.18 (s, 3H, ArH), 7.10 (s, 1H, ArH), 6.61 (s, 1H, ArH), 6.60 (s, 1H, ArH), 5.52 (d, 1H, *J* = 17.3 Hz, 1-H), 3.90 (d, 1H, *J* = 17.3 Hz, 1-H), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 3.77 (d, 1H, *J* = 6.3 Hz, 20-H), 3.65 (s, 1H, 11-H), 3.62 (d, 1H, *J* = 14.5 Hz, 3-H), 3.58 (m, 1H, 4-H), 3.22 (dd, 1H, *J* = 6.3, 17.3 Hz, 19-H), 2.92 (d, 1H, *J* = 14.5 Hz, 4-H), 2.79 (d, 1H, *J* = 17.3 Hz, 19-H), 2.48 (s, 3H, NCH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ = 169.9 (CO), 148.9 (ArC), 148.5 (ArC), 134.5 (ArC), 133.0 (ArC), 129.4 (ArCH), 126.8 (ArCH), 126.7 (ArCH), 126.7 (ArCH), 126.0 (ArC), 124.9 (ArC), 111.8 (ArCH), 110.6 (ArCH), 61.6 (CH), 60.9 (ArCH), 60.1 (ArCH), 56.3 (OCH₃), 56.3 (OCH₃), 44.8 (CH₂), 40.0 (NCH₃), 35.4 (CH₂), 24.7 (CH₂). FTIR [KBr, cm⁻¹] 2930, 2840, 1639, 1514, 1468, 1364, 1332, 1255, 1216, 1106, 999, 887, 775. ESI-MS *m/z* (%) = 365 [M+H]⁺. HRMS (CI) calcd. for C₂₂H₂₄N₂O₃ [M+H]⁺ 365.1865, found 365.1864.

(6S,7R,14aR,15R)-6,7,9,14,14a,15-hexahydro-2,3-dimethoxy-16-methyl-6,15-Imino-5H-isoquino[3,2-b][3]benzazocine-7-carbonitrile 171 : To a solution of **170** (0.100 g, 0.275 mmol) in THF (6 mL) at -78 °C under argon was added dropwise DIBAL-H, 1 M in toluene (0.55 mL, 0.55 mmol), and the reaction mixture was stirred at -78 °C for 1 hour. The reaction mixture was diluted with CH₂Cl₂ (10 mL), quenched at -78 °C with 1 N NaOH (2 mL) and then warmed to room temperature and extracted with CH₂Cl₂ (2 ×5 mL), washed with brine (10 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated affording the corresponding carbinolamine. The material was taken up in CH₂Cl₂ (0.6 mL), and AcOH (0.041 g, 0.825 mmol) was added slowly followed by TMSCN (0.164 g, 1.65 mmol). The reaction mixture

was stirred for 1 hour and then quenched with saturated aqueous NaHCO₃ (1 mL), extracted with CH₂Cl₂ (2 ×5 mL), washed with brine (5 mL), dried over MgSO₄, filtered, evaporated and chromatographed (silica gel, *n*-heptane : EtOAc = 90 : 10) affording **167** as a white solid (74 mg, 72%). Data for compound **171** : mp 194-195°C, *Rf* = 0.4 (AcOEt : *n*-heptane = 1 : 1), [α]_D²³ = -18.4 (CH₂Cl₂, *c* = 0.50). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) δ 7.17-7.12 (m, 3H, ArH), 7.00 (d, 1H, *J*=7.2 Hz, ArH), 6.59 (s, 1H, ArH), 6.57 (s, 1H, ArH), 4.23 (d, 1H, *J* = 17.3 Hz, 1-H), 3.90 (dd, 1H, *J* = 12.3, 16.7 Hz, 4-H), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (d, 1H, *J* = 1.5 Hz, 21-H), 3.69 (d, 1H, *J* = 17.3 Hz, 1-H), 3.54 (br s, 1H, 11-H), 3.35 (d, 1H, *J* = 7.9 Hz, 20-H), 3.19 (m, 1H, 3-H), 3.16 (m, 1H, 19-H), 2.66 (dd, 1H, *J* = 4.7, 17.3 Hz, 4-H), 2.56 (d, 1H, *J* = 17.3 Hz, 19-H), 2.43 (s, 3H, NCH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ 148.3 (ArC), 147.9 (ArC), 135.5 (ArC), 132.8 (ArC), 129.5 (ArCH), 127.5 (ArC), 127.0 (ArCH), 126.4 (ArCH), 126.3 (ArCH), 125.9 (ArC), 121.6 (CN), 110.6 (2ArCH), 61.9 (CH), 58.6 (CH), 57.1 (CH), 56.9 (CH), 56.4 (OCH₃), 56.2 56.4 (OCH₃), 55.5 (CH₂), 42.5 (CH₃), 28.4 (CH₂), 26.2 (CH₂). FTIR [KBr, cm⁻¹] 2932, 2841, 2220, 1523, 1458, 1359, 1319, 1254, 1210, 1099, 996, 890, 775; ESI-MS *m/z* (%) = 376 [M+H]⁺; HRMS (CI) calcd. for C₂₃H₂₅N₂O₂ [M+H]⁺ 376.2025, found 376.2028.

(6S,14aR,15R)-6,7,9,14,14a,15-hexahydro-2,3-dimethoxy-16-methyl-6,15-Imino-5H-isoquino[3,2-b][3]benzazocine 172 : To a solution of **170** (0.100 g, 0.275 mmol) in THF (2 mL) at -78 °C under argon was added dropwise a 1 M DIBAL-H solution in toluene (1.925 mL, 1.925 mmol), and the reaction mixture was stirred at -78 °C for 1 hour. The reaction mixture was diluted with CH₂Cl₂ (5 mL), quenched at -78 °C with 1 M NaOH (1 mL) and then warmed to room temperature and extracted with CH₂Cl₂ (2×5 mL), washed with brine (5 mL), dried over MgSO₄, filtered, evaporated and chromatographed (Al₂O₃, *n*-heptane : EtOAc = 95 : 5) affording the corresponding benzylamine **172** as a white solid (0.089 g, 92%). Data for compound **172** : mp 138-139 °C, *Rf* = 0.2 (*n*-heptane : EtOAc = 1 : 1), [α]_D²³ = -6.3 (CH₂Cl₂, *c* = 0.70). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) δ = 7.13-7.09 (m, 3H, ArH), 6.97 (d, 1H, *J* = 7.3 Hz, ArH), 6.63 (s, 1H, ArH), 6.57 (s, 1H, ArH), 4.05 (d, 1H, *J* = 16.7 Hz, 1-H), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 3.75 (m, 1H, 4-H), 3.52 (d, 1H, *J* = 16.8 Hz, 1-H), 3.42 (br s, 1H, 11-H), 3.21-3.15 (m, 2H, 21-H and 3-H), 3.11 (m, 1H, 19-H), 3.07 (m, 1H, 20-H), 2.56 (m, 2H, 19-H and 4-H), 2.50 (dd, 1H, *J* = 1.3, 10.7Hz, 21-H), 2.34 (s, 3H, NCH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ = 147.9 (ArC), 147.4 (ArC), 135.2 (ArC), 134.2 (ArC), 129.5 (ArCH), 128.6 (ArC), 128.1 (ArC), 127.0 (ArCH), 126.4 (ArCH), 126.0 (ArCH), 110.9 (ArCH), 110.7

(ArCH), 62.9 (CH), 58.6 (CH), 56.8 (CH₂), 56.4 (OCH₃), 56.1 (OCH₃), 55.0 (CH₂), 53.7 (CH), 42.0 (NCH₃), 26.9 (CH₂), 26.2 (CH₂). ESI-MS *m/z* (%) = 351 [M+H]⁺. HRMS (CI) calcd. for C₂₂H₂₇N₂O₂ [M+H]⁺ 351.2073, found 351.2074.

2-[[[(6S,7S,14aR,15R)-6,7,9,14,14a,15-hexahydro-2,3-dimethoxy-16-methyl-6,15-imino-5H-isoquino[3,2-b][3]benzazocin-7-yl]methyl]- 1H-Isoindole-1,3(2H)-dione 173 : To a solution of **172** (0.100g, 0.267 mmol) in THF (2.4 mL) was added LiAlH₄ (0.101g, 2.67 mmol) and at room temperature for 15 minutes. Then, to the mixture was successively added H₂O (0.1 mL), 1M NaOH (0.1 mL), and H₂O (0.3 mL). The resulting white powder was filtered off, washed with CH₂Cl₂ (2×5 mL) and evaporated to give a colorless oil which was engaged immediately in the next step without further purification. To a solution of amine intermediate in CH₂Cl₂ (5 mL) was added phthalic anhydride (0.0395 g, 0.267 mmol) and carbonyldiimidazole (0.087g, 0.534 mmol) was added and the reaction mixture was stirred at room temperature for 24 hours. Then, the mixture was diluted with CH₂Cl₂ (10 mL) and washed with 1N HCl (10 mL), brine (5 mL), dried over MgSO₄, filtered, evaporated and chromatographed (silica gel, *n*-heptane : EtOAc = 9 : 1) affording **172** as a white solid (0.084 g, 62%). Data for compound **172** : mp 93-94 °C, *R_f* = 0.3 (*n*-heptane : EtOAc = 1 : 1), [α]_D²³ = +67.0 (CH₂Cl₂, *c* = 0.50). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) δ = 7.80 (dd, 2H, *J* = 3.1, 5.4 Hz, ArH), 7.69 (dd, 2H, *J* = 3.1, 5.4 Hz, ArH), 7.11 (m, 4H, ArH), 6.58 (s, 1H, ArH), 6.55 (s, 1H, ArH), 4.32 (m, 1H, CH_AH_BNPhth), 4.23 (d, 1H, *J* = 17.7 Hz, 1-H), 4.07 (d, 1H, *J* = 17.7 Hz, 1-H), 3.85 (s, 6H, 2 OCH₃), 3.51 (s, 1H, 11-H), 3.38 (m, 1H, 4-H), 3.32 (m, 1H, CH_AH_BNPhth), 3.10 (m, 1H, 3-H), 3.07 (m, 1H, 19-H), 3.04 (m, 1H, 21-H), 2.90 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz, 20-H), 2.76 (dd, 1H, *J* = 17.2, 4.2 Hz, 4-H), 2.44 (s, 3H, NCH₃), 2.40 (m, 1H, 19-H). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ = 169.0 (2 NCO), 148.0 (ArC), 147.5 (ArC), 137.4 (ArC), 136.0 (ArC), 134.3 (2ArCH), 132.5 (2ArC), 129.9 (ArCH), 128.4 (ArC), 126.9 (ArC), 126.4 (ArCH), 126.1 (ArCH), 126.1 (ArCH), 123.5 (2ArCH), 110.7 (2 ArCH), 67.7 (CH), 62.3 (CH), 58.2 (CH), 56.4 (OCH₃), 56.2 (OCH₃), 54.5 (CH), 55.4 (CH₂), 42.6 (NCH₃), 39.2 (CH₂), 32.6 (CH₂), 27.4 (CH₂). ESI-MS *m/z* (%) = 510 [M+H]⁺, HRMS (CI) calcd. for C₃₁H₃₂N₃O₄ [M+H]⁺ 510.2393, found 510.2392.

(6S,14aR,15R)-5,6,9,14,14a,15-hexahydro-1,2-dimethoxy-16-methyl-6,15-Imino-7H-isoquino[3,2-b][3]benzazocin-7-one 178 : A solution of **177** (0.100 g, 0.208 mmol) in neat TFA (7 mL) was stirred at room temperature for 30 minutes. The solvent was coevaporated

with toluene twice affording the corresponding amino acid (0.127 g, 99%) as a pale yellow solid which was immediately dissolved in a mixture of DMF : DMSO (1 mL, 4 : 1), and *i*-Pr₂NEt (0.134 g, 1.04 mmol) was added at 0°C. After stirring for 5 minutes FDPP (0.120 g, 0.312 mmol) in DMF : DMSO (0.38 mL, 4 : 1) was added. After 16 hours of stirring at 60°C, the reaction mixture was diluted with CH₂Cl₂ (15 mL) and washed with a saturated solution of NaHCO₃ (6 mL). The resulting aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂ (5 mL) and combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered, evaporated and chromatographed (silica gel, *n*-heptane : EtOAc = 90 : 10 → 70 : 30) affording **178** as a white solid (46 mg, 61%). Data for compound **178** : mp 70-71°C, *R*_f = 0.3 (AcOEt : *n*-heptane = 1 : 1), [α]_D²³ = -18.8 ((CH₃)₂CO, c = 0.40). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) δ = 7.18 (br s, 2H, ArH), 7.16 (d, 1H, *J* = 5.6 Hz, ArH), 7.08 (d, 1H, *J* = 5.6 Hz, ArH), 6.86 (s, 2H, ArH), 5.51 (d, 1H, *J* = 17 Hz, 1-H), 4.02 (s, 1H, 11-H), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 3.89 (d, 1H, *J* = 17.3 Hz, 1-H), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.75 (d, 1H, *J* = 6.6 Hz, 20-H), 3.60 (m, 1H, 4-H), 3.57 (m, 1H, 3-H), 3.20 (dd, 1H, *J* = 6.6, 17.3 Hz, 19-H), 2.97 (d, 1H, *J* = 14.5 Hz, 4-H), 2.82 (d, 1H, *J* = 17.3 Hz, 19-H), 2.45 (s, 3H, NCH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ = 169.9 (CO), 151.0 (ArC), 146.7 (ArC), 134.7 (ArC), 133.1 (ArC), 129.5 (ArCH), 127.9 (ArC), 126.7 (ArCH), 126.7 (ArCH), 126.5 (ArCH), 125.7 (ArC), 124.4 (ArCH), 112.4 (ArCH), 60.9 (OCH₃), 60.4 (CH), 59.7 (CH), 56.2 (OCH₃), 56.0 (CH), 44.8 (CH₂), 40.1 (NCH₃), 34.9 (CH₂), 24.1 (CH₂). FTIR [KBr, cm⁻¹], 2933, 2852, 1638, 1493, 1452, 1367, 1338, 1282, 1223, 1085, 1048, 816, 759. ESI-MS *m/z* (%) = 365 [M+H]⁺. HRMS (CI) calcd. for C₂₂H₂₄N₂O₃ [M+H]⁺ 365.1865, found 365.1864.

(6S,7R,14aR,15R)-6,7,9,14,14a,15-hexahydro-1,2-dimethoxy-16-methyl-6,15-Imino-5H-isoquino[3,2-b][3]benzazocine-7-carbonitrile 179 : To a solution of **178** (0.025 g, 0.069 mmol) in THF (1.5 mL) at -78 °C under argon was added dropwise a 1 M DIBAL-H solution in toluene (0.15 mL, 0.15 mmol), and the reaction mixture was stirred at -78 °C for 1 hour. The reaction mixture was diluted with CH₂Cl₂ (2.5 mL), quenched at -78 °C with 1 M NaOH (0.5 mL) and then warmed to room temperature and extracted with CH₂Cl₂ (2×5 mL), washed with brine (5 mL), dried over MgSO₄, filtered and evaporated affording the corresponding carbinolamine. The material was taken up in CH₂Cl₂ (0.5 mL), and AcOH (0.013 g, 0.206 mmol) was added slowly followed by TMSCN (0.041 g, 0.41 mmol). The reaction mixture was stirred for 2 hours and then quenched with a saturated NaHCO₃ solution (1 mL), extracted with CH₂Cl₂ (2×5 mL), washed with brine (5 mL), dried over MgSO₄, filtered, evaporated and chromatographed (silica gel, *n*-heptane : EtOAc = 9 : 1) affording **179** as a

white solid (0.018 g, 69%). Data for compound **179** : mp 79-80 °C, $R_f = 0.4$ (*n*-heptane : EtOAc = 1 : 1), $[\alpha]_D^{23} = +4.2$ (CH₂Cl₂, $c = 0.15$). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) $\delta = 7.19$ -7.11 (m, 3H, ArH), 6.99 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz, ArH), 6.82 (s, 2H, ArH), 4.22 (d, 1H, $J = 17$ Hz, 1-H), 4.02 (s, 1H, 11-H), 3.98 (dd, 1H, $J = 12.3, 17.0$ Hz, 4-H), 3.85 (s, 6H, OCH₃), 3.76 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, 21-H), 3.68 (d, 1H, $J = 17.2$ Hz, 1-H), 3.36 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz, 20-H), 3.18 (m, 1H, 19-H), 3.16 (m, 1H, 3-H), 2.71 (dd, 1H, $J = 4.7, 17.2$ Hz, 4-H), 2.57 (d, 1H, $J = 17.2$ Hz, 19-H), 2.40 (s, 3H, NCH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) $\delta = 150.7$ (ArC), 146.5 (ArC), 135.7 (ArC), 132.8 (ArC), 129.6 (ArCH), 129.5 (ArC), 127.1 (ArC), 127.0 (ArCH), 126.4 (ArCH), 126.3 (ArCH), 122.9 (ArCH), 121.7 (CN), 111.6 (ArCH), 61.1 (OCH₃), 57.8 (CH), 57.1 (CH), 56.7 (CH), 56.2 (CH and OCH₃), 55.6 (CH₂), 42.5 (NCH₃), 28.1 (CH₂), 25.7 (CH₂). ESI-MS m/z (%) = 376 [M+H]⁺. HRMS (CI) calcd. for C₂₃H₂₆N₃O₂ [M+H]⁺ 376.2025, found 376.2023.

(6S,14aR,15R)-6,7,9,14,14a,15-hexahydro-1,2-dimethoxy-16-methyl-6,15-Imino-5H-isoquino[3,2-b][3]benzazocine 180 : To a solution of **178** (0.025 g, 0.069 mmol) in THF (0.5 mL) at -78 °C under argon was added dropwise a 1 M DIBAL-H solution in toluene (0.48 mL, 0.481 mmol), and the reaction mixture was stirred at -78 °C for 1 hour. The reaction mixture was diluted with CH₂Cl₂ (2 mL), quenched at -78 °C with 1 M NaOH (1 mL) and then warmed to room temperature and extracted with CH₂Cl₂ (2×5 mL), washed with brine (5 mL), dried over MgSO₄, filtered, evaporated and chromatographed (Al₂O₃, *n*-heptane : EtOAc = 95 : 5) affording the corresponding benzylamine **180** as a white solid (0.020 g, 83%). Data for compound **180** : mp 194-195 °C, $R_f = 0.2$ (*n*-heptane : EtOAc = 1 : 1), $[\alpha]_D^{23} = +10.4$ ($c = 0.25$, CH₂Cl₂). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) $\delta = 7.13$ -7.09 (m, 3H, ArH), 6.97 (d, 1H, $J = 7.2$ Hz, ArH), 6.57 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz, ArH), 6.55 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz, ArH), 4.04 (d, 1H, $J = 16.8$ Hz, 1-H), 3.93 (s, 1H, 11-H), 3.96 (s, 3H, OCH₃), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 3.88 (dd, 1H, $J = 11.7, 17.0$ Hz, 4-H), 3.51 (d, 1H, $J = 16.8$ Hz, 1-H), 3.21 (m, 2H, 21-H and 3-H), 3.11 (m, 1H, 19-H), 3.09 (m, 1H, 20-H), 2.63 (m, 1H, 4-H), 2.59 (m, 1H, 19-H), 2.47 (d, 1H, $J = 10.4$ Hz, 21-H), 2.33 (s, 3H, NCH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) $\delta = 150.4$ (ArC), 146.4 (ArC), 135.4 (ArC), 134.2 (ArC), 130.6 (ArC), 129.6 (ArCH), 129.4 (ArC), 127.0 (ArCH), 126.4 (ArCH), 125.9 (ArCH), 123.1 (ArC), 111.1 (ArCH), 61.1 (OCH₃), 57.8 (CH), 57.2 (OCH₃), 56.9 (CH₂), 56.1 (OCH₃), 55.0 (CH₂), 53.4 (CH), 42.0 (NCH₃), 26.4 (CH₂), 25.9 (CH₂). ESI-MS m/z (%) = 351 [M+H]⁺; HRMS (CI) calcd. for C₂₂H₂₇N₂O₂ [M+H]⁺ 351.2073, found 351.2073.

Bistetrahydroisoquinolines 181 and 182 : General procedure: To a solution of acid **169** or **176** (0.1 g, 0.207 mmol) and *i*-Pr₂NEt (0.073 g, 99 μL, 0.569 mmol) in CH₂Cl₂ (0.21 mL) was added C₆F₅OH (0.042 g, 0.228 mmol) and PyBop[®] (0.129 g, 0.249 mmol) and stirred at room temperature for 18 hours. Then CH₂Cl₂ (10 mL) was added, followed by a saturated NaHCO₃ solution (5 mL). The organic layer was separated and washed with a 1 M solution of HCl (5 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, evaporated and chromatographed (silica gel, *n*-heptane : EtOAc = 9 : 1) affording pure **177** (0.075 g, 56%), or **178** (0.071 g, 53%) as white solids.

Data for **(1R,3S,3'R)-2'-tert-butyl 3-perfluorophenyl 6,7-dimethoxy-2-methyl-3,3',4,4'-tetrahydro-1,3'-biisoquinoline-2',3(1H,1'H)-dicarboxylate 181** : mp 63-64 °C, *R*_f = 0.5 (*n*-heptane : EtOAc = 1 : 1); [α]_D²³ = +67.8 (CH₂Cl₂, c = 0.50). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) rotamers (50 : 50) δ = 7.13-7.06 (m, 4H), 6.55 (br s, 1.5H), 6.46 (s, 0.5H), 4.89 (d, 0.5H, *J* = 15.5 Hz), 4.79 (d, 0.5H, *J* = 16.4 Hz), 4.54 (m, 1H), 4.41 (m, 0.5H), 4.32 (m, 0.5H), 4.27 (m, 0.5H), 4.05 (m, 1H), 3.82 (s, 6H), 3.72 (d, 0.5H, *J* = 15.5 Hz), 3.36 (m, 0.5H), 3.27 (m, 1H), 3.05 (m, 1H), 2.77 (s, 1.5H), 3.68 (m, 0.5H), 2.64 (s, 1.5H), 2.45 (m, 0.5H), 1.54 (s, 4.5H), 1.50 (s, 4.5H). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) rotamers δ = 169.4 (CO), 169.1 (CO), 155.8 (NCO), 155.6 (NCO), 148.2 (4ArC), 142.3 (m, CF), 142.3 (m, CF), 140.7 (m, CF), 140.3 (m, CF), 139.4 (m, CF), 138.7 (m, CF), 137.2 (m, CF), 136.4 (m, CF), 135.7 (m, CF), 135.3 (m, CF), 134.8 (m, CF), 128.4 (ArC), 128.3 (ArC), 127.6 (ArC), 127.5 (ArC), 127.4 (2ArCH), 127.1 (3ArC), 126.6 (2ArCH), 125.9 (2ArCH), 125.1 (ArC), 124.6 (ArC), 111.9 (ArCH), 111.6 (ArCH), 111.4 (2ArCH), 80.9 (C), 80.3 (C), 63.4 (CH), 62.9 (CH), 61.9 (CH), 59.7 (CH), 56.3 (4OCH₃), 54.8 (CH), 53.5 (CH), 45.3 (2 CH₂), 41.2 (NCH₃), 40.0 (NCH₃), 33.5 (CH₂), 30.6 (CH₂), 30.1 (CH₂), 29.0 ((CH₃)₃), 27.3 (CH₂). ESI-MS *m/z* (%) = 649 [M+H]⁺. HRMS (CI) calcd. for C₃₃H₃₄F₅N₂O₆ [M+H]⁺ 649.2337, found 649.2337.

Data for **(1R,3S,3'S)-2'-tert-butyl 3-perfluorophenyl 6,7-dimethoxy-2-methyl-3,3',4,4'-tetrahydro-1,3'-biisoquinoline-2',3(1H,1'H)-dicarboxylate 182** : mp 66-67 °C, *R*_f = 0.6 (*n*-heptane : EtOAc = 1 : 1), [α]_D²³ = -11.0 (CH₂Cl₂, c = 0.5). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) rotamers (60/40) δ 7.22-7.18 (m, 4H), 6.75 (s, 0.6H), 6.74 (s, 0.4H), 6.50 (s, 0.6H), 6.49 (s, 0.4H), 4.92 (d, 0.6H, *J* = 17.1 Hz), 4.72 (m, 0.4H, *J* = 17.1 Hz), 4.51 (m, 0.4H), 4.41 (d, 0.5H, *J* = 17.1 Hz), 4.39 (d, 0.5H, *J* = 17.1 Hz), 4.28 (m, 0.6H), 3.89 (s, 1.8H), 3.88 (s, 1.2H), 3.86 (s, 3H), 3.67 (dd, 0.6H, *J* = 2.5, 15.8 Hz), 3.58 (dd, 0.6H, *J* = 2.5, 15.8 Hz), 3.47 (m, 2H), 3.43 (m, 1H), 3.38 (m, 1H), 3.16 (m, 0.4H), 3.06 (m, 0.6H), 2.89 (m, 1H), 2.39 (s, 1.2H), 2.33 (s, 1.8H), 1.26 (s, 3.6H), 1.16 (s, 5.4H); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) rotamers δ 170.7 (CO),

170.6 (CO), 155.1 (NCO), 154.9 (NCO), 148.7 (ArC), 148.5 (ArC), 148.3 (ArC), 147.7 (ArC), 142.5 (m, CF), 141.0 (m, CF), 140.5 (m, CF), 140.3 (m, CF), 139.8 (m, CF), 139.4 (m, CF), 138.9 (m, CF), 138.5 (m, CF), 137.9 (m, CF), 137.4 (m, CF), 137.2 (m, CF), 134.4 (ArC), 134.0 (ArC), 133.2 (2ArC), 129.7 (ArCH), 129.5 (ArCH), 128.9 (ArC), 128.4 (ArC), 127.4 (ArCH), 127.3 (ArCH), 127.0 (ArC), 126.7 (ArCH), 126.6 (ArCH), 126.5 (ArCH), 126.3 (ArCH), 126.0 (ArC), 111.5 (ArCH), 111.1 (ArCH), 111.0 (2 ArCH), 80.1 (C), 80.0 (C), 65.6 (CH), 65.4 (CH), 65.0 (CH), 64.5 (CH), 56.7 (OCH₃), 56.6 (OCH₃), 56.4 (OCH₃), 56.3 (OCH₃), 56.0 (CH), 54.4 (CH), 46.1 (NCH₃), 46.0 (NCH₃), 45.1 (CH₂), 44.3 (CH₂), 31.9 (CH₂), 31.8 (CH₂), 30.3 (CH₂), 29.9 (CH₂), 28.6 ((CH₃)₃), 28.3 ((CH₃)₃). ESI-MS m/z (%) = 649 [M+H]⁺; HRMS (CI) calcd. for C₃₃H₃₄F₅N₂O₆ [M+H]⁺ 649.2337, found 649.2336.

2.5.2. Biology

Cell cytotoxicity test MTT assay

The candidate drug for testing are then weighed accurately, and diluted to give a concentration of 50 mM, in DMSO. These drug solutions are then tested using a standard 96 well assay.⁹⁵ 4 µL of the drug, dissolved in DMSO, are added to 2 mL of the cell solution contained in RPMI medium supplemented with FCS (10% v/v) giving a concentration of drug of 100 µM. 1 mL of this solution is then added to a second 1 mL aliquot of cell solution, giving a half dilution to a concentration of 50 µM of drug in the cell solution. This dilution is repeated seven times, to yield a total of seven samples down to a concentration of 1.56 µM, leaving one cell solution free of drug acting as a control. These solutions are then pipetted in triplicate 96-well microtitre testplate, transferring cells into each well. A row of untreated control cells is also added to the plate for reference. The cells are then re-incubated for five days at 37°C (5% CO₂ in air). After this time, the plate was removed from the incubator and 50 µl of a solution of MTT (3 mg/ml in PBS) was added to each well. After incubation (37 °C, 5% CO₂ in air, 3 hours) the medium was carefully removed from each well by suction and the resulting formazan precipitate was redissolved in 200 µl of DMSO. The optical density of each well was then read at two wavelengths (λ 540 and 690 nm) using a Titretek Multiscan MCC/340 platereader. After processing and analysis, the results obtained enabled the calculation of the drug dose required to inhibit cell growth by 50% (IC₅₀ value), determined by graphical means as a percentage of the control growth.

Flow cytometry analysis

After incubation (37 °C, 5% CO₂ in air, 24 hours) of the K562 cells contained in RPMI medium supplemented with FCS (10% v/v) (10 ml, 2 x 10⁵ cells/ml) to realize the equilibration of the cells in the media, the drug was introduced in each flask at a concentration of 5×IC₅₀. After additional 24 hours, the cells were transferred in a centrifugation tube. Then the supernatant was discarded and 500 µL of EtOH were added. The alcoholic solution was transferred to an eppendorf, vortexed, and left in the fridge for a minimum of 10 minutes. The samples were centrifuged, the supernatant discarded and the cells washed twice with 1 mL of PBS. 50 µL of RNase were added and the tubes were stored at room temperature for 5 minutes. Finally, 300 µL of propidium iodide were added and the light pink solutions were stored at room temperature for 15 minutes before analysis by flow cytometry. The intracellular fluorescence was measured in a Coulter Epics V flow cytometer, using an argon laser (λ_{ex} 488 nm).

Chapitre 3 : Substitution Nucléophile Oxydante (S_NOx) de positions benzyliques

3.1. Introduction

Plusieurs alcaloïdes de type tétrahydroisoquinoléines et β -phényléthylamines d'intérêt biologique possèdent différents types de fonctions en position benzylique.¹⁰⁷ Récemment un dérivé de la (+)-Norepinéphrine, la syncarpamide **183** a été isolé des feuilles de l'arbre *Zanthoxylum syncarpum* et diffère de la plupart des β -phényléthylamines naturelles par le degré de substitution de la position benzylique (Figure 14).¹⁰⁸ Ce composé a montré des activités modérées comme agents antipaludéens avec des IC_{50} respectifs de 4,2 et 6,1 μM contre les clones *Plasmodium falciparum* D6 et W2.^{108e}

Nous nous sommes intéressés à cette famille de composés par analogie structurale avec l'ecteinascidine 743 qui comporte, elle aussi, un degré de substitution supérieur de la position C-4 benzylique qui incorpore une fonction de type cystéinique. De plus, l'azapodophylotoxine **184**, structurellement voisine de la podophylotoxine et des composés de type tétrahydroisoquinoléine, possède un degré d'oxydation (II) de leur position benzylique, et font l'objet d'études en ce qui concerne l'introduction de fonctionnalités requises en cette position.¹⁰⁹

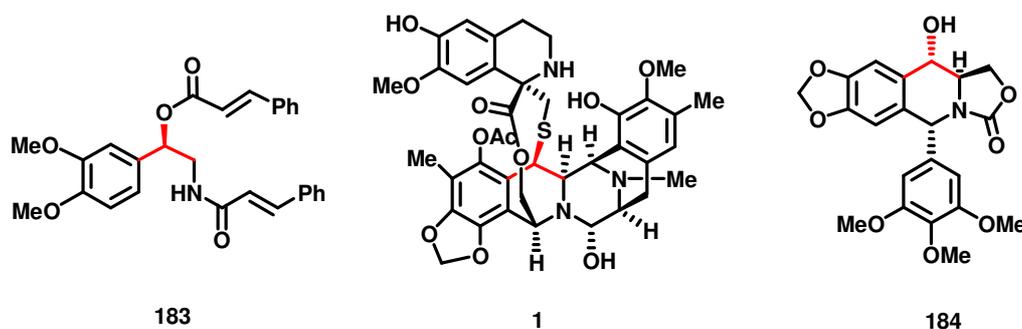


Figure 14. Alcaloïdes oxydés en position benzylique.

¹⁰⁷ (a) Bentley, K. W. The isoquinoline Alkaloids, *Harvard Academic Publisher*, Amsterdam, 1998; (b) Bentley, K. W. *Nat. Prod. Rep.* **2003**, 20, 342; (c) Bentley, K. W. *Nat. Prod. Rep.* **2004**, 21, 395; (d) Bentley, K. W. *Nat. Prod. Rep.* **2005**, 22, 249; (e) Bentley, K. W. *Nat. Prod. Rep.* **2006**, 23, 444.

¹⁰⁸ (a) Facundo, V. A.; De Morais, S. M.; Braz Filho, R.; Matos, I. J. de A.; Souza, R. T. *Rev. Bras. Farm.* **1997**, 78, 57; (b) Facundo, V. A.; De Morais, S. M.; Machado, M. I. L.; Matos, F. J. de A. da Frota, L. C. M. *J. Essent. Oil Res.* **1999**, 11, 426; (c) De Morais, S. M.; Facundo, V. A.; Braz Filho, R. *J. Essent. Oil Res.* **2002**, 14, 274; (d) Ross, S. A.; Sultana, G. N. N.; Burandt, C. L.; ElSohly, M. A.; Marais, J. P. J.; Ferreira, D. *J. Nat. Prod.* **2004**, 67, 88; (e) Ross, S. A.; Al-Azeib, M. A.; Krishnaveni, K. S.; Fronczek, F. R.; Burandt, C. L. *J. Nat. Prod.* **2005**, 68, 1297.

¹⁰⁹ (a) Tomioka, K.; Kubota, Y.; Koga, K. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1989**, 1622; (b) Tomioka, K.; Kubota, Y.; Koga, K. *Tetrahedron* **1993**, 49, 1891; (c) Bosmans, J.-O.; Van der Eycken, J.; Vandewalle, M. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 3877; (d) Pearce, H. L.; Bach, N. J.; Cramer, T. L. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 907; (e) Marcantoni, E.; Petrini, M.; Profeta, R. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 2133.

Après nous être intéressés au développement d'une nouvelle méthode de synthèse de la structure pentacyclique de type pipérazine de la famille des ecteinascidines ainsi qu'à leur évaluation biologique, nous avons développé et adapté une méthode de fonctionnalisation benzylique dirigée vers l'obtention d'analogues de l'Et 743.

Cette étude était basée sur la synthèse de systèmes pentacycliques de type **185** issus de la cyclisation intramoléculaire des (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléines **186** fonctionnalisées en position benzylique. Ces dernières seraient elles-mêmes obtenues par condensation de Pictet-Spengler d'un dérivé de type β -phénylalanine **187** et d'un composé incorporant une fonction oxazolidinone et une fonctionnalisation en position benzylique **188** (Figure 15).

Pour atteindre nos objectifs, nous avons étudié la réaction de substitution nucléophile oxydante de la position benzylique par l'utilisation de la 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone (DDQ) comme agent d'oxydation. A partir d'un dérivé de type oxazolidinone, obtenu à partir de la L-DOPA, nous avons pu synthétiser des composés de type **188** utilisables pour la construction des structures de type pipérazine ainsi que des analogues de la syncarpamide **183** et de l'azapodophylotoxine **184**.

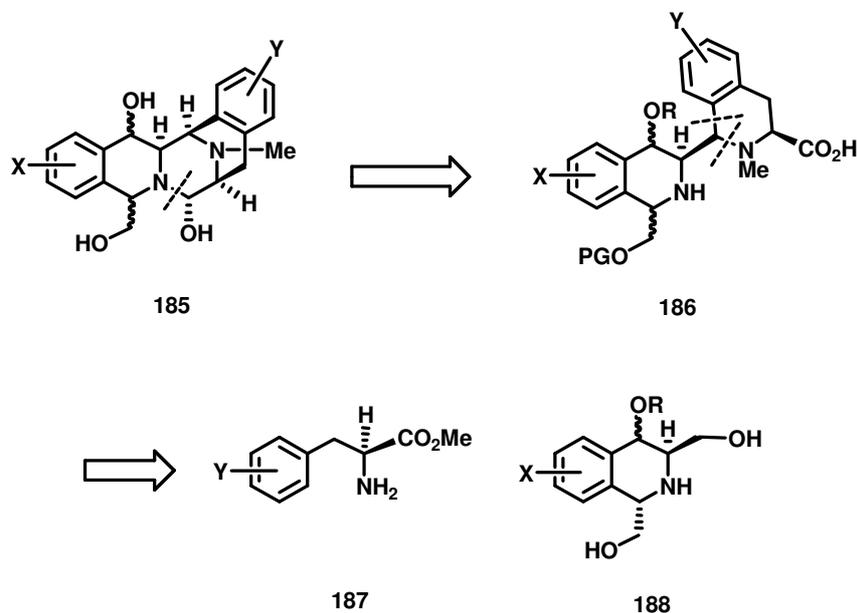


Figure 15. Analyse rétrosynthétique pour l'obtention de structures pipérazines de type **185**.

La DDQ est connue pour être un réactif efficace d'oxydation, formant des complexes de transfert de charge avec des composés aromatiques.¹¹⁰ A ce jour, plusieurs équipes ont étudié les effets de la DDQ vis-à-vis de l'oxydation de la position benzylique de divers substrats. En 1965, Becker a montré que la DDQ était spécifique et appropriée pour la préparation d'aldéhydes et cétones aromatiques.¹¹¹ Le mécanisme précis de cette réaction d'oxydation de 6-hydroxy- et 6-méthoxytétrahydronaphthalènes en cétones correspondantes en position benzylique a aussi été étudié par les équipes de Turner¹¹² et Lalonde.¹¹³ La formation de dérivés carbonylés a aussi été réalisée avec succès par l'oxydation sélective de chaînes latérales situées en position 3 de dérivés indoliques (**189** ou **191**) par les équipes de Yonemitsu¹¹⁴ et Cook (Schéma 43).¹¹⁵

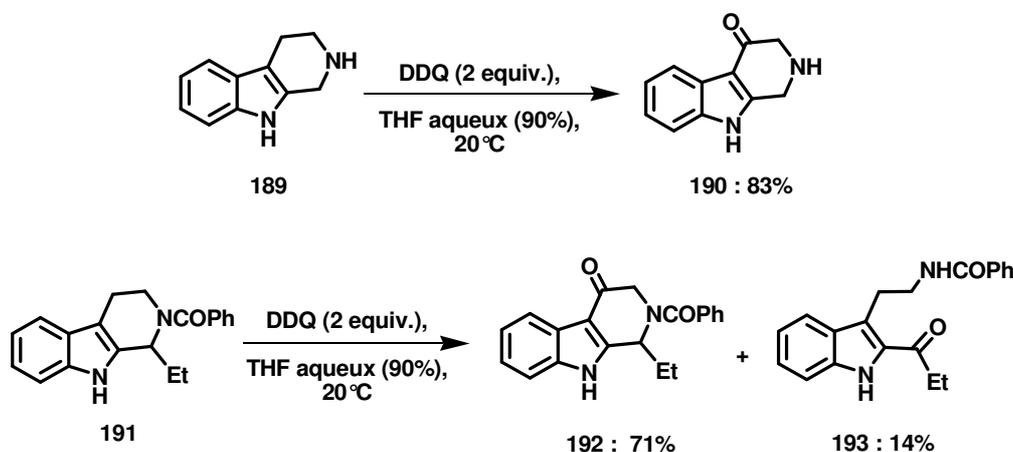


Schéma 43. Oxydation de la chaîne latérale en position 3 de dérivés indoliques.^{114,115}

L'oxydation benzylique de composés polyaromatiques de type anthracène a aussi été étudiée par l'utilisation de la DDQ dans une solution méthanolique ou en milieu acide.¹¹⁶ Concernant le séries d'alcaloïdes de type pavinan et isopavinan, la DDQ a prouvé son efficacité par la

¹¹⁰ (a) Walker, D.; Hiebert, J. D. *Chem. Rev.* **1967**, 67, 153; (b) Turner, A. B. *Synthetic Reagents*, Pizey, J. S., Ed.; Wiley, New York, 1977, Vol. 3, p. 193.

¹¹¹ (a) Becker, H. D. *J. Org. Chem.* **1965**, 30, 982; (b) Becker, H. D. *J. Org. Chem.* **1969**, 34, 1203.

¹¹² Findlay, J. W. A.; Turner, A. B. *J. Chem. Soc. (C)*, **1971**, 23.

¹¹³ Ramdayal, F. D.; Kiemle, D. J.; Lalonde, R. T. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 4607.

¹¹⁴ (a) Oikawa, Y.; Yoshioka, T.; Mohri, K.; Yonemitsu, O. *Heterocycles*. **1979**, 12, 1457; (b) Oikawa, Y.; Yonemitsu, O. *J. Org. Chem.* **1977**, 42, 1213.

¹¹⁵ (a) Narayanan, K.; Cook, J. M. *Heterocycles* **1991**, 32, 2005; (b) Cain, M.; Mantei, R.; Cook, J. M. *J. Org. Chem.* **1982**, 47, 4933; (c) Hagen, T. J.; Narayanan, K.; Names, J.; Cook, J. M. *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 2170.

¹¹⁶ (a) Fu, P. P.; Harvey, R. G. *Chem. Rev.* **1978**, 78, 317; (b) Fu, P. P.; Cortez, C.; Sukumaran, K. B.; Harvey, R. G. *J. Org. Chem.* **1979**, 44, 4265; (c) Lee, H.; Harvey, R. G. *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 749; (d) Lee, H.; Harvey, R. G. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 4587; (e) Lehr, R. E.; Kole, P. L.; Tschappat, K. D. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 1649.

formation d'un intermédiaire de type quinone (**195**) pour la synthèse de précurseurs de cette famille d'alcaloïdes polycycliques (Schéma 44).¹¹⁷

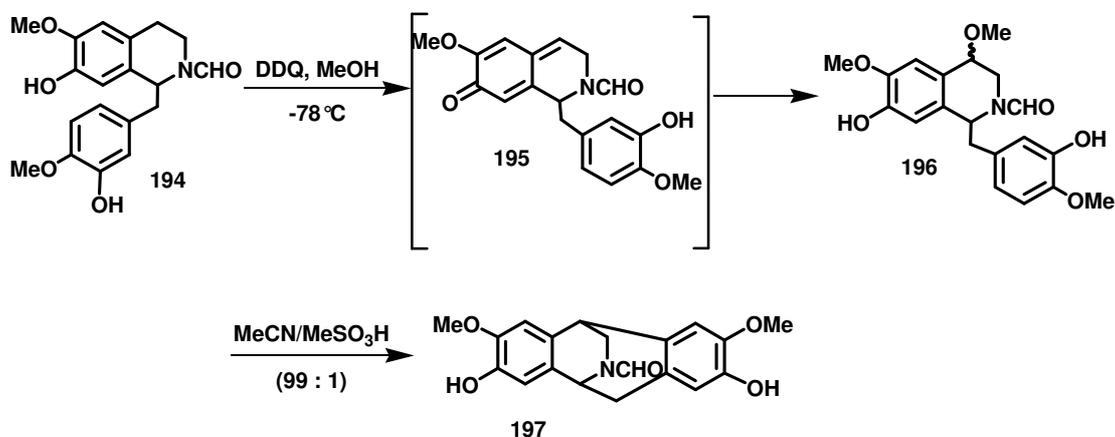


Schéma 44. Synthèse d'un dérivé de type isopavinan **197**.¹¹⁷

D'une manière plus générale, Guy et Lemaire ont établi la préparation de dérivés benzyliques fonctionnalisés par des fonctions éther¹¹⁸ et ester¹¹⁹ par mono-oxydation de la position benzylique en présence de DDQ. Les dérivés étherés sont obtenus à partir de divers alcools et d'un composé phénolique. L'incorporation de fonctions esters en position benzylique a aussi été réalisée en présence d'acide acétique sur des composés aromatiques incorporant un groupement méthoxy ou benzyloxy en *para* de cette position (Schéma 45).

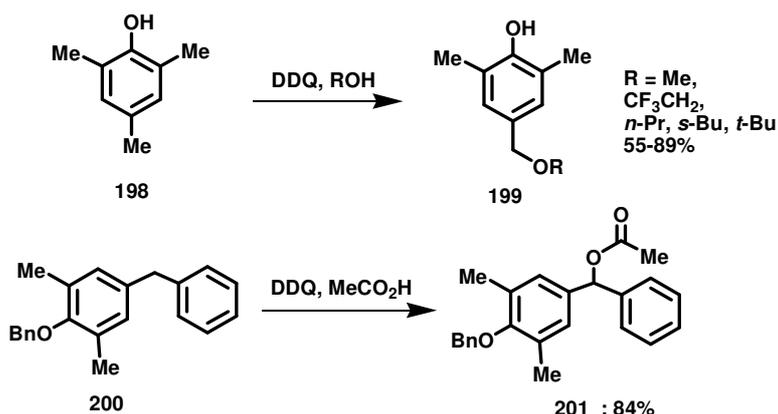


Schéma 45. Mono-oxydation benzylique d'alkyl-aromatiques enrichis.^{118,119}

¹¹⁷ Rice, K. C.; Ripka, W. C.; Reden, J.; Brossi, A. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 601.

¹¹⁸ Bouquet, M.; Guy, A.; Lemaire, M.; Guetté, J.-P. *C. R. Acad. Sci., Ser. II:Chim.* **1984**, *299*, 1389.

¹¹⁹ Bouquet, M.; Guy, A.; Lemaire, M.; Guetté, J.-P. *Synth. Commun.* **1985**, *15*, 1153.

Une version diastéréosélective a également été développée à partir d'un substrat chiral, ce qui permet d'induire une différence dans la vitesse de réaction entre deux protons diastéréotopiques benzyliques.¹²⁰ Cette réaction a, entre autres, été développée à partir d'un dérivé de la (*S*)-proline et de façon intramoléculaire par oxydation asymétrique (Schéma 46).

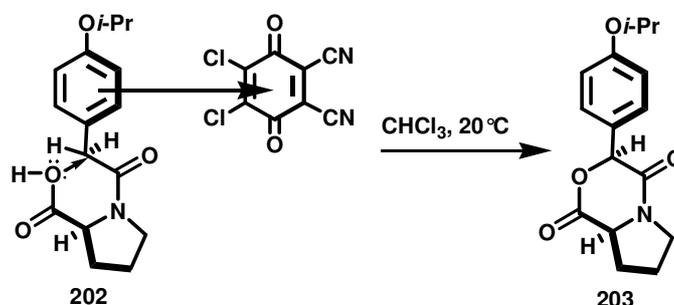


Schéma 46. Cyclisation intramoléculaire par oxydation benzylique asymétrique.^{120a}

L'utilisation de cette méthode a montré son efficacité pour la formation directe de liaisons C-N par réaction d'azidation¹²¹ et C-CN par cyanation.¹²² Elles ont, entre autres, été appliquées à des dérivés benzyliques enrichis mais aussi à des stéroïdes.

Des études concernant la synthèse des dérivés de type azapodophylotoxine faisant intervenir l'introduction de fonctions acétyles en position benzylique par action de DDQ en présence d'acide acétique, ont été réalisées.¹⁰⁹

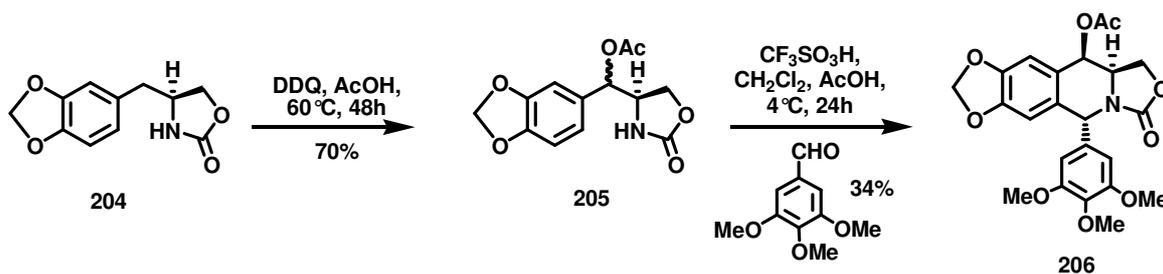


Schéma 47. Synthèse d'un dérivé azapodophylotoxine.¹⁰⁹

¹²⁰ (a) Lemaire, M.; Guy, A.; Imbert, D.; Guetté, J.-P. *J. Chem. Soc., Chem. Commun* **1986**, 741; (b) Guy, A.; Lemor, A.; Imbert, D.; Lemaire, M. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 327; (c) Lemaire, M.; Guy, A.; Imbert, D.; Guetté, J.-P. *New J. Chem.* **1991**, 15, 379.

¹²¹ (a) Guy, A.; Lemor, A.; Doussot, J.; Lemaire, M. *Synthesis* **1988**, 900; (b) Guy, A.; Doussot, J.; Lemaire, M. *Synthesis* **1991**, 460.

¹²² (a) Lemaire, M.; Doussot, J.; Guy, A. *Chem. Lett.* **1988**, 1581; (b) Guy, A.; Doussot, J.; Guetté, J.-P.; Garreau, R.; Lemaire, M. *Synlett* **1992**, 821.

Sur la base des travaux décrits jusqu'à présent dans la littérature, nous avons développé une extension des conditions d'application de l'oxydation benzylique par la DDQ.

Nous avons appliqué cette méthode à la synthèse de dérivés de type β -phényléthylamine mais aussi à celle d'analogues de précurseurs synthétiques de l'Et 743 à partir de la L-DOPA.

3.2. Synthèse d'un précurseur chimiocompatible avec les conditions d'oxydation

Afin d'établir un modèle d'oxydation de la position benzylique de dérivés de type β -phényléthylamine, nous avons sélectionné la L-DOPA (**142**) comme précurseur commercialement disponible (Schéma 48). Pour cela, la protection de la fonction α -amino-acide et celle des hydroxyles aromatiques a été envisagée en trois étapes. La première étape d'estérification de la fonction acide carboxylique dans le méthanol en présence de chlorure de thionyle ($SOCl_2$) permet d'obtenir l'ester **164** sous forme de chlorhydrate d'amine avec un rendement de 99%.^{57d} Cette étape est suivie d'une réaction de protection de la fonction amine par un groupement *t*-Boc aboutissant à la formation de **206** avec un rendement de 92%. Ce dernier est ensuite engagé dans une étape de méthylation d'hydroxyles aromatiques permettant d'obtenir **207** avec un rendement de 89%.^{57d} Une fonction de type oxazolidinone est ensuite formée en deux étapes par réduction de la fonction ester en présence de borohydrure de lithium ($LiBH_4$) dans un mélange THF/MeOH (3 : 1) conduisant, avec 92% de rendement, à la formation de l'alcool primaire **208** suivie d'une cyclisation intramoléculaire en présence de $SOCl_2$ dans le THF conduisant à l'oxazolidinone **209** désirée.^{109e}

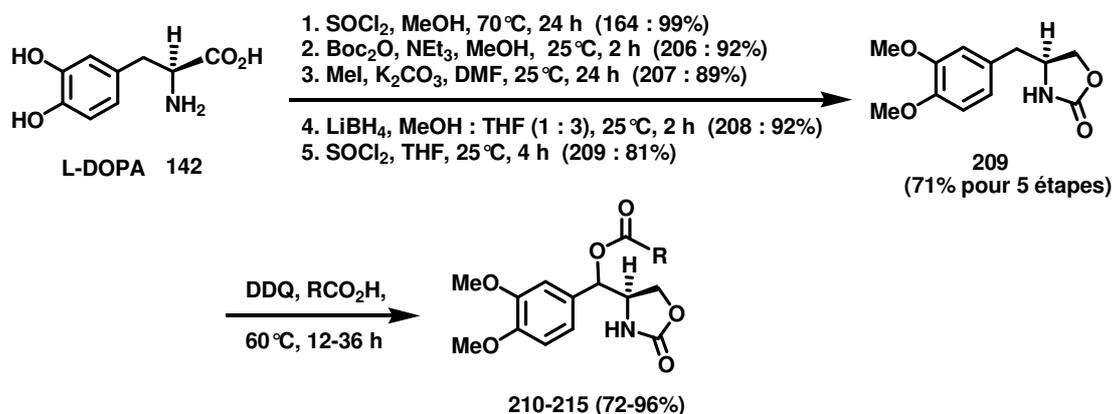


Schéma 48. Préparation et oxydation de l'oxazolidinone **209**.¹²³

¹²³ Aubry, S.; Pellet-Rostaing, S.; Lemaire, M. *Eur. J. Org. Chem.* 2007, sous presse.

Ce composé a été synthétisé avec un rendement global de 71% en cinq étapes à partir de la L-DOPA et une pureté optique supérieure à 99%. L'excès énantiomérique a été déterminé par analyse HPLC chirale (Chiracel OJ-H) en comparaison avec le mélange racémique préparé par la même séquence réactionnelle.

3.3. Développement des conditions de substitution nucléophile oxydante

3.3.1. Oxydation benzylique par des acides carboxyliques

A partir du composé **209** synthétisé à l'échelle de plusieurs grammes, la substitution benzylique oxydante (S_NOx) en présence de différents acides carboxyliques a été réalisée en présence de DDQ. Ces réactions d'oxydation ont été effectuées sans solvant à 60°C en présence de l'acide carboxylique liquide et dans le dichlorométhane (CH_2Cl_2) ou le chloroforme ($CHCl_3$) en présence d'acide carboxylique solide avec deux équivalents de DDQ à une concentration de 0,4 mol/L. De plus, les durées de réaction varient en fonction de la nature de l'acide carboxylique. Pour chaque acide carboxylique, deux diastéréoisomères ont été obtenus car la DDQ peut complexer l'une ou l'autre des faces du substrat et arracher l'un des deux protons benzyliques.¹²⁰ La coloration bleu intense, qui apparaît lorsque la DDQ est ajoutée à une solution de **209** et d'acide carboxylique, évolue avec l'avancement de la réaction vers une coloration marron moins intense qui indique la disparition des interactions de transfert de charge.^{110a} En effet le substrat **209** joue le rôle de donneur et la DDQ celui d'accepteur. En ce qui concerne les acides carboxyliques, leur rôle est double, nucléophile et catalyseur de la réaction. Dans le cas d'acides carboxyliques solide, l'utilisation de solvants chlorés CH_2Cl_2 ou $CHCl_3$ est connue pour améliorer la capacité de la DDQ à former un complexe de transfert de charge et arracher un hydrure.¹²⁴ La fin de la réaction est aussi marquée par la précipitation dans le milieu réactionnel du sous produit de la réaction, la 2,3-dichloro-5,6-dicyanohydroquinone (DDHQ). Lorsque la réaction est réalisée à température ambiante, la coloration bleu significative du complexe de transfert de charge persiste même après 96 heures de réaction et le produit de départ est récupéré.

Quand la réaction est chauffée à 60°C pendant 24 heures dans un acide carboxylique liquide tel que l'acide acétique ou acrylique, nous observons la disparition des interactions donneur-

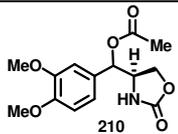
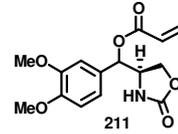
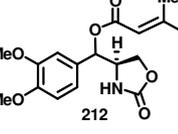
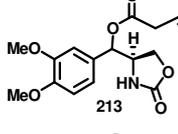
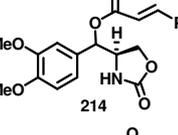
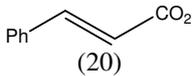
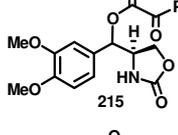
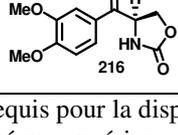
¹²⁴ Ohki, A.; Nishiguchi, T.; Fukuzumi, K. *Tetrahedron* **1979**, *35*, 1737.

accepteur par la décoloration de la solution (marron claire) et la précipitation de la DDHQ. Le mélange de diastéromères des esters **210** et **211** correspondants est obtenu avec de bons rendements mais des ratios diastéromériques proches de l'unité (Tableau 12, entrées 1-2).

Dans le cas d'acides carboxyliques solide tels que l'acide 3,3-diméthylacrylique, l'acide *trans*-cinnamique ou l'acide phénylglyoxylique, les temps de réaction et les rendements dépendent de la solubilité des acides carboxyliques dans le CH_2Cl_2 or $CHCl_3$, mais aussi de leur réactivité et acidité respectives.

Dans le cas de la synthèse des composés **212-214**, les rendements sont plus faibles et les excès diastéromériques restent stables en faveur de l'isomère *anti* (entrées 3-5). Dans le cas de l'acide phénylglyoxylique, de meilleurs résultats sont obtenus en terme de temps de réaction (12 heures) car **215** a été isolé avec un rendement de 96 % (entrée 6). L'introduction directe d'une fonction glyoxalate en position benzylique de **209** avec l'acide glyoxylique monohydrate n'a pu être réalisée car nous avons obtenu la formation d'un dérivé incorporant une fonction cétone en position benzylique, due à la présence d'eau (entrée 7). Dans ce cas, la réaction d'oxydation semble être sensible à plusieurs facteurs. Premièrement, une importante concentration de nucléophile est nécessaire pour obtenir des rendements corrects et des temps de réactions courts. Deuxièmement, les taux de substitution semblent dépendre de la structure de l'acide carboxylique et influencent les rendements. Finalement, une activation acide du complexe donneur-accepteur semble importante pour la substitution de la position benzylique de **209**.

Malgré les bons rendements, la stéréosélectivité reste faible dans la plupart des cas. Dans le cas, d'acides carboxyliques plus encombrants comme l'acide *trans*-cinnamique et l'acide phénylglyoxylique, des diastérosélectivités faibles sont aussi obtenues.¹²⁰ Néanmoins, un phénomène de double oxydation de la position benzylique n'est pas observé, certainement dû aux effets électroattracteurs de la première fonction ester introduite.¹¹⁹

| Entrée | Produit | Acide carboxylique (equiv.) | Solvant | Temps (h) ^a | Rdt (%) (syn/anti) ^b | Rdt syn (%) | Rdt anti (%) |
|--------|---|--|---------------------------------|------------------------|---------------------------------|-------------|--------------|
| 1 |  | CH ₃ CO ₂ H (37) | - | 24 | 82 (45 : 55) | 26 | - |
| 2 |  | H ₂ C=CHCO ₂ H (37) | - | 24 | 94 (45 : 55) | - | - |
| 3 |  | (CH ₃) ₂ C=CHCO ₂ H (20) | CHCl ₃ | 36 | 75 (40 : 60) | 23 | 10 |
| 4 |  | H ₂ C=CHCH ₂ CO ₂ H (20) | CHCl ₃ | 36 | 73 (45 : 55) | 22 | 13 |
| 5 |  |  (20) | CHCl ₃ | 36 | 72 (40 : 60) | 26 | 15 |
| 6 |  | Ph(C=O)CO ₂ H (10) | CH ₂ Cl ₂ | 12 | 96 (45 : 55) | 29 | 22 |
| 7 |  | OHCCO ₂ H.H ₂ O (10) | CHCl ₃ | 12 | 58 | - | - |

^a Temps requis pour la disparition complète du complexe à transfert de charge.

^b Déterminé par expérience RMN du proton du brut réactionnel.

Tableau 12. Substitution nucléophile oxydante de **209** par divers acides carboxyliques.¹²³

3.3.2. Détermination des structures

Pour déterminer la configuration du nouveau centre asymétrique créé en position benzylique, nous avons corrélé les déplacements chimiques du nouveau stéréocentre à la configuration. Les signaux de résonance pour le carbone en position benzylique sont plus déblindés pour l'isomère *anti* que pour l'isomère *syn* (Tableau 13). De plus, le déplacement chimique du carbone portant la fonction ester incorporée pour le composé *anti*-**210** (75,8 ppm, pour un mélange 2 : 8 d'isomères *syn* : *anti*)¹²⁵ est en accord avec les résultats décrits par l'équipe de Petrini.^{109e} Le déplacement chimique du carbone benzylique pour *syn*-**210** (77,6 ppm) est plus

¹²⁵ Le déplacement chimique du carbone benzylique a été déterminé du spectre RMN du carbone sur un appareil Bruker DPX-500 (¹H: 500 MHz; ¹³C: 125 MHz) d'un mélange 20 : 80 d'isomères *cis*-**210** : *trans*-**210**.

blindé dans le spectre RMN que pour l'isomère *anti* (entrée 1). Ces observations semblent transposables à l'ensemble de la série de composés synthétisés par S_NOx .

| Entrée | Composé | δ_{C-O} <i>syn</i> (ppm) | δ_{C-O} <i>anti</i> (ppm) |
|--------|------------|---------------------------------|----------------------------------|
| 1 | 210 | 77,6 | 75,8 ^a |
| 2 | 212 | 76,3 | 74,9 |
| 3 | 213 | 77,8 | 75,9 |
| 4 | 214 | 77,5 | 76,0 |
| 5 | 215 | 80,2 | 77,9 |

^a Déterminé d'un mélange 2 : 8 d'isomères *syn/anti*.

Tableau 13. Déplacements chimiques de δ_{C-O} *syn* et δ_{C-O} *anti*

Nous avons aussi noté que le composé **215** présentait les mêmes caractéristiques en terme de déplacements chimiques (δ *syn-215* = 80.2 ppm et δ *anti-215* = 77.9 ppm). Cette hypothèse structurale a été confirmée par l'analyse aux rayons X d'un cristal de *syn-215* (Figure 16).¹²⁶ Nous pouvons observer l'orientation *syn* des substituants dans cette structure aux rayons X de *syn-215*. Les isomères *syn* et *anti* comportent aussi des similitudes en termes de polarité. Dans notre série de composés **210**, **212-215**, l'isomères *syn* est moins polaire que l'*anti* et par conséquent plus aisément séparable du mélange d'isomères.

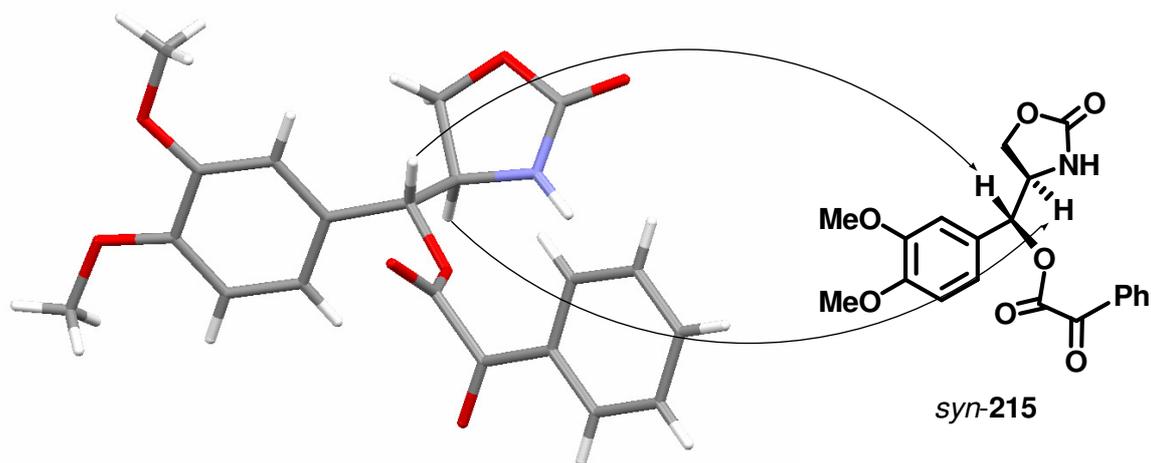


Figure 16. Structure cristalline de *syn-215*.¹²⁶

¹²⁶ Les données cristallographiques ont été déposées au "Cambridge Crystallographic Data Centre" sous la référence CCDC-628764.

3.4. Synthèse de tétrahydroisoquinoléines par substitution nucléophile oxydante

3.4.1. Synthèse par coupure oxydante de doubles liaisons

Concernant la synthèse de tétrahydroisoquinoléines de type **188**, nous avons tout d'abord étudié la modification chimique des oxazolidinones de type **211**, **212**, **214** afin de réaliser une cyclisation intramoléculaire stéréosélective par coupure oxydante de la double liaison permettant de engendrer ainsi la fonction aldéhyde requise pour la cyclisation de Pictet-Spengler (Schéma 49).^{11a,127} Cette séquence réactionnelle permettrait de contrôler la stéréosélectivité de la réaction de Pictet-Spengler intramoléculaire par la formation préalable d'un iminium réactif vis-à-vis de la substitution électrophile aromatique engendrée par le noyau aromatique enrichi.¹²⁸ Une large gamme de conditions réactionnelles a été testée pour obtenir les dérivés glyoxalate **217** ou hydroxyoxazolidinone **218** désiré pour la réaction de Pictet-Spengler.¹²⁹

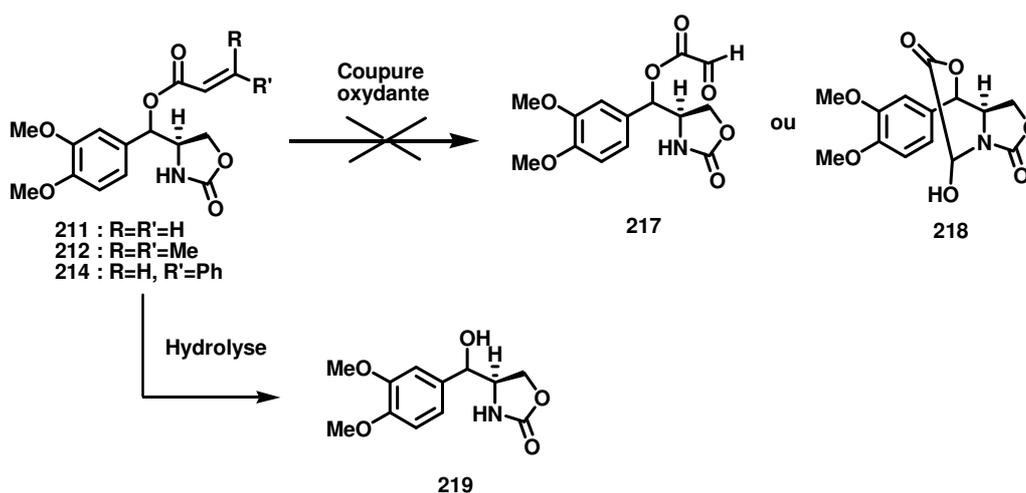


Schéma 49. Coupure oxydante de la double liaison de **211**, **213** et **214**.

En dépit des nombreuses conditions réactionnelles d'ozonolyse testées, en faisant varier le solvant (MeOH, CH₂Cl₂, EtOH), les additifs (NaHCO₃, Na₂CO₃, APTS, Sudan Red 7B) et la température (-78°C à température ambiante), la dégradation ou l'hydrolyse de la fonction

¹²⁷ (a) Kurihara, N.; Mishima, H. *Heterocycles* **1982**, *17*, 191; (b) Kurihara, N.; Mishima, H.; Arai, M. *Heterocycles* **1986**, *24*, 1549. (c) Couturier, C.; Schlama, T.; Zhu, J. *Synlett* **2006**, 1691; (d) Kurihara, N.; Mishima, H. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 3639; (e) Lee, S.-C.; Choi, S. Y.; Chung, Y. K.; Park, S. B. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6843.

¹²⁸ Pour des revues: (a) Speckamp, W. N.; Hiemstra, H. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 4367; (b) Speckamp, W. N.; Moolenaar, H. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 3817; (c) Royer, J. M. Bonin, L. Micouin, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2311-2352.

¹²⁹ (a) Nielsen, T.; Meldal, M. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2695.

ester en l'alcool secondaire **219** correspondant ont été observées.¹³⁰ Cette réaction a aussi été envisagée par coupure oxydante de la double liaison en présence du couple $OsO_4/NaIO_4$,¹³¹ mais ces conditions n'ont pu donner lieu à la formation d'un des deux composés **217** ou **218** attendu, malgré la variation des conditions telles le solvant (THF, MeOH, 1,4-dioxane, H_2O), les additifs (DABCO, 2,6-lutidine)^{129,132} et la température ($-20^\circ C$ à $60^\circ C$). Seule l'hydrolyse de la fonction ester a été observée. Nous avons alors choisi une séquence en deux étapes, utilisant une dihydroxylation de la double liaison avec le couple OsO_4/NMO ,¹³³ puis une coupure oxydante de la double liaison en présence de $NaIO_4$ ou $Pb(OAc)_4$.¹³⁴ L'étape de dihydroxylation se déroule correctement entre 2 et 4 heures selon le substrat. Cependant, l'étape de coupure oxydante s'est avérée une fois encore problématique, conduisant exclusivement à la formation de l'alcool secondaire en position benzylique. Nous avons conclu à l'instabilité de la fonction glyoxalate en position benzylique pour expliquer la dégradation ou bien l'hydrolyse de la fonction ester de nos substrats. Les mêmes conditions réactionnelles ont été appliquées au composé **213** comportant une longueur de chaîne vinylique plus importante. Cependant les mêmes observations ont été remarquées.

3.4.2. Cyclisation intramoléculaire par S_NOx

Pour remédier aux problèmes rencontrés lors des études précédentes, nous avons envisagé de réaliser la réaction de substitution nucléophile oxydante après la synthèse de la tétrahydroisoquinoléine par réaction de Pictet-Spengler. En effet, la cyclisation intramoléculaire par S_NOx par une fonction acide carboxylique de la position benzylique en présence de DDQ pourrait conduire à la formation de la structure tétracyclique de type **222** (Schéma 50).

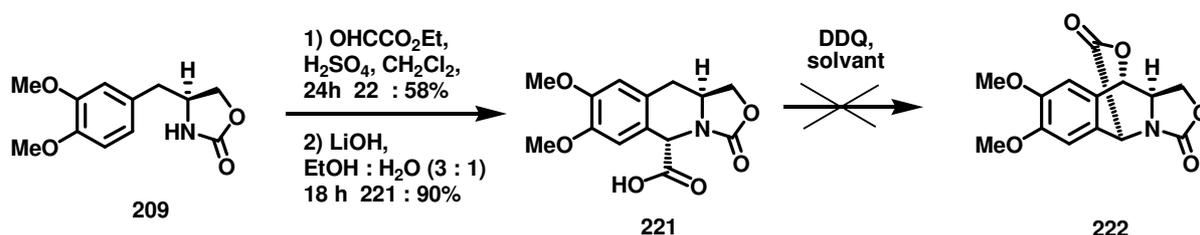


Schéma 50. Cyclisation intramoléculaire par S_NOx .

¹³⁰ Pour une revue: Van Ornum, S. G.; Champeau, R. M.; Pariza, R. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 2990.

¹³¹ Pappo, R.; Allen Jr., D. S.; Lemieux, R. U.; Johnson, W. S. *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 478.

¹³² Yu, W.; Mei, Y.; Kang, Y.; Hua, Z.; Jin, Z. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3217.

¹³³ VanRheenen, V.; Kelly, R. C.; Cha, D. Y. *Tetrahedron Lett.* **1976**, *17*, 1973.

¹³⁴ Rubottom G. M. *Oxidation in Organic Chemistry*, Academic Press, New York, **1982**.

Nous avons tout d'abord réalisé la synthèse de l'intermédiaire **221** en deux étapes. La première fait intervenir une cyclisation de Pictet-Spengler en présence de glyoxalate d'éthyle et d'acide sulfurique (H_2SO_4) dans le CH_2Cl_2 , conduisant à la formation de **220** avec un rendement de 58%. L'ester est ensuite hydrolysé en acide carboxylique **221** en présence de $LiOH.H_2O$ avec un rendement de 90% après 18 heures de réaction. L'acide **221** est ensuite engagé dans une réaction de S_NOx . Nous avons réalisé cette réaction dans différents solvants ($CHCl_3$, CH_2Cl_2 , 1,4-dioxane, MeOH). Cependant **222** s'est montré peu soluble, même au reflux. Seul le produit de départ a pu être récupéré.

3.4.3. Incorporation directe d'une fonction cétone en position benzylique

Ces résultats nous ont amené à revoir notre stratégie en élaborant une méthode de synthèse plus classique. Ceci a été réalisé par l'introduction directe d'une fonction cétone en position benzylique (Schéma 51).

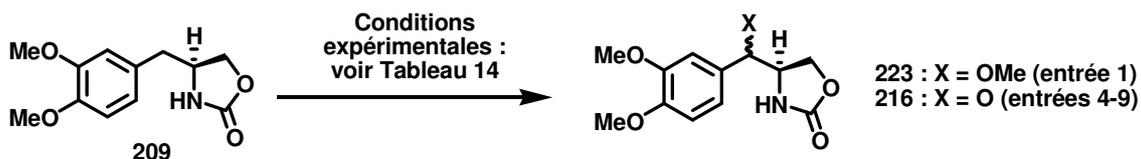


Schéma 51. Oxydation benzylique de **209** en dérivé de type cétone.¹²³

Cette réaction a tout d'abord été effectuée dans des conditions préalablement décrites pour des composés comportant une fonction phénol en *para* de la position benzylique.^{111,112,118} La réaction d'oxydation a été réalisée dans le méthanol en présence de 2,2 équivalents de DDQ. Après 24 heures à 60°C à une concentration de 0,4 mol/L, nous observons la formation de l'éther méthylique **223** correspondant avec un rendement de 26% dans un mélange 4 : 6 de diastéréoisomères *syn/anti*. Le produit de départ est récupéré avec un rendement de 45% (Tableau 14, entrée 1). De plus, lorsque l'oxydation est réalisée dans un mélange MeOH/ H_2O ou THF/ H_2O (9 : 1, entrées 2 et 3), le produit de départ est récupéré. Après avoir fait varier les conditions de la réaction telles que le solvant (CH_2Cl_2 , $CHCl_3$, H_2O , AcOH, HCO_2H), la quantité de DDQ et le temps de réaction (entrées 4-9), les meilleurs résultats sont obtenus dans un mélange HCO_2H/H_2O (8 : 2) avec 2,5 équivalents de DDQ à une concentration de 0,4 mol/L en substrat de départ. Après seulement 3 heures de réaction à 60°C, la cétone **216** désirée est obtenue (entrée 9). Ces conditions semblent confirmer la nécessité d'une activation

en milieu acide pour augmenter la vitesse de réaction de substitution nucléophile oxydante pour ce type de composé.

| Entrée | Solvant ^a | Ratio solvant | DDQ (equiv.) | Temps (h) | Rendement (%) |
|--------|---|---------------|--------------|-----------------|------------------------------|
| 1 | MeOH | 100 : 0 | 2,2 | 24 ^b | 223 : 26 ^c |
| 2 | MeOH/H ₂ O | 90 : 10 | 2,2 | 24 ^b | 216 : - ^f |
| 3 | THF/H ₂ O | 90 : 10 | 2,2 | 24 ^b | 216 : - ^f |
| 4 | CH ₂ Cl ₂ /H ₂ O | 90 : 10 | 2,2 | 24 ^c | 216 : 59 |
| 5 | CHCl ₃ /H ₂ O | 90 : 10 | 2,2 | 16 ^c | 216 : 65 |
| 6 | AcOH/H ₂ O | 90 : 10 | 2,5 | 10 ^d | 216/210 : 51 : 17 |
| 7 | AcOH/H ₂ O | 80 : 20 | 2,5 | 10 ^d | 216/210 : 69 : 5 |
| 8 | HCO ₂ H | 100 : 0 | 2,5 | 10 ^d | 216 : 49 |
| 9 | HCO ₂ H/H ₂ O | 80 : 20 | 2,5 | 3 ^d | 216 : 84 |

^a La concentration en substrat est de 0,4 mol/L.

^b La coloration bleue foncé change au rouge foncé.

^c La coloration bleue foncé change au marron foncé et la DDHQ précipite.

^d La coloration bleue foncé change au rouge pâle et la DDHQ précipite.

^e L'éther méthylique **223** est obtenu avec 26% de rendement dans un mélange 4 : 6 inséparable de diastéréoisomères *syn/anti* et **209** est récupéré avec un rendement de 45%.

^f Le produit de départ **209** est récupéré.

Tableau 14. Conditions d'oxydation benzylique de **209** en cétone **216**.¹²³

3.4.4. Synthèse de dérivés α -amino-alcool fonctionnalisés en position benzylique

Avec cette méthode efficace mise au point pour la préparation de la cétone **216**, nous avons ensuite réalisé la cyclisation de Pictet-Spengler avec le diméthoxyacétate de méthyl au reflux du CH₂Cl₂ en présence de BF₃.Et₂O. Cette réaction a conduit à la formation stéréosélective de la tétrahydroisoquinoléine 1,3-*trans* **224** avec un rendement de 90% (Schéma 52). Le spectre RMN du brut ne révèle pas de traces détectables de l'isomère *cis*. La stéréosélectivité de la cyclisation pourrait s'expliquer par la formation de l'iminium (*E*) **225** le moins encombré (Figure 17).¹³⁵ La fonction cétone du composé **224** est ensuite réduite dans les conditions de Luche en présence de trichlorure de cerium heptahydraté (CeCl₃.7H₂O) dans un mélange MeOH/THF (1 : 3) par le borohydrure de sodium (NaBH₄) pour donner **226** avec un rendement de 92%.¹³⁶

¹³⁵ (a) Katritzky, A. R.; Cobo-Domingo, J.; Yang, B.; Steel, P. J. *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, 23, 255; (b) Koepler, O.; Laschat, S.; Baro, A.; Fischer, P.; Miehl, B.; Hotfilder, M.; le Viseur, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 3611.

¹³⁶ Luche, J.-L. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 2226.



Figure 17. Etat de transition postulé pour l'iminium (E) **225** conduisant à **224**.

Une stéréosélectivité complète est obtenue par attaque des hydrures de la face β de **224**. La stéréochimie de l'alcool secondaire formé a été déterminée par analyse aux rayons X de **226**.¹³⁷ L'attaque des hydrures se déroule par la face la moins encombrée de **224** par l'activation de $CeCl_3$. En effet, la fonction ester en position C-1 semble encombrer la face α du composé et favoriser l'attaque des hydrures par la face β . En l'absence de $CeCl_3$, la réduction n'est pas complète mais la stéréosélectivité reste identique.

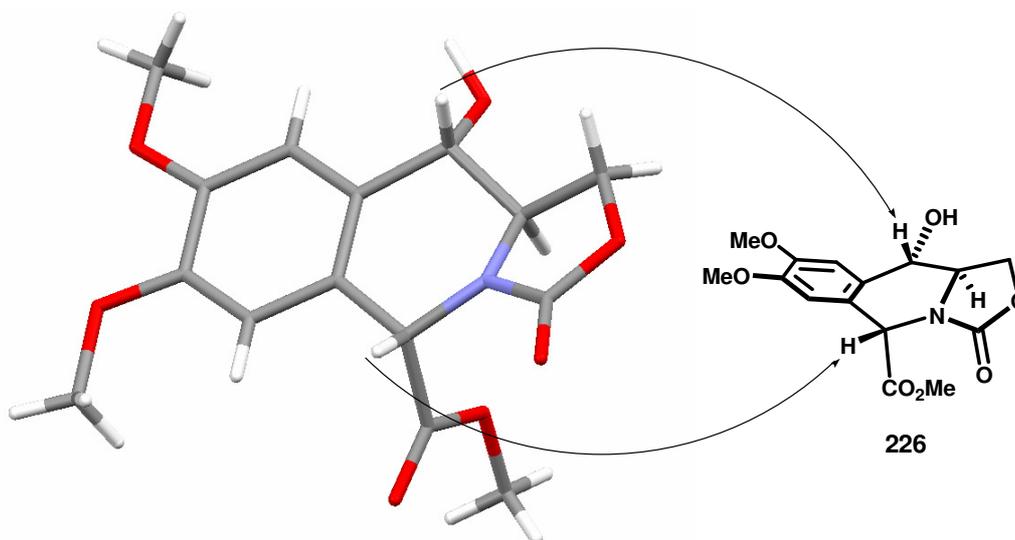


Figure 18. Structure cristalline de **226**.¹³⁷

La fonction alcool secondaire de **226** est ensuite protégée par une fonction tert-butylidiméthylsilyl (TBDMS) dans le DMF en présence d'imidazole donnant l'éther silylé **227** correspondant avec un rendement de 89%.¹³⁸ La réduction de la fonction ester est ensuite réalisée par action du triéthylborohydrure de lithium ($LiBEt_3H$, super hydrure®)¹³⁹ à température ambiante. Ces conditions ont donné les meilleurs résultats en terme de

¹³⁷ Les données cristallographiques ont été déposées au "Cambridge Crystallographic Data Centre" sous la référence CCDC-628658.

¹³⁸ Zhou, X.-M.; Lee, K. J.-H.; Cheng, J.; Wu, S.-S.; Chen, H.-X.; Guo, X.; Cheng, Y.-C.; Lee, K.-H. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 287.

¹³⁹ Brown, H. C.; Krishnamurthy, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 1669.

rendements. Ce dernier est ensuite protégé par le chlorure de méthoxy méthyl (MOMCl) en présence de $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$ dans le CH_2Cl_2 conduisant à **228** avec un rendement de 86% pour deux étapes. De plus, l'ouverture du cycle oxazolidinone par la fonction alcool primaire ainsi formée n'est pas observée. Ceci a été mis en évidence par le spectre HMBC du composé **228** qui montre des signaux de corrélation de type $^3J_{\text{C-H}}$ entre le carbonyl (CO) de la fonction carbamate, les protons CH_2 du cycle de l'oxazolidinone et le proton H-3 en α de l'azote (Figure 19).

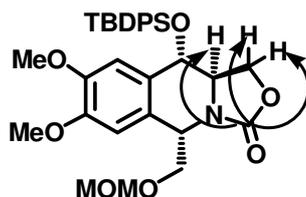


Figure 19. Corrélation $^3J_{\text{C-H}}$ de type HMBC pour le composé **228**.

L'alcool **226** a aussi été protégé par réaction avec le chlorure d'éthoxy méthyl (EOMCl) en présence de $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$ dans le CH_2Cl_2 à reflux pour obtenir **229** avec un rendement de 91%. La fonction ester est ensuite réduite dans les mêmes conditions que précédemment décrites par LiEt_3H et la fonction alcool immédiatement protégée par un groupement EOM dans des conditions identiques à celles décrites pour **228**. Le composé diprotégé **230** est donc obtenu avec un rendement de 88% pour deux étapes.

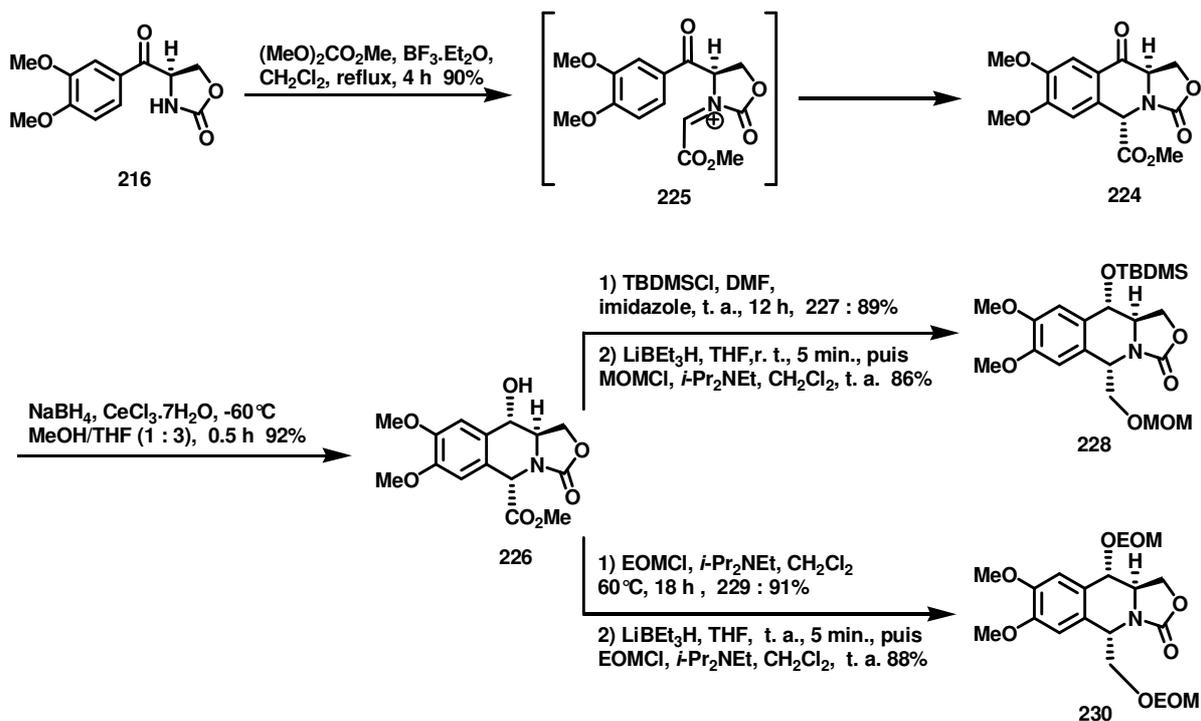


Schéma 52. Synthèse des diols diprotégés **228** et **230**.¹²³

La déprotection de la fonction oxazolidinone de **228** et **230** est ensuite envisagée par une méthode, déjà décrite, utilisant une solution d'hydroxyde de sodium 2N (NaOH) dans l'éthanol durant 48 heures (Schéma 53).¹⁴⁰ Cette réaction a conduit à l' α -amino-alcool **231** avec un rendement de 65% par simple filtration après traitement du brut réactionnel. Au cours de cette hydrolyse, nous observons également la coupure de la fonction éther silylé. Dans les mêmes conditions de réaction, nous obtenons, après déprotection de **230**, l' α -amino-alcool **232** correspondant avec un rendement de 79%.

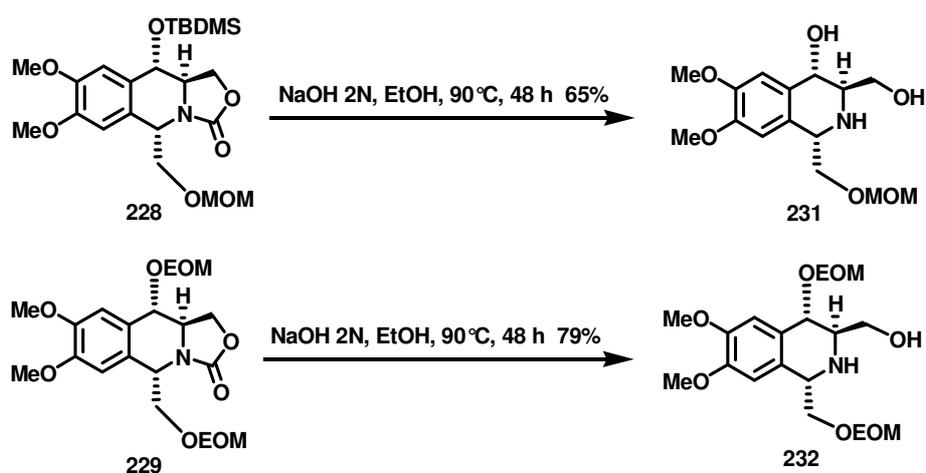


Schéma 53. Synthèse des α -amino-alcools **231** et **232**.¹²³

Cette séquence réactionnelle permet d'aboutir aux α -amino-alcools substitués en position benzylique recherchés. Ces précurseurs constituent un point de départ à la construction des systèmes de type pipérazine contenus dans la famille des ecteinascidines.

3.4.5. Introduction d'un dérivé soufré en position benzylique par S_N

Afin de valider cette nouvelle stratégie de synthèse de composés substitués en position benzylique, nous avons réalisé une réaction de substitution nucléophile de la position benzylique par le thioglycolate de méthyl ($HSC_2H_4CO_2Me$). Dans les conditions développées par l'équipe de Zhu (CF_3CO_2H /toluène = 1 : 1, 0,03M), cette réaction permet d'accéder aux

¹⁴⁰ a) M. Katoh, H. Inoue, A. Suzuki, T. Honda, *Synlett* **2005**, 2820-2822; b) M. Katoh, H. Inoue, A. Suzuki, T. Honda, *Heterocycles* **2007**, 72, 497.

diastéréoisomères **233a** et **233b** avec un rendement de 92% et un ratio diastéréoisomérique 90 : 10 (Schéma 54).¹⁴¹

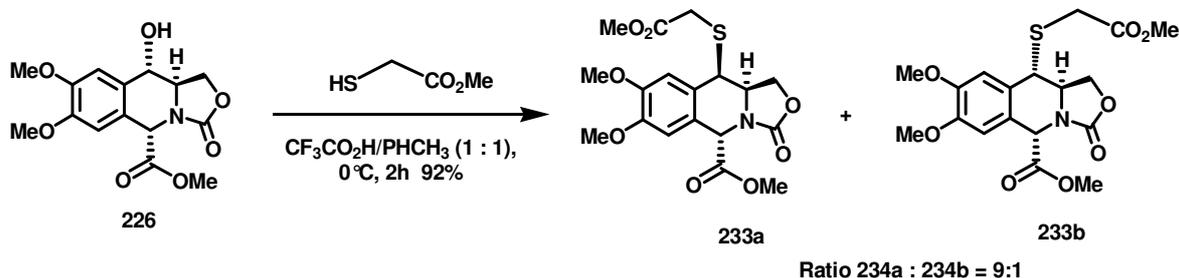


Schéma 54. Synthèse des composés soufrés **233a** et **233b**.¹²³

La stéréosélectivité de la réaction de substitution nucléophile peut s'expliquer aussi bien par un mécanisme de type S_N1 que de S_N2 .¹⁴² Une compétition entre ces deux mécanismes pourrait être à l'origine de la sélectivité. Cependant, dans le cas d'un mécanisme de type S_N1 , la substitution peut s'expliquer par la formation du carbocation **234** ou de son équivalent sous sa forme *para*-quinone méthide **235** (Figure 20).

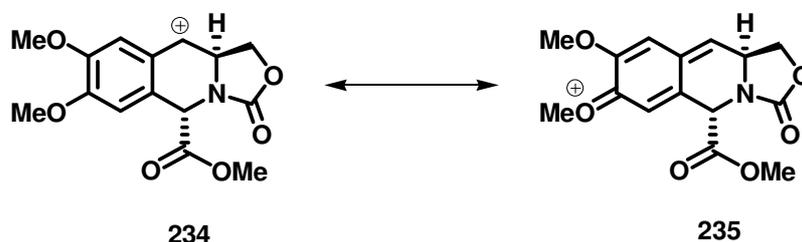


Figure 20. Formes équivalentes carbocation/*para*-quinone méthide.

La stéréochimie de **233a** a été déterminée par analyses aux rayons X (Figure 21).¹⁴³ La stéréosélectivité de la substitution semble influencée par l'encombrement stérique imposé par

¹⁴¹ De Paolis, M.; Blankenstein, J.; Bois-Choussy, M.; Zhu, J. *Org. Lett.* **2002**, 4, 1235.

¹⁴² (a) Hashiyama, T.; Inoue, H.; Takeda, M.; Aoe, K.; Kotera, K. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1985**, 421; (b) Showalter, H. D. H.; Winters, R. T.; Sercel, A. D.; Michel, A. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 2849; (c) Elomri, A.; Mitaku, S.; Michel, S.; Skaltsounis, A. L.; Tillequin, F.; Koch, M.; Pierre, A.; Guilbaud, N.; Léonce, S.; Kraus-Berthier, L.; Rolland, Y.; Atassi, G. *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 4762.

¹⁴³ Les données cristallographiques ont été déposées au "Cambridge Crystallographic Data Centre" sous la référence CCDC-641202.

la fonction ester localisée en position C-1. Par conséquent, le thioglycolate de méthyl attaque la face β la moins encombrée.

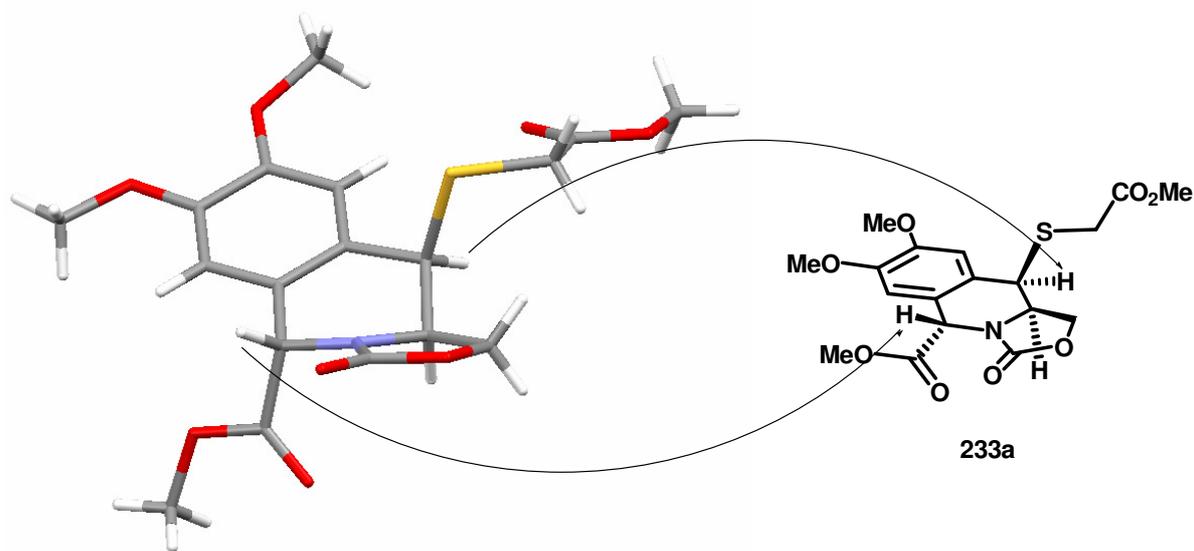


Figure 21. Structure aux rayons X de **233a**.¹⁴³

3.4.6. Tentative d'épimérisation de la position C-1

Afin d'induire la stéréochimie requise en position C-1, nous avons réalisé plusieurs expériences afin d'inverser la configuration de ce centre asymétrique. Pour cela, nous nous sommes inspirés de travaux précédemment décrits par les équipes de Zhu^{11d,g} et Williams.^{14e,44a,c}

Dans un premier temps, la protection de la fonction cétone par le 1,2-éthanediol a été envisagée à partir de **224** dans le benzène en présence d'APTS par entraînement azéotropique afin d'obtenir le composé **236** avec un rendement de 85%. Ensuite, différentes conditions réactionnelles ont été appliquées à l'épimérisation de **236**. Tout d'abord, l'utilisation de DBU (de 0,1 à 2 équivalents) dans le THF à température ambiante ou à reflux a été réalisée. Cependant, seules l'absence de réaction ou la dégradation du produit de départ ont été observées. Nous avons ensuite tenté de réaliser cette réaction avec des agents de déprotonation plus puissants tels que le *n*-butyl lithium (*n*-BuLi) ou le di-*iso*-propyl amidure de lithium (LDA) dans le THF à -78°C et en faisant varier les conditions de traitement et de remontée en température. Néanmoins, dans ce cas aussi, seule la dégradation de **236** est observée.

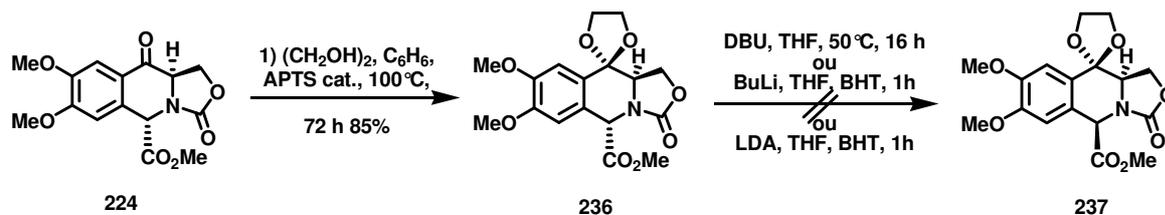


Schéma 55. Tentatives d'épimérisation de **236** en **237**.

Cette réaction d'épimérisation a aussi été tentée dans les conditions préalablement décrites (DBU, 0,1 à 2 équivalents, température ambiante ou reflux) à partir des alcools secondaires protégés **227** et **229**, mais sans succès, conduisant uniquement à la dégradation du composé de départ. La déprotection de l'oxazolidinone et la fonctionnalisation de l'amine secondaire par un groupement protecteur adéquat pour l'épimérisation de la position C-1 semblerait être une solution aux vues des travaux de l'équipe de Zhu pour réaliser cette inversion de configuration.^{11d,g}

3.4.7. Conclusion

En conclusion, la réaction de substitution nucléophile oxydante nous a permis d'établir une nouvelle voie d'accès aux tétrahydroisoquinoléines de type α -amino-alcool substituées en position benzylique. En présence de DDQ, cette réaction a permis la synthèse de plusieurs analogues **210-215** de la substance naturelle syncarpamide **183** mais aussi de dérivés de l'azapodophylotoxine **184**. L'obtention d'un composé incorporant une fonction cétone **216** a aussi été efficacement mise au point par activation acide. A partir de **216**, nous avons élaboré une séquence synthétique qui nous a conduits à l'obtention de précurseurs α -amino-alcools utilisables pour la synthèse d'analogues de l'Et 743. Notre séquence synthétique permet de se démarquer par un large domaine d'application et par la possibilité d'introduire diverses fonctions (ester, alcool, amine, azide) par rapport aux nombreuses stratégies envisagées jusqu'à présent.^{11,12,41,44,47,49-51,144}

¹⁴⁴ (a) Chen, X.; Chen, J.; Bois-Choussy, M.; Zhu, J. *Synthesis* **2006**, 4081; (b) Rondot, C.; Retailleau, P.; Zhu, J. *Org. Lett.* **2007**, 9, 247.

3.5. Experimental section of chapter 3

(S)-methyl 2-amino-3-(3,4-dihydroxyphenyl)propanoate hydrochloride 184 :¹⁴⁵ To L-DOPA **142** (10 g, 0.0507 mol) in dry MeOH (500 mL) stirred at 0 °C was slowly added SOCl₂ (12 g, 0.101 mol) during 1 hour. The solution was then refluxed over a period of 24 hours before cooled and coevaporated with toluene (100 mL) giving amine chlorhydrate **184** in 99% yield (12.55 g,) as a white solid, m.p. 174-175 °C (MeOH/CH₂Cl₂) (lit. m.p. 172-174 °C, ^{145a} lit. m.p. 170-171 °C, ^{145b} lit. m.p. 170.5-171.5 °C^{145c}), $[\alpha]_D^{23} = +7.9$ (MeOH, c = 1) (lit. $[\alpha]_D^{22} = +14.7$ (MeOH, c = 12.5)^{145c}). ¹H NMR (D₂O, 300MHz) $\delta = 6.78$ (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 5-H), 6.78 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, 2-H), 6.68 (dd, $J = 1.8, 8.1$ Hz, 1H, 6-H), 4.35 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H, CH₂CHN), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.18 (dd, $J = 6.3, 14.6$ Hz, 1H, CH_AH_BCHN), 3.06 (dd, $J = 7.7, 14.6$ Hz, 1H, CH_AH_BCHN) ppm. ¹³C NMR (D₂O, 75 MHz) $\delta = 170.6$ (C=O), 144.8 (ArC), 144.2 (ArC), 126.6 (ArC), 122.3 (ArCH), 117.4 (ArCH), 117.1 (ArCH), 54.8 (CH), 54.0 (OCH₃), 35.4 (CH₂) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 212 ([M+H]⁺, 100). Anal. Calcd. for C₁₀H₁₄NO₄Cl C, 48.49; H, 5.70; N, 5.66, found C, 48.24; H, 5.42; N, 5.36.

(S)-methyl 2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)propanoate 206 :^{145a,146} To ester **184** (12.5 g, 0.0505 mol) in methanol (275 mL) were added NEt₃ (0.0510 mol, 7.15 mL) and di-*tert*-butyl dicarbonate (11.1 g, 0.0510 mol) at room temperature. The solution was then stirred during 2 hours. After completion (monitored by TLC, *n*-heptane/AcOEt = 5 : 5), the solvent was evaporated and the residue was acidified with 1 N hydrochloric acid (50 mL) at 0 °C. The solution was then extracted with ethyl acetate (3 × 50 mL) and the organic layer was dried over MgSO₄ and evaporated. The crude product was purified by flash chromatography (silica gel, *n*-heptane/AcOEt = 5 : 5) giving **206** in 92% yield (14.1 g) as a white solid, m.p. 134-135 °C (MeOH) (lit. m.p. 133-135 °C, ^{145a} lit. m.p. 140-141 °C (MeOH/H₂O), ^{146a} lit. m.p. 135 °C^{146b}), $R_f = 0.3$ (*n*-heptane : AcOEt = 5 : 5), $[\alpha]_D^{23} = +6.9$ (MeOH, c = 1) (lit. $[\alpha]_D^{26} = +7.6$, (MeOH, c = 1.2), ^{133a} lit. $[\alpha]_D^{25} = +7$ (MeOH, c = 1)^{146b}). ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) $\delta = 6.75$ (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 5-H), 6.66 (br s, 1H, 2-H), 6.50 (d, $J = 1.8, 8.1$ Hz, 1H, 6-H), 5.08 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, NH), 4.53 (m, 1H, CH₂CHN), 3.72 (s, 3H, CO₂CH₃), 2.99 (dd, $J = 5.6, 13.9$ Hz, 1H, CH_AH_BCHN), 2.90 (dd, $J = 6.5, 13.9$

¹⁴⁵ (a) Banerjee, S. N.; Ressler, C. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 3056. (b) Vogler, K.; Baumgartner, H. *Helv. Chim. Acta* **1952**, *35*, 1776. (c) Bodor, N.; Sloan, K. D.; Higuchi, T.; Sasahara, K. *J. Med. Chem.* **1977**, *20*, 1435.

¹⁴⁶ (a) Rudd, E. A.; Cunningham, W. C.; Thanassi, J. W. *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 233. (b) Gaucher, A.; Dutot, L.; Barbeau, O.; Hamchaoui, W.; Wakselman, M.; Mazaleyrat, J. -P. *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 857.

Hz, 1H, CH_AH_BCHN), 1.41 (s, 9H, $O(CH_3)_3$) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ = 172.9 (C=O), 155.6 (NC=O), 144.0 (ArC), 143.1 (ArC), 128.1 (ArC), 121.4 (ArCH), 116.1 (ArCH), 115.4 (ArCH), 80.6 (C), 54.7 (CH), 52.4 (OCH_3), 37.6 (CH_2), 28.2 (3 CH_3) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 334 ($[M+Na]^+$, 100), 312 ($[M+H]^+$, 28), 256 ($[M+H - C_4H_8]^+$, 40), 212 ($[M+H - CO_2C_4H_8]^+$, 36). Anal. Calcd. for $C_{15}H_{21}NO_6 \cdot 0.2 H_2O$ C, 57.21; H, 6.74; N, 4.45, found C, 57.18; H, 6.96; N, 4.12.

(S)-methyl 2-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)propanoate 207 :¹⁴⁷

To a stirred solution of dimethylformamide (100 mL) and K_2CO_3 (55.9 g, 0.405 mol) were added **206** (14 g, 0.045 mol) and methyl iodide (27.5 g, 0.202 mol). The mixture was then stirred for 24 hours. Monitoring by TLC (*n*-heptane/AcOEt = 7 : 3) indicated the disappearance of starting material. The mixture was then filtered, extracted with diethyl oxide (3 \times 60 mL) and washed twice with 1 N HCl (20 mL). The organic layer was then dried over $MgSO_4$, filtered, evaporated and purified on flash chromatography (silica gel, *n*-heptane/AcOEt = 9 : 1 \rightarrow 7 : 3) giving **207** in 89% yield (13.6 g) as a white solid, m.p. 77-78 $^\circ C$ (*n*-heptane/AcOEt) (lit. m.p. 58-60 $^\circ C$ (*n*-pentane)¹⁴⁷), R_f = 0.4 (*n*-heptane/AcOEt = 1 : 1), $[\alpha]_D^{23}$ = +6.0 (MeOH, c = 1) (lit. $[\alpha]_D^{26}$ = +66, (CH_2Cl_2 , c = 1)¹⁴⁷). 1H NMR ($CDCl_3$, 300MHz) δ = 6.72 (d, J = 7.9 Hz, 1H, 5-H), 6.56 (m, 2H, 6-H and 2-H), 4.98 (br s, 1H, NH), 4.47 (dd, J = 6, 13.7 Hz, 1H, CH_2CHN), 3.78 (s, 6H, 3- OCH_3 , CO_2CH_3), 3.64 (s, 3H, 4- OCH_3), 2.94 (m, 1H, CH_AH_BCHN), 2.93 (t, J = 6.0 Hz, 1H, CH_AH_BCHN), 1.34 (s, 9H, $O(CH_3)_3$) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ = 172.8 (C=O), 155.4 (NC=O), 149.2 (ArC), 148.4 (ArC), 128.8 (ArC), 121.7 (ArCH), 112.7 (ArCH), 111.6 (ArCH), 80.2 (C), 56.2 (OCH_3), 56.1 (OCH_3), 54.8 (CH), 52.6 (OCH_3), 38.2 (CH_2), 28.7 (3 CH_3) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 362 ($[M+Na]^+$, 100), 284 ($[M+H - C_4H_8]^+$, 22), 240 ($[M+H - CO_2C_4H_8]^+$, 29). Anal. Calcd. for $C_{17}H_{25}NO_6$ C, 60.16; H, 7.42; N, 4.13, found C, 59.84; H, 7.32; N, 4.11.

(S)-tert-butyl 1-(3,4-dimethoxyphenyl)-3-hydroxypropan-2-ylcarbamate 208 :^{147,148}

To a stirred solution of ester **207** (13 g, 0.0383 mol) in a 1 : 2 solution of MeOH : THF (200 mL) was added $LiBH_4$ (1.67 g, 0.0767 mol) at 0 $^\circ C$. The reaction progress was then controlled by TLC (*n*-heptane/AcOEt = 5 : 5) until disappearance of starting material. After 2 hours of stirring, the solution was diluted with CH_2Cl_2 and acidified with 1 N HCl (50 mL) and H_2O

¹⁴⁷ García, E.; Arrasate, S.; Ardeo, A.; Lete, E.; Sotomayor, N. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 10368.

¹⁴⁸ R. D. Clark, J. Berger, C.-H. Lee, J. M. Muchowski, *Heterocycles* **1987**, 26, 1291-1302.

(50 mL) at 0 °C. The organic layer was separated and the aqueous phase extracted with CH_2Cl_2 (2 × 50 mL). The organic layer was then dried over $MgSO_4$, filtered, evaporated and purified on flash chromatography (silica gel, *n*-heptane/AcOEt = 8 : 2 → 5 : 5) giving **208** in 92% yield (10.9 g) as a white solid, m.p. 91-92 °C (*n*-heptane/AcOEt), (lit. m.p. 65-67 °C (*n*-pentane),¹⁴⁷ lit. m.p. 92-93 °C¹⁴⁸), R_f = 0.2 (*n*-heptane/AcOEt = 1 : 1), $[\alpha]_D^{23}$ = -19.6 (MeOH, c = 0.3) (lit. $[\alpha]_D^{26}$ = -26.7 (CH_2Cl_2 , c = 1),¹⁴⁷ lit. $[\alpha]_D^{25}$ = -19.6 (c 0.3, MeOH)¹⁴⁸). 1H NMR ($CDCl_3$, 300MHz) δ = 6.56 (m, 3H, 2-H, 5-H and 6-H, ArH), 4.87 (br s, 1H, NH), 4.47 (dd, J = 6, 13.7 Hz, 1H, CH_2CHN), 3.86 (s, 3H, 3-OCH₃), 3.85 (s, 3H, 4-OCH₃), 3.83 (m, 1H, CH_2CHN), 3.56 (dd, J = 2.9, 11.0 Hz, 1H, CH_AH_BOH), 2.94 (dd, J = 5.8, 11.0 Hz, 1H, CH_AH_BOH), 2.78 (m, 1H, CH_AH_BCHN and CH_AH_BCHN), 2.63 (br s, 1H, OH), 1.41 (s, 9H, $O(CH_3)_3$) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ = 156.6 (NC=O), 149.3 (ArC), 148.1 (ArC), 130.7 (ArC), 121.7 (ArCH), 112.8 (ArCH), 111.7 (ArCH), 80.1 (C), 64.6 (CH), 56.3 (OCH₃), 56.2 (OCH₃), 54.0 (CH), 37.6 (CH₂), 28.8 (3CH₃) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 334 ($[M+Na]^+$, 100), 212 ($[M+H]^+$, 6), 256 ($[M+H-C_4H_8]^+$, 17), 212 ($[M+H - CO_2C_4H_8]^+$, 38). Anal. Calcd. for $C_{16}H_{25}NO_5$ C, 61.72; H, 8.09; N, 4.50, found C, 61.54; H, 8.21; N, 4.29.

(S)-4-(3,4-dimethoxybenzyl)oxazolidin-2-one 209 :¹⁴⁹ To alcohol **208** (10.5 g, 0.0337 mol) contained in dry THF (230 mL) stirred at 0 °C was slowly added $SOCl_2$ (16.05 g, 0.135 mol). The resulting solution was stirred at room temperature for 4 hours. Then, the solution was diluted with CH_2Cl_2 (200 mL), washed with a saturated $NaHCO_3$ solution (3 × 150 mL) and brine (100 mL), dried over $MgSO_4$ and filtered. The crude product was purified on flash chromatography (silica gel, *n*-heptane/AcOEt = 6 : 4 → 5 : 5) giving **209** in 81% yield (6.47 g,) as a white solid, m.p. 92-93 °C (AcOEt), R_f = 0.4 (AcOEt), $[\alpha]_D^{23}$ = -51.6 (CH_2Cl_2 , c = 1), Chiralcel OJ-H, 25×0.4 id., Daicel; Retention time = 40.19 min., eluent: *n*-heptane/EtOH (60:40) isocratic conditions, flow 0.5 mL/min., UV 280 nm. 1H NMR ($CDCl_3$, 300MHz) δ = 6.78 (d, J = 8.0 Hz, 1H, 5-H), 6.78 (d, J = 1.9 Hz, 1H, 2-H), 6.68 (dd, J = 1.9, 8.0 Hz, 1H, 6-H), 5.65 (br s, 1H, NH), 4.44 (t, J = 8.2 Hz, 1H, CH_2CHN), 4.13 (m, 1H, $CHCH_AH_BO$), 4.05 (m, 1H, $CHCH_AH_BO$), 3.87 (s, 3H, 3-OCH₃), 3.86 (s, 3H, 4-OCH₃), 3.06 (d, J = 6.8 Hz, 2H, CH_AH_BCHN and CH_AH_BCHN) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ = 160.3 (NC=O), 149.5 (ArC), 148.5 (ArC), 128.9 (ArC), 121.5 (ArCH), 112.6 (ArCH), 111.9 (ArCH), 69.9 (CH₂),

¹⁴⁹ Humber, D. C. ; Cammack, N. C. ; Coates, J. A. V. ; Orr, D. C. ; Storer, R. ; Weingarten, G. G. ; Weir, M. P. *J. Med. Chem.* **1992**, 5, 3081.

56.3 (2OCH₃), 54.2 (CH), 41.2 (CH₂) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 238 ([M+H]⁺, 100). Anal. Calcd. for C₁₂H₁₅NO₄ C, 60.75; H, 6.37; N, 5.90, found C, 60.41; H, 6.38; N, 5.85.

(R)-(3,4-dimethoxyphenyl)((R)-2-oxooxazolidin-4-yl)methyl acetate *syn*-210 and **(S)-(3,4-dimethoxyphenyl)((R)-2-oxooxazolidin-4-yl)methyl acetate *anti*-210** : To a suspension of **209** (0.25 g, 1.05 mmol) in AcOH (2.6 mL), was added DDQ (0.479 g, 2.11 mmol) and stirred at 60 °C for 24 hours. After filtration of the precipitate, the solution was diluted with CH₂Cl₂ (20 mL), washed with a saturated NaHCO₃ solution (2 × 15 mL) and brine (10 mL), dried over MgSO₄ and filtered. The crude product was concentrated and purified on flash chromatography (silica gel, cyclohexane/AcOEt = 7 : 3 → 5 : 5) giving *syn*-**210** and *anti*-**210** in 82% yield (0.255 g) and as a 45:55 mixture of *syn/anti* diastereoisomers. The less polar diastereoisomer *syn*-**210** was separated in 26% yield (0.076 g) as a white solid, m.p. 160-161 °C (*n*-heptane : AcOEt), R_f = 0.6 (AcOEt), $[\alpha]_D^{23}$ = -54.4 (CH₂Cl₂, *c* = 0.8). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) δ = 6.97 (br s, 1H, NH), 6.91 (d, J = 8.2 Hz, 1H, 6-H), 6.83 (m, 2H, 2-H and 5-H), 5.62 (d, J = 7.1 Hz, 1H, CHOCOCH₃), 4.20 (m, 2H, CHCH_AH_BO and OCH₂CHN), 4.03 (m, 1H, CHCH_AH_BO), 3.87 (s, 3H, 3-OCH₃), 3.84 (s, 3H, 4-OCH₃), 2.10 (s, 3H, CH₃CO) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ = 170.5 (OC=O), 160.2 (NC=O), 150.1 (ArC), 149.7 (ArC), 128.3 (ArC), 120.3 (ArCH), 111.7 (ArCH), 110.6 (ArCH), 77.6 (CH), 66.7 (CH₂), 56.5 (CH), 56.4 (OCH₃), 56.3 (OCH₃), 21.4 (CH₃CO) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 318 ([M+Na]⁺, 92), 296 ([M+H]⁺, 35), 236 ([M+H - CH₃CO₂H]⁺, 100). Anal. Calcd. for C₁₄H₁₇NO₆ C, 56.94; H, 5.80; N, 4.74, found C, 56.55; H, 6.09; N, 4.37.

(R)-(3,4-dimethoxyphenyl)((R)-2-oxooxazolidin-4-yl)methyl acrylate *cis*-211 and **(S)-(3,4-dimethoxyphenyl)((R)-2-oxooxazolidin-4-yl)methyl acrylate *anti*-211** : A suspension of **209** (0.25 g, 1.05 mmol) in acrylic acid (2.6 mL) and DDQ (0.479 g, 2.11 mmol) was stirred at 60 °C for 24 hours. After filtration of the precipitate, the solution was diluted with CH₂Cl₂ (20 mL), washed with a saturated NaHCO₃ solution (2 × 15 mL) and brine (10 mL), dried over MgSO₄ and filtered. The crude product was concentrated and purified on flash chromatography (silica gel, *n*-heptane/AcOEt = 7 : 3 → 5 : 5) giving *syn*-**211** and *anti*-**211** in 94% yield (0.304 g) as a colourless oil and as an inseparable 45 : 55 mixture of *syn/anti* diastereoisomers. ESI-MS: m/z (%) = 330 ([M+Na]⁺, 22), 308 ([M+H]⁺, 19), 236 ([M+H - CH₂CHCO₂H]⁺, 100). Anal. Calcd. for C₁₅H₁₇NO₆ C, 58.63; H, 5.58; N, 4.56, found C, 58.22; H, 5.74; N, 4.18.

(R)-(3,4-dimethoxyphenyl)((R)-2-oxooxazolidin-4-yl)methyl 3-methylbut-2-enoate *syn-212* and **(S)-(3,4-dimethoxyphenyl)((R)-2-oxooxazolidin-4-yl)methyl 3-methylbut-2-enoate** *anti-212* : To a solution of **209** (0.25 g, 1.05 mmol) and 3,3-dimethylacrylic acid (2.11 g, 21.10 mmol) suspended in $CHCl_3$ (2.6 mL) was added DDQ (0.479 g, 2.11 mmol). The resulting deep blue mixture was stirred at 60 °C for 36 hours. After filtration of the precipitate, the solution was diluted with CH_2Cl_2 (20 mL), washed with a saturated $NaHCO_3$ solution (2 × 15 mL) and brine (10 mL), dried over $MgSO_4$ and filtered. The crude product was concentrated and purified on flash chromatography (silica gel, *n*-heptane/AcOEt = 8 : 2 → 6 : 4) giving *syn-212* (23%, 0.081 g) and *anti-212* (10%, 0.035 g) as white solids in 75% overall yield (0.265 g) as a 40 : 60 mixture of *syn/anti* diastereoisomers. Data for compound *syn-212* : m.p. 70-71°C (AcOEt), $R_f = 0.7$ (AcOEt), $[\alpha]_D^{23} = -56.3$ (CH_2Cl_2 , $c = 0.65$). 1H NMR ($CDCl_3$, 500MHz) $\delta = 6.90$ (dd, $J = 1.9, 8.2$ Hz, 1H, 6-H), 6.84 (m, 2H, 2-H and 5-H), 6.23 (br s, 1H, NH), 5.74 (m, 1H, $(CH_3)_2CCHCO_2$), 5.61 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, $CHOCOCHC(CH_3)_2$), 4.22 (dd, $J = 8.5, 16.9$ Hz, 1H, $CHCH_AH_BO$), 4.18 (m, 1H, OCH_2CHN), 4.08 (dd, $J = 4.7, 16.9$ Hz, 1H, $CHCH_AH_BO$), 3.84 (s, 3H, 3-OCH₃), 3.82 (s, 3H, 4-OCH₃), 2.07 (d, $J = 1.0$ Hz, 3H, CH_3), 1.85 (d, $J = 1.0$ Hz, 3H, CH_3) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) $\delta = 165.6$ (OC=O), 159.7 (NC=O), 159.7 ($C(CH_3)_2$), 149.9 (ArC), 149.7 (ArC), 128.8 (ArC), 119.9 (ArCH), 115.5 ($(CH_3)_2CCHCO_2$), 111.8 (ArCH), 110.3 (ArCH), 76.3 (CH), 66.7 (CH_2), 56.6 (CH), 56.4 (OCH₃), 56.3 (OCH₃), 27.9 (CH_3), 20.8 (CH_3) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 358 ($[M+Na]^+$, 100), 236 ($[M+H - (CH_3)_2CCHCO_2H]^+$, 28). Anal. Calcd. for $C_{17}H_{21}NO_6$ (335.35) C, 60.89; H, 6.31; N, 4.18, found C, 60.81; H, 6.61; N, 3.90. Data for compound *anti-212* : m.p. 64-65°C (AcOEt), $R_f = 0.6$ (AcOEt), $[\alpha]_D^{23} = +16.2$ (CH_2Cl_2 , $c = 0.4$). 1H NMR (500MHz, $CDCl_3$, 23 °C) $\delta = 6.93$ (dd, $J = 1.9, 8.2$ Hz, 1H, 6-H), 6.87 (m, 2H, 2-H and 5-H), 5.77 (br s, 1H, $(CH_3)_2CCHCO_2$), 5.73 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, $CHOCOCHC(CH_3)_2$), 5.02 (br s, 1H, NH), 4.46 (t, $J = 8.8$ Hz, 1H, $CHCH_AH_BO$), 4.35 (dd, $J = 5, 9.1$ Hz, 1H, $CHCH_AH_BO$), 4.19 (m, 1H, OCH_2CHN), 3.91 (s, 3H, 3-OCH₃), 3.89 (s, 3H, 4-OCH₃), 2.17 (d, $J = 0.8$ Hz, 3H, CH_3), 1.94 (d, $J = 0.8$ Hz, 3H, CH_3) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) $\delta = 165.5$ (OC=O), 160.2 (NC=O), 159.0 ($C(CH_3)_2$), 149.9 (ArC), 149.8 (ArC), 128.9 (ArC), 119.8 (ArCH), 115.3 ($(CH_3)_2CCHCO_2$), 111.8 (ArCH), 110.1 (ArCH), 74.9 (CH), 67.4 (CH_2), 56.5 (CH), 56.4 (OCH₃), 56.4 (OCH₃), 28.0 (CH_3), 20.9 (CH_3) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 358 ($[M+Na]^+$, 100), 236 ($[M+H - (CH_3)_2CCHCO_2H]^+$, 25). Anal. Calcd. for $C_{17}H_{21}NO_6$ C, 60.89, H, 6.31, N, 4.18; found: C, 60.78, H, 6.60, N, 3.90.

(R)-(3,4-dimethoxyphenyl)((**R**)-2-oxooxazolidin-4-yl)methyl but-3-enoate *syn*-**213** and **(S)**-(3,4-dimethoxyphenyl)((**R**)-2-oxooxazolidin-4-yl)methyl but-3-enoate *anti*-**213**. A suspension of **209** (0.25 g, 1.05 mmol), but-3-enoic acid (1.82 g, 1.80 mL, 21.1 mmol) and DDQ (0.479 g, 2.11 mmol) in $CHCl_3$ (0.86 mL) was stirred at 60 °C for 36 hours. After filtration of the precipitate, the solution was diluted with CH_2Cl_2 (20 mL), washed with a saturated $NaHCO_3$ solution (2×15 mL) and brine (10 mL), dried over $MgSO_4$ and filtered. The crude product was concentrated and purified on flash chromatography (silica gel, *n*-heptane/ $AcOEt = 8 : 2 \rightarrow 6 : 4$) giving *syn*-**213** (22%, 0.075 g) and *anti*-**213** (13%, 0.044 g) as white solids in 73% overall yield (0.247 g) and as a 45 : 55 mixture of *syn/anti* diastereoisomers. Data for compound *syn*-**213** : m.p. 50-51°C (CH_2Cl_2), $R_f = 0.7$ ($AcOEt$), $[\alpha]_D^{23} = -63.4$ (CH_2Cl_2 , $c = 0.5$). 1H NMR ($CDCl_3$, 500MHz) $\delta = 6.90$ (dd, $J = 1.9, 8.2$ Hz, 1H, 6-H), 6.84 (m, 3H, 2-H, 5-H and NH), 5.89 (m, 1H, $COCH_2CHCH_2$), 5.64 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, $CHOCOCH_3$), 5.16 (br s, 1H, $COCH_2CHCH_AH_B$), 5.13 (dd, $J = 1.2, 5.3$ Hz, 1H, $COCH_2CHCH_AH_B$), 4.21 (m, 2H, $CHCH_AH_BO$ and OCH_2CHN), 4.05 (m, 1H, $CHCH_AH_BO$), 3.87 (s, 3H, 3- OCH_3), 3.86 (s, 3H, 4- OCH_3), 3.14 (dd, $J = 7.0, 16.7$ Hz, 1H, $COCH_AH_BCHCH_2$), 3.14 (dd, $J = 7.0, 16.7$ Hz, 1H, $COCH_AH_BCHCH_2$) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) $\delta = 171.0$ ($OC=O$), 160.2 ($NC=O$), 150.1 (ArC), 149.8 (ArC), 130.2 (CH), 128.2 (ArC), 120.2 (ArCH), 119.4 (CH_2), 111.8 (ArCH), 110.5 (ArCH), 77.8 (CH), 66.7 (CH_2), 56.6 (CH), 56.4 (OCH_3), 56.3 (OCH_3), 39.3 (CH_2) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 344 ($[M+Na]^+$, 100), 236 ($[M+H - H_2CCHCH_2CO_2H]^+$, 258). Anal. Calcd. for $C_{16}H_{19}NO_6 \cdot H_2O$ C, 56.63; H, 6.24; N, 4.13, found C, 56.60; H, 6.16; N, 4.18. Data for compound *anti*-**213** : m.p. 45-46°C (CH_2Cl_2), $R_f = 0.6$ ($AcOEt$), $[\alpha]_D^{23} = +56.9$ (CH_2Cl_2 , $c = 2$). 1H NMR ($CDCl_3$, 500MHz) $\delta = 6.87$ (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, 6-H), 6.87 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, 5-H), 6.84 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, 2-H), 5.88 (m, 1H, $COCH_2CHCH_2$), 5.77 (br s, 1H, NH), 5.73 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H, $CHOCOCH_3$), 5.19 (br s, 1H, $COCH_2CHCH_AH_B$), 5.17 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H, $COCH_2CHCH_AH_B$), 4.38 (t, $J = 8.8$ Hz, 1H, $CHCH_AH_BO$), 4.29 (m, 1H, $CHCH_AH_BO$), 4.29 (m, 1H, OCH_2CHN) 3.86 (s, 3H, 3- OCH_3), 3.85 (s, 3H, 4- OCH_3), 3.15 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H, $COCH_AH_BCHCH_2$ and $COCH_AH_BCHCH_2$) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) $\delta = 170.8$ ($OC=O$), 159.5 ($NC=O$), 150.0 (ArC), 149.7 (ArC), 129.9 (CH), 128.1 (ArC), 119.7 (CH_2), 119.6 (ArCH), 111.8 (ArCH), 110.2 (ArCH), 75.9 (CH), 66.9 (CH_2), 56.4 (CH), 56.4 (OCH_3), 56.3 (OCH_3), 39.5 (CH_2) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 344 ($[M+Na]^+$, 100), 236 ($[M+H - H_2CCHCH_2CO_2H]^+$, 258). Anal. Calcd. for $C_{16}H_{19}NO_6$ C, 59.81; H, 5.96; N, 4.36, found C, 59.39; H, 6.06; N, 4.10.

(R)-(3,4-dimethoxyphenyl)((R)-2-oxooxazolidin-4-yl)methyl cinnamate *syn*-214 and **(S)-(3,4-dimethoxyphenyl)((R)-2-oxooxazolidin-4-yl)methyl cinnamate *anti*-214** : To a solution of **209** (0.25 g, 1.05 mmol) and *trans*-cinnamic acid (3.13 g, 21.10 mmol) suspended in $CHCl_3$ (2.6 mL) was added DDQ (0.479 g, 2.11 mmol). The resulting deep blue mixture was stirred at 60 °C for 36 hours. After filtration of the precipitate, the solution was diluted with CH_2Cl_2 (20 mL) and washed with a saturated $NaHCO_3$ solution (2×15 mL) and brine (10 mL), dried over $MgSO_4$ and filtered. The crude product was concentrated and purified on flash chromatography (silica gel, *n*-heptane/ $AcOEt$ = 8 : 2 \rightarrow 5 : 5) giving *syn*-**214** (26%, 0.105 g) and *anti*-**214** (15%, 0.060 g) as white solids in 72% overall yield (0.290 g) and as a 40 : 60 mixture of *syn/anti* diastereoisomers. Data for compound *syn*-**214** : m.p. 88 °C ($CHCl_3$), R_f = 0.8 ($AcOEt$), $[\alpha]_D^{23}$ = +17.5 (CH_2Cl_2 , c = 1.1). 1H NMR ($CDCl_3$, 500MHz) δ = 7.72 (d, J = 16.1 Hz, 1H, $C_6H_5CHCHCOO$), 7.90 (m, 2H, 2'-H and 6'-H), 7.38 (m, 3H, 3'-H, 4'-H and 5'-H), 6.94 (dd, J = 1.4, 8.5 Hz, 1H, 6-H), 6.86 (m, 2H, 2-H and 5-H), 6.48 (d, J = 16.1 Hz, 1H, $C_6H_5CHCHCO_2$), 6.14 (br s, 1H, NH), 5.72 (d, J = 6.9 Hz, 1H, $CHO(CO)C_2H_2C_6H_5$), 4.29 (m, 1H, OCH_2CHN), 4.28 (m, 1H, $CHCH_AH_BO$), 4.11 (m, 1H, $CHCH_AH_BO$), 3.89 (s, 3H, 3- OCH_3), 3.86 (s, 3H, 4- OCH_3) ppm. ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ = 166.3 (OC=O), 159.6 (NC=O), 150.1 (ArC), 149.8 (ArC), 146.8 (CH_{alkene}), 134.5 (ArC), 131.1 (ArCH), 129.3 (2ArCH), 128.7 (2ArCH), 128.4 (ArC), 119.9 (ArCH), 117.4 (CH_{alkene}), 111.9 (ArCH), 110.3 (ArCH), 77.5 (CH), 66.8 (CH_2), 56.6 (CH), 56.5 (OCH_3), 56.3 (OCH_3) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 406 ($[M+Na]^+$, 100), 236 ($[M+H - C_6H_5C_2H_2CO_2H]^+$, 12). Anal. Calcd. for $C_{21}H_{21}NO_6$ (383.39): calcd. C, 65.79; H, 5.52; N, 3.65, found C, 65.78; H, 5.62; N, 3.55. Data for compound *anti*-**214** : m.p. 77-78°C (CH_2Cl_2), R_f = 0.7 ($AcOEt$), $[\alpha]_D^{23}$ = -75.0 (CH_2Cl_2 , c = 0.6). 1H NMR ($CDCl_3$, 500MHz) δ = 7.73 (d, J = 16.1 Hz, 1H, $C_6H_5CHCHCO_2$), 7.90 (m, 2H, 2'-H and 6'-H), 7.38 (m, 3H, 3'-H, 4'-H and 5'-H), 6.95 (dd, J = 1.7, 8.4 Hz, 1H, 6-H), 6.87 (m, 2H, 2-H and 5-H), 6.47 (d, J = 16.1 Hz, 1H, $C_6H_5CHCHCOO$), 5.82 (d, J = 6.6 Hz, 1H, $CHO(CO)C_2H_2C_6H_5$), 5.30 (br s, 1H, NH), 4.48 (m, J = 9.0 Hz, 1H, $CHCH_AH_BO$), 4.38 (dd, J = 4.7, 9.0 Hz, 1H, $CHCH_AH_BO$), 4.26 (m, 1H, OCH_2CHN), 3.89 (s, 3H, 3- OCH_3), 3.87 (s, 3H, 4- OCH_3) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ = 166.2 (OC=O), 159.2 (NC=O), 150.1 (ArC), 149.8 (ArC), 147.0 (CH_{alkene}), 134.4 (ArC), 131.2 (ArCH), 129.4 (2ArCH), 128.7 (2ArCH), 128.4 (ArC), 119.8 (ArCH), 117.2 (CH_{alkene}), 111.8 (ArCH), 110.3 (ArCH), 76.0 (CH), 67.3 (CH_2), 56.5 (CH), 56.4 (OCH_3), 56.4 (OCH_3) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 406 ($[M+Na]^+$, 100), 236 ($[M+H - C_6H_5C_2H_2CO_2H]^+$,

6). Anal. Calcd. for $C_{21}H_{21}NO_6 \cdot 0.25 CH_2Cl_2$ C, 63.02; H, 5.31; N, 3.46, found C, 62.78; H, 5.62; N, 3.78.

(R)-(3,4-dimethoxyphenyl)((R)-2-oxooxazolidin-4-yl)methyl 2-oxo-2-phenylacetate *syn*-215 and **(S)-(3,4-dimethoxyphenyl)((R)-2-oxooxazolidin-4-yl)methyl 2-oxo-2-phenylacetate *anti*-215** : A suspension of oxazolidin-2-one **209** (0.25 g, 1.05 mmol), DDQ (0.479 g, 2.11 mmol) in CH_2Cl_2 (2.6 mL) and phenylglyoxylic acid (2.53 g, 8.43 mmol) was stirred at 60 °C for 12 hours. After filtration of the pale brown precipitate, the solution was diluted with CH_2Cl_2 (20 mL) and washed with a saturated $NaHCO_3$ solution (2 × 15 mL) and brine (10 mL), dried over $MgSO_4$ and filtered. The crude product was concentrated and purified on flash chromatography (silica gel, *n*-heptane/ $AcOEt$ = 8 : 2 → 5 : 5) giving *syn*-**215** (29%, 0.117 g) and *anti*-**215** (22%, 0.089 g) as white solids in 96% overall yield (0.390 g) and as a 45 : 55 mixture of *syn/anti* diastereoisomers. Data for compound *syn*-**215** : m.p. 178-179 °C (CH_2Cl_2), R_f = 0.8 ($AcOEt$), $[\alpha]_D^{23}$ = -72 (CH_2Cl_2 , c = 1). 1H NMR ($CDCl_3$, 500MHz) δ = 7.90 (d, J = 7.2 Hz, 2H, 2'-H and 6'-H), 7.64 (t, J = 7.9 Hz, 1H, 4'-H), 7.47 (t, J = 7.9 Hz, 2H, 3'-H and 5'-H), 7.01 (d, J = 1.4, 8.2 Hz, 1H, 6-H), 6.92 (d, J = 1.4 Hz, 1H, 2-H), 6.90 (d, J = 8.2 Hz, 1H, 5-H), 6.26 (br s, 1H, NH), 5.82 (d, J = 8.2 Hz, 1H, $CHO(CO)_2C_6H_5$), 4.35 (m, 1H, OCH_2CHN), 4.25 (t, J = 9.1 Hz, 1H, $CHCH_AH_BO$), 4.09 (dd, J = 5.3, 9.1 Hz, 1H, $CHCH_AH_BO$), 3.91 (s, 3H, 3- OCH_3), 3.90 (s, 3H, 4- OCH_3) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ = 185.6 (ArC=O), 162.8 (OC=O), 159.3 (NC=O), 150.6 (ArC), 150.0 (ArC), 135.6 (ArCH), 132.6 (ArC), 130.5 (2ArCH), 129.4 (2ArCH), 126.8 (ArC), 120.7 (ArCH), 111.8 (ArCH), 110.4 (ArCH), 80.2 (CH), 66.3 (CH_2), 56.5 (OCH_3), 56.4 (OCH_3), 56.1 (CH) ppm. MS-ESI: (%) m/z = 408 ($[M+Na]^+$, 100), 386 ($[M+H]^+$, 57), 236 ($[M+H - C_6H_5COCO_2H]^+$, 83). Anal. Calcd. for $C_{20}H_{19}NO_7$ C, 62.33; H, 4.97; N, 3.63, found: C, 61.96; H, 5.03; N, 3.57. Data for compound *anti*-**215** : m.p. 169-170 °C (CH_2Cl_2), R_f = 0.7 ($AcOEt$), $[\alpha]_D^{23}$ = +23.2 (CH_2Cl_2 , c = 0.6). 1H NMR ($CDCl_3$, 500MHz) δ = 7.89 (d, J = 7.5 Hz, 2H, 2'-H and 6'-H), 7.52 (t, J = 7.5 Hz, 1H, 4'-H), 7.48 (t, J = 7.5 Hz, 2H, 3'-H and 5'-H), 6.97 (d, J = 8.2 Hz, 1H, 6-H), 6.90 (d, J = 1.9 Hz, 1H, 2-H), 6.88 (d, J = 8.2 Hz, 1H, 5-H), 5.91 (d, J = 4.2 Hz, 1H, $CHO(CO)_2C_6H_5$), 5.63 (br s, 1H, NH), 4.47 (t, J = 8.6 Hz, 1H, $CHCH_AH_BO$), 4.35 (m, 1H, $CHCH_AH_BO$), 4.31 (m, 1H, OCH_2CHN), 3.88 (s, 3H, 3- OCH_3), 3.86 (s, 3H, 4- OCH_3) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ = 185.7 (ArC=O), 163.0 (OC=O), 159.1 (NC=O), 150.4 (ArC), 150.0 (ArC), 135.7 (ArCH), 132.4 (ArC), 130.4 (2ArCH), 129.5 (2ArCH), 127.1 (ArC), 120.2 (ArCH), 111.8 (ArCH), 110.0 (ArCH), 77.9 (CH), 67.1 (CH_2), 56.5 (OCH_3),

56.4 (OCH₃), 56.2 (CH) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 408 ([M+Na]⁺, 77), 236 ([M+H - C₆H₅COCO₂H]⁺, 100). Anal. Calcd. for C₂₀H₁₉NO₇·0.2 H₂O C, 61.76; H, 4.99; N, 3.60, found C, 61.56; H, 5.10; N, 3.56.

(R)-4-(3,4-dimethoxybenzoyl)oxazolidin-2-one 216 : To oxazolidinone **209** (1 g, 4.22 mmol) contained in HCO₂H : H₂O (8.48 : 2.12 mL) was added DDQ (2.40 g, 10.6 mmol). The resulting solution was stirred at 60 °C for 3 hours. After filtration of the precipitate, the solution was diluted with CH₂Cl₂ (50 mL), washed with a saturated NaHCO₃ aqueous solution (4 × 50 mL) and brine (40 mL), dried over MgSO₄ and filtered. The crude product was concentrated and purified on flash chromatography (silica gel, *n*-heptane/AcOEt = 6 : 4 → 5 : 5) giving **216** as a white solid in 84% yield (0.900 g), m.p. 168-169 °C (CH₂Cl₂), R_f = 0.5 (AcOEt), $[\alpha]_D^{23}$ = +44.4 (CH₂Cl₂, *c* = 0.5). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) δ = 7.49 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, 2-H), 7.34 (dd, *J* = 1.9, 8.4 Hz, 1H, 6-H), 6.92 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, 5-H), 5.89 (br s, 1H, NH), 5.22 (dd, *J* = 6.6, 9.9 Hz, 1H, OCH₂CHN), 4.80 (t, *J* = 9.9 Hz, 1H, CHCH_AH_BO), 4.43 (dd, *J* = 5.7, 9.9 Hz, 1H, CHCH_AH_BO), 3.97 (s, 3H, 3-OCH₃), 3.94 (s, 3H, 3-OCH₃), 3.86 (s, 3H, 4-OCH₃) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ = 193.4 (C=O), 159.4 (NC=O), 155.0 (ArC), 150.3 (ArC), 126.7 (ArC), 123.1 (ArCH), 110.9 (ArCH), 110.8 (ArCH), 67.2 (CH₂), 56.8 (OCH₃), 56.7 (OCH₃), 56.5 (CH) ppm. ESI-MS: m/z = (%) 252 ([M+H]⁺, 100). Anal. Calcd. for C₁₂H₁₃NO₅ C, 57.37; H, 5.22; N, 5.58, found: C, 57.67; H, 5.48; N, 5.28.

(4R)-4-((3,4-dimethoxyphenyl)(methoxy)methyl)oxazolidin-2-one 223 : To oxazolidinone **209** (0.2 g, 0.844 mmol) contained in MeOH (2.1 mL) was added DDQ (0.422 g, 1.86 mmol) and the solution stirred at 60 °C for 24 hours. The dark red solution was then diluted with CH₂Cl₂ (10 mL), washed with a saturated NaHCO₃ solution (3 × 10 mL) and brine (15 mL), dried over MgSO₄ and filtered. The crude product was concentrated and purified on flash chromatography (silica gel, *n*-heptane/AcOEt = 7 : 3) giving **223** in 26% yield (0.059 g) as a pale yellow oil and as an inseparable *syn/anti* mixture of 4 : 6 diastereoisomers. ESI-MS: m/z (%) = 290 ([M+Na]⁺, 100). Anal. Calcd. for C₁₃H₁₇NO₅·0.1 H₂O C, 57.97, H, 6.32, N, 5.20; found: C, 57.55, H, 6.53, N, 4.93.

(5S,10aS)-methyl-7,8-dimethoxy-3-oxo-3,5,10,10a-tetrahydro-1H-oxazolo[3,4-b]isoquinoline-5-carboxylate 220 : To a solution of **209** (0.100 g, 0.422 mmol) stirred in a mixture of CH₂Cl₂/THF (3.7 : 0.8 mL) was added H₂SO₄ (82.8 mg, 45 μ L, 0.844 mmol) was

stirred at reflux for 24 hours. After, the solution was diluted with CH_2Cl_2 (10 mL), washed with a saturated $NaHCO_3$ solution (10 mL) and brine (10 mL), dried over $MgSO_4$ and filtered. The crude product was concentrated and purified on flash chromatography (silica gel, cyclohexane/ $AcOEt$ = 8 : 2) giving **220** in 58% yield (0.078 g) as a color less oil, R_f = 0.7 ($AcOEt$). 1H NMR ($CDCl_3$, 500MHz) δ = 7.05 (s, 1H, 8-H), 6.60 (s, 1H, 5-H), 5.34 (s, 1H, $CHCO_2Et$), 4.67 (t, 1H, J = 7.9 Hz, $CHCH_AH_BO$), 4.39 (m, 1H, OCH_2CHN), 4.10 (q, 1H, J = 7.2 Hz, $CO_2CH_AH_BCH_3$), 4.15 (q, 1H, J = 7.2 Hz, $CO_2CH_AH_BCH_3$), 4.05 (m, 1H, $CHCH_AH_BO$), 3.79 (s, 6H, 7- OCH_3 and 6- OCH_3), 2.85 (dd, 1H, J = 4.7, 15.5 Hz, CH_AH_BCHN), 2.74 (dd, 1H, J = 10.5, 15.5 Hz, CH_AH_BCHN), 1.29 (t, 1H, J = 7.2 Hz, $CO_2CH_2CH_3$) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ = 169.5 (CO_2Et), 160.4 ($NC=O$), 149.8 (ArC), 148.9 (ArC), 128.4 (ArC), 125.3 (ArC), 112.1 (ArCH), 110.3 (ArCH), 69.6 (CH_2), 62.3 (CH_2), 56.4 (OCH_3), 56.3 (OCH_3), 55.0 (CH), 50.0 (CH), 33.6 (CH_2), 14.6 (CH_3) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 322 ($[M+H]^+$, 100), 248 ($[M+H - HCO_2Et]^+$, 52).

(5S,10aS)-7,8-dimethoxy-3-oxo-3,5,10,10a-tetrahydro-1H-oxazolo[3,4-b]isoquinoline-5-carboxylic acid 221 : A solution of ester **220** (0.1 g, 0.316 mmol) and $LiOH \cdot H_2O$ (19.6 mg, 0.467 mmol) in $MeOH/H_2O$ (1.8 mL, 3 : 1) was stirred at room temperature for 18 hours. Then CH_2Cl_2 (10 mL) was added followed by a 1M solution of HCl (5 mL). The organic layer was separated and the aqueous solution was extracted twice with CH_2Cl_2 (10 mL). The combined organic layers were dried over $MgSO_4$, filtered and evaporated giving **221** in 90% yield (0.083 g) as a pale yellow oil, R_f = 0.7 ($AcOEt$). 1H NMR ($CDCl_3$, 500MHz) δ = 7.25 (s, 1H, 8-H), 6.96 (s, 1H, 5-H), 5.25 (s, 1H, $CHCO_2H$), 4.83 (t, 1H, J = 7.9 Hz, $CHCH_AH_BO$), 4.44 (m, 1H, OCH_2CHN), 4.26 (m, 1H, $CHCH_AH_BO$), 3.92 (s, 3H, 7- OCH_3), 3.89 (s, 3H, 6- OCH_3), 3.12 (dd, 1H, J = 4.5, 16.1 Hz, CH_AH_BCHN), 2.74 (dd, 1H, J = 9.9, 16.1 Hz, CH_AH_BCHN) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ = 172.3 (CO_2Et), 157.5 ($NC=O$), 149.3 (ArC), 148.2 (ArC), 125.5 (2ArC), 113.1 (ArCH), 111.4 (ArCH), 69.9 (CH_2), 56.4 (2 OCH_3), 55.4 (CH), 50.0 (CH), 33.2 (CH_2) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 294 ($[M+H]^+$, 100), 248 ($[M+H - HCO_2H]^+$, 34).

(5S,10aR)-methyl-7,8-dimethoxy-3,10-dioxo-3,5,10,10a-tetrahydro-1H-oxazolo[3,4-b]isoquinoline-5-carboxylate 224 : To a solution of ketone **216** (1.0 g, 3.98 mmol) stirred in CH_2Cl_2 (42 mL) was added $BF_3 \cdot Et_2O$ (11.3 g, 79.6 mmol) was stirred at reflux for 4 hours. After cooling, the solution was diluted with CH_2Cl_2 (50 mL), washed with a saturated

NaHCO₃ solution (100 mL) and brine (20 mL), dried over MgSO₄ and filtered. The crude product was concentrated and purified on flash chromatography (silica gel, cyclohexane/AcOEt = 6 : 4) giving **224** in 90% yield (1.15 g) as a pale yellow solid, m.p. 79-80°C (AcOEt), R_f = 0.6 (AcOEt), $[\alpha]_D^{23}$ = -78.0 (CH₂Cl₂, c = 0.5). ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ = 7.34 (s, 1H, 5-H), 6.79 (s, 1H, 8-H), 5.44 (s, 1H, CHCO₂Me), 4.71 (dd, J = 5.9, 8.9 Hz, 1H, OCH₂CHN), 4.49 (m, 2H, CHCH_AH_BO and CHCH_AH_BO), 3.74 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.50 (s, 3H, OCH₃), 3.68 (s, 3H, 6-OCH₃) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ = 190.8 (C=O), 169.4 (CO₂Me), 157.1 (NC=O), 155.2 (ArC), 150.2 (ArC), 131.6 (ArC), 122.9 (ArC), 109.8 (ArCH), 108.8 (ArCH), 65.6 (CH₂), 56.9 (CH), 56.6 (OCH₃), 56.5 (OCH₃), 55.4 (CH), 53.6 (OCH₃) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 344 ([M+Na]⁺, 100), 322 ([M+H]⁺, 26). Anal. Calcd. for C₁₅H₁₅NO₇ C, 56.08; H, 4.71; N, 4.36, found C, 55.98; H, 4.79; N, 4.18.

(5S,10S,10aR)-methyl-10-hydroxy-7,8-dimethoxy-3-oxo-3,5,10,10a-tetrahydro-1H-oxazolo[3,4-*b*]isoquinoline-5-carboxylate 226 : A solution of ketone **224** (0.120 g, 0.374 mmol) and CeCl₃.7H₂O (0.417 g, 1.12 mmol) in THF/MeOH (1.44 mL : 2.16 mL) was cooled to -65°C and treated with solid NaBH₄ (0.018 g, 0.411 mmol). After 30 minutes at -60°C, the reaction mixture was diluted with CH₂Cl₂, (10 mL) and quenched with 1 N HCl (2 mL). The aqueous layer was extracted twice with CH₂Cl₂, (2 × 5 mL). Combined extracts were washed with brine (5 mL), dried over MgSO₄ and filtered. The crude product was concentrated and purified on flash chromatography (silica gel, *n*-heptane/AcOEt = 6 : 4) giving **226** in 92% yield (0.111 g) as a white solid, m.p. 219-220°C (CH₂Cl₂), R_f = 0.6 (AcOEt), $[\alpha]_D^{23}$ = -75.2 (MeOH, c = 0.5). ¹H NMR ((CD₃)₂SO, 500MHz) δ = 7.15 (s, 1H, 5-H), 7.00 (s, 1H, 8-H), 6.10 (d, J = 6.9 Hz, 1H, OH), 5.27 (s, 1H, CHCO₂Me), 4.73 (t, J = 8.5 Hz, 1H, CHCH_AH_BO), 4.47 (t, J = 8.0 Hz, 1H, CHOH), 4.38 (dd, J = 6.6, 9.8 Hz, 1H, CHCH_AH_BO), 3.93 (dd, J = 8.0, 15.4 Hz, 1H, OCH₂CHN), 3.76 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 3.74 (s, 3H, 7-OCH₃) ppm. ¹³C NMR ((CD₃)₂SO, 125 MHz) δ = 171.1 (CO₂Me), 157.2 (NC=O), 149.7 (ArC), 148.8 (ArC), 131.6 (ArC), 120.8 (ArC), 110.4 (ArCH), 109.9 (ArCH), 68.9 (CH), 68.9 (CH₂), 56.6 (CH), 56.5 (OCH₃), 56.3 (OCH₃), 55.1 (CH), 53.7 (OCH₃) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 346 ([M+Na]⁺, 100), 306 ([M+H - H₂O]⁺, 12), 246 ([M+H - H₂O - HCO₂Me]⁺, 9), 202 ([M+H - H₂O - HCO₂Me - CO₂]⁺, 6). Anal. Calcd. for C₁₅H₁₇NO₇ C, 55.73; H, 5.30; N, 4.33, found C, 55.58; H, 5.31; N, 4.18.

(5S,10S,10aR)-10-(tert-butyldimethylsilyloxy)-5-(hydroxymethyl)-7,8-dimethoxy-10,10a-dihydro-1H-oxazolo[3,4-b]isoquinolin-3(5H)-one 227 : A solution of alcohol **226** (0.200 g, 0.619 mmol), *tert*-butyldimethylsilyl chloride (0.559 g, 3.72 mmol), and imidazole (0.506 g, 7.43 mmol) in dry DMF (2 mL) was stirred at room temperature during 12 hours. The reaction was quenched by adding a saturated NH_4Cl solution (10 mL). The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3×10 mL). Combined extracts were dried over $MgSO_4$ and filtered. The crude product was concentrated and purified on flash chromatography (silica gel, *n*-heptane/ $AcOEt$ = 8 : 2) giving **227** in 89% yield (0.241 g) as a white solid, m.p. $145^\circ C$ (*n*-heptane), R_f = 0.8 ($AcOEt$), $[\alpha]_D^{23}$ = -46.4 (CH_2Cl_2 , c = 0.5). 1H NMR ($CDCl_3$, 500MHz) δ = 7.01 (s, 1H, 8-H), 6.97 (s, 1H, 5-H), 5.31 (s, 1H, $CHCO_2Me$), 4.68 (t, J = 8.5 Hz, 1H, $CHCH_AH_BO$), 4.64 (d, J = 8.8 Hz, 1H, $CHOSi$), 4.33 (dd, J = 6.6, 8.5 Hz, 1H, $CHCH_AH_BO$), 4.17 (dd, J = 8.2, 15.1 Hz, 1H, OCH_2CHN), 3.87 (s, 3H, 6- OCH_3), 3.85 (s, 3H, 7- OCH_3), 3.77 (s, 3H, OCH_3), 0.97 ($(CH_3)_3CSi$, 9H), 0.27 (CH_3Si , 3H), 0.18 (CH_3Si , 3H) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ = 170.2 (CO_2Me), 156.9 ($NC=O$), 149.3 (ArC), 148.7 (ArC), 129.8 (ArC), 120.4 (ArC), 109.4 (ArCH), 108.9 (ArCH), 70.7 (CH), 68.3 (CH_2), 56.2 (OCH_3), 56.0 (OCH_3), 55.6 (CH), 54.8 (CH), 53.0 (OCH_3), 25.8 ($(CH_3)_3CSi$), 18.2 (CSi), -3.6 (CH_3Si), -3.8 (CH_3Si) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 460 ($[M+Na]^+$, 100), 306 ($[M+H - ((CH_3)_3C(CH_3)_2SiOH]^+$, 33). Anal. Calcd. for $C_{20}H_{31}NO_6Si$ C, 57.64; H, 7.14; N, 3.20, found C, 57.46; H, 7.07; N, 2.92.

(5S,10S,10aR)-10-(tert-butyldimethylsilyloxy)-7,8-dimethoxy-5-((methoxymethoxy)methyl)-10,10a-dihydro-1H-oxazolo[3,4-b]isoquinolin-3(5H)-one 228 : To a solution of of ester **227** (0.200 g, 0.457 mmol) in THF (12 mL) was added a 1M solution of $LiBEt_3H$ in THF (1.83 mL, 1.83 mmol). The reaction mixture was allowed to stir for 5 minutes and then quenched with a saturated NH_4Cl solution (10 mL) and stirred for an additional 10 minutes. The aqueous layer was extracted with dichloromethane (4×10 mL). The combined organic layers were dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was the engaged in the next step without further purification. At $0^\circ C$, *i*- Pr_2NEt (0.177 g, 1.371 mmol) was added to a solution of the primary alcohol in CH_2Cl_2 (2 mL). The reaction mixture was stirred during 5 minutes and $MOMCl$ (0.055 g, 0.686 mmol) was added dropwise. The solution was then stirred for 12 hours at room temperature. The reaction was quenched with H_2O (10 mL) and the aqueous layer extracted with CH_2Cl_2 (2×10 mL). The combined organic layers were dried over $MgSO_4$, filtered and

concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by flash chromatography (silica gel, *n*-heptane/AcOEt = 8 : 2) to give **228** in 86% yield (0.178 g) as a colourless oil, R_f = 0.8 (AcOEt), $[\alpha]_D^{23}$ = -51.7 (CH₂Cl₂, *c* = 0.65). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) δ = 6.97 (s, 1H, 5-H), 6.70 (s, 1H, 8-H), 4.91 (t, *J* = 4.1 Hz, 1H, CHCH₂OCH₂OCH₃), 4.62 (m, 2H, CHOSi and CH₂OCH_AH_BOCH₃), 4.55-4.51 (m, 1H, CH₂OCH_AH_BOCH₃ and CHCH_AH_BO), 4.38 (dd, *J* = 4.1, 8.8 Hz, 1H, CHCH_AH_BO), 3.96 (m, 1H, OCH₂CHN), 3.90 (m, 1H, CH_AH_BOCH₂OCH₃ and CH_AH_BOCH₂OCH₃), 3.87 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.85 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.22 (s, 3H, CH₂OCH₃), 0.98 ((CH₃)₃CSi, 9H), 0.26 (CH₃Si, 3H), 0.18 (CH₃Si, 3H) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ = 157.0 (NC=O), 148.6 (ArC), 148.5 (ArC), 130.2 (ArC), 124.4 (ArC), 109.0 (ArCH), 108.7 (ArCH), 96.3 (CH₂), 70.5 (CH), 70.1 (CH₂), 67.0 (CH₂), 56.5 (OCH₃), 56.3 (OCH₃), 56.0 (CH), 55.8 (OCH₃), 52.6 (CH), 26.0 ((CH₃)₃CSi), 18.3 (CSi), -3.5 (CH₃Si), -3.5 (CH₃Si) ppm. ESI-MS: *m/z* (%) = 476 ([M+Na]⁺, 38), 454 ([M+H]⁺, 100), 422 ([M+H - CH₃OH]⁺, 41). Anal. Calcd. for C₂₂H₃₅NO₇Si C, 58.25; H, 7.78; N, 3.09, found C, 58.10; H, 7.80; N, 2.99.

(5S,10S,10aR)-methyl-10-(ethoxymethoxy)-7,8-dimethoxy-3-oxo-3,5,10,10a-tetrahydro-1H-oxazolo[3,4-b]isoquinoline-5-carboxylate 229 : To a solution of **226** (0.200 g, 0.619 mmol) and *i*-Pr₂NEt (0.798 g, 6.19 mmol) in CH₂Cl₂ (4 mL), EOMCl (0.117 g, 1.24 mmol) was added and the reaction mixture was heated to 50°C for 12 hours. After cooling to room temperature, the solution was diluted with CH₂Cl₂ (10 mL), washed with H₂O (10 mL), brine (10 mL), dried over MgSO₄ and filtered. After evaporation, the crude residue was purified by flash chromatography (silica gel, *n*-heptane/AcOEt = 8 : 2) to give **229** in 91% yield (0.215 g) as a colourless oil, R_f = 0.8 (AcOEt), $[\alpha]_D^{23}$ = -10.4 (CH₂Cl₂, *c* = 1). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) δ = 7.00 (s, 1H, 8-H), 6.97 (s, 1H, 5-H), 5.31 (s, 1H, CHCO₂Me), 4.95 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, OCH_AH_BO), 4.90 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, OCH_AH_BO), 4.76 (dd, *J* = 7.3, 9.1 Hz, 1H, CHCH_AH_BO), 4.47 (m, 2H, CHOCH₂OC₂H₅ and CHCH_AH_BO), 4.17 (m, 1H, OCH₂CHN), 3.87 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.86 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 3.72 (m, 1H, OCH₂OCH_AH_BCH₃), 3.60 (m, 1H, OCH₂OCH_AH_BCH₃), 1.25 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂OCH₂CH₃) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ = 170.4 (CO₂Me), 157.3 (NC=O), 149.8 (ArC), 149.4 (ArC), 127.3 (ArC), 121.5 (ArC), 109.8 (ArCH), 109.7 (ArCH), 96.7 (CH₂), 78.2 (CH), 69.3 (CH₂), 64.8 (CH₂), 56.5 (OCH₃), 56.3 (OCH₃), 54.9 (CH), 54.8 (CH), 53.3 (OCH₃), 15.4 (CH₃) ppm. ESI-MS: *m/z* (%) = 404 ([M+Na]⁺, 100), 306 ([M+H - C₂H₅OCH₂OH]⁺, 31), 246 ([M+H - C₂H₅OCH₂OH - HCO₂Me]⁺, 30), 202 ([M+H -

$C_2H_5OCH_2OH - HCO_2Me-CO_2]^+$, 22). Anal. Calcd. for $C_{18}H_{23}NO_8$ C, 56.69; H, 6.08; N, 3.67, found, C, 56.38; H, 6.15; N, 3.48.

10-(ethoxymethoxy)-5-((ethoxymethoxy)methyl)-7,8-dimethoxy-10,10a-dihydro-1H-oxazolo[3,4-b]isoquinolin-3(5H)-one 230 : To a solution of 0.100 g (0.262 mmol) of ester **229** in THF (7.5 mL) was added a 1M solution of $LiBEt_3H$ in THF (1.05 mL, 1.05 mmol). The reaction mixture was allowed to stir for 5 minutes and then quenched with a saturated NH_4Cl solution (5 ml) and stirred for an additional 10 minutes. The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3×5 mL). The combined organic layers were dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was then engaged in a step of protection without further purification. At $0^\circ C$, $i-Pr_2NEt$ (0.110 g, 0.850 mmol) was added to a solution of the primary alcohol in CH_2Cl_2 (2 mL). The reaction mixture was stirred during 5 minutes and $EOMCl$ (0.040 g, 0.425 mmol) was added dropwise. The solution was then stirred for 12 hours at room temperature. The reaction was quenched with H_2O (10 ml) and the aqueous layer extracted with CH_2Cl_2 (2×10 mL). The combined organic layers were dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by flash chromatography (silica gel, n -heptane/ $AcOEt = 8 : 2$) to give **230** in 88% yield (0.095 g) as a colourless oil, $R_f = 0.8$ ($AcOEt$), $[\alpha]_D^{23} = -27.1$ (CH_2Cl_2 , $c = 0.19$). 1H NMR ($CDCl_3$, 500MHz) $\delta = 6.95$ (s, 1H, 5-H), 6.67 (s, 1H, 8-H), 4.95 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, OCH_AH_BO), 4.90 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, OCH_AH_BO), 4.89 (m, 1H, $CHCH_2OCH_2OC_2H_5$), 4.65 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H, $OCH_A \cdot H_B \cdot O$), 4.60 (m, 1H, $CHCH_AH_BO$), 4.56 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H, $OCH_A \cdot H_B \cdot O$), 4.52 (m, 1H, $CHCH_AH_BO$), 4.49 (m, 1H, $CHOCH_2OC_2H_5$), 4.15 (m, 1H, OCH_2CHN), 3.93-3.87 (m, 2H, $CH_AH_BOCH_2OC_2H_5$ and $CH_AH_BOCH_2OC_2H_5$), 3.86 (s, 6H, 6- OCH_3 and 7- OCH_3), 3.74-3.68 (m, 1H, $OCH_2OCH_AH_BCH_3$), 3.64-3.58 (m, 1H, $OCH_2OCH_AH_BCH_3$), 3.46-3.36 (m, 1H, $OCH_2OCH_A \cdot H_B \cdot CH_3$ and $OCH_2OCH_A \cdot H_B \cdot CH_3$), 1.24 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, $OCH_2OCH_2CH_3$), 1.12 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, $OCH_2OCH_2CH_3$) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) $\delta = 156.9$ ($NC=O$), 148.9 (ArC), 148.7 (ArC), 127.2 (ArC), 125.4 (ArC), 109.4 (ArCH), 108.7 (ArCH), 96.3 (CH_2), 94.9 (CH_2), 77.9 (CH), 69.9 (CH_2), 67.9 (CH_2), 64.3 (CH_2), 63.5 (CH_2), 56.1 (OCH_3), 56.0 (OCH_3), 54.3 (CH), 52.0 (CH), 15.1 ($2CH_3$) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 434 ($[M+Na]^+$, 100), 412 ($[M+H]^+$, 366 ($[M+H - C_2H_5OH]^+$, 11). Anal. Calcd. for $C_{20}H_{29}NO_8$ C, 58.38; H, 7.10; N, 3.40, found: C, 58.19; H, 7.16; N, 3.23.

(1S,3R,4S)-3-(hydroxymethyl)-6,7-dimethoxy-1-((methoxymethoxy)methyl)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-4-ol 231 : To a solution of **228** (0.100 g, 0.221 mmol) contained in ethanol (1.8 mL) was added a 2 N solution of NaOH (0.9 mL). This solution was degassed by bubbling through a stream of $N_{2(g)}$ and then heated during 48 hours at 90 °C. After cooling to room temperature, the solution was diluted with CH_2Cl_2 (6 mL) and brine (3 mL) was added. After separation of the organic layer, the aqueous layer was then extracted with CH_2Cl_2 (3×5 mL). Combined extracts were dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced. The crude residue was recrystallized from CH_2Cl_2 giving **231** in 65% yield (0.045 g) as a white solid, m.p. 209-210°C (CH_2Cl_2), $R_f = 0.1$ ($CH_2Cl_2/MeOH = 10 : 1$), $[\alpha]_D^{23} = -17.8$ ($CH_2Cl_2/MeOH = 8 : 2$, $c = 0.5$). 1H NMR ($CDCl_3/MeOD$ (10 : 1), 500MHz) $\delta = 6.97$ (s, 1H, 5-H), 6.47 (s, 1H, 8-H), 4.61 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H, OCH_AH_BO), 4.58 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H, OCH_AH_BO), 4.28 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H, $CHOH$), 4.01 (dd, $J = 3.8, 9.4$ Hz, 1H, $CHCH_2OCH_2OCH_3$), 3.83 (dd, $J = 4.1, 11.0$ Hz, 1H, $CHCH_AH_BO$), 3.76 (s, 3H, 6- OCH_3), 3.74 (s, 3H, 7- OCH_3), 3.71 (br s, 3H, NH and 2OH), 3.69 (m, 1H, $CH_AH_BOCH_2OCH_3$), 3.58 (dd, $J = 3.7, 11.1$ Hz, 1H, $CH_AH_BOCH_2OC_2H_5$), 3.49 (dd, $J = 7.6, 11.1$ Hz, 1H, $CHCH_AH_BO$), 3.29 (s, 3H, $CHCH_2OCH_2OCH_3$), 2.96 (m, 1H, OCH_2CHN) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3/MeOD$ (10 : 1), 125 MHz) $\delta = 148.4$ (ArC), 148.1 (ArC), 130.5 (ArC), 125.9 (ArC), 110.0 (ArCH), 108.9 (ArCH), 96.6 (CH_2), 69.4 (CH_2), 67.4 (CH), 63.1 (CH_2), 55.8 (OCH_3), 55.7 (OCH_3), 55.4 (OCH_3), 55.3 (CH), 54.2 (CH) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 314 ($[M+H]^+$, 100), 296 ($[M+H - H_2O]^+$, 85), 264 ($[M+H - H_2O - CH_3OH]^+$, 35). Anal. Calcd. for $C_{15}H_{23}NO_6 \cdot CH_2Cl_2$ C, 48.25; H, 6.33; N, 3.52 found, C, 47.86; H, 6.25; N, 3.69.

((1S,3R,4S)-4-(ethoxymethoxy)-1-((ethoxymethoxy)methyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl)methanol 232 : To a solution of **230** (0.200 g, 0.486 mmol) contained in EtOH (4 mL) was added a 2 N solution of sodium hydroxide (1 mL). This solution was degassed by bubbling through a stream of $N_{2(g)}$ and then heated during 48 hours at 90 °C. After cooling to room temperature, the solution was diluted with CH_2Cl_2 (10 mL) and brine (5 mL) was added. After separation of the organic layer, the aqueous layer was then extracted with CH_2Cl_2 (3×5 mL). Combined extracts were dried over Na_2SO_4 , filtered, concentrated under reduced pressure and purified on flash chromatography (silica gel, $CH_2Cl_2/MeOH = 10 : 1$) giving **232** in 79% yield (0.142 g) as a pale yellow solid, m.p. 68°C (*n*-heptane/ CH_2Cl_2), $R_f = 0.6$ ($CH_2Cl_2/MeOH = 10 : 1$), $[\alpha]_D^{23} = +35.4$ (CH_2Cl_2 , $c = 1$). 1H NMR ($CDCl_3$, 500MHz) $\delta = 6.86$ (s, 1H, 5-H), 6.62 (s, 1H, 8-H), 4.81 (s, 2H, OCH_AH_BO),

4.72 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H, $OCH_A \cdot H_B \cdot O$), 4.68 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H, $OCH_A \cdot H_B \cdot O$), 4.44 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H, $CHOCH_2OC_2H_5$), 4.09 (dd, $J = 4.0, 7.6$ Hz, 1H, $CHCH_2OCH_2OC_2H_5$), 3.85 (s, 3H, 7-OCH₃) 3.84 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.81 (m, 1H, $CH_A H_B OCH_2OC_2H_5$), 3.76 (dd, $J = 4.0, 10.2$ Hz, 1H, $CH_A H_B OCH_2OC_2H_5$), 3.72-3.67 (m, 2H, $OCH_2OCH_A H_B CH_3$ and $OCH_2OCH_A H_B CH_3$), 3.65 (m, 1H, $CHCH_A H_B O$), 3.60-3.55 (m, 2H, $OCH_2OCH_A \cdot H_B \cdot CH_3$ and $OCH_2OCH_A \cdot H_B \cdot CH_3$), 3.52 (m, 1H, $CHCH_A H_B O$), 3.31 (m, 1H, OCH_2CHN), 2.68 (br s, 2H, NH and OH), 1.24 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H, $OCH_2OCH_2CH_3$), 1.19 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $OCH_2OCH_2CH_3$) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) $\delta = 148.8$ (ArC), 148.1 (ArC), 128.2 (ArC), 127.1 (ArC), 112.0 (ArCH), 108.9 (ArCH), 95.4 (CH₂), 94.7 (CH₂), 73.2 (CH), 70.9 (CH₂), 64.0 (CH₂), 63.6 (CH₂), 62.0 (CH₂), 56.0 (OCH₃), 55.9 (OCH₃), 55.8 (CH), 53.0 (CH), 15.2 (2CH₃) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 408 ($[M+Na]^+$, 4), 386 ($[M+H]^+$, 100), 310 ($[M+H - C_2H_5OCH_2OH]^+$, 70), 264 ($[M+H - C_2H_5OCH_2OH - C_2H_5OH]^+$, 27), 202 ($[M+H - C_2H_5OCH_2OH - C_2H_5OCH_2OH]^+$, 14). Anal. Calcd. for $C_{19}H_{31}NO_7 \cdot 0.3 H_2O$ C, 58.33; H, 8.08; N, 3.58, found: C, 58.34; H, 8.05; N, 3.44.

(5S,10R,10aR)-methyl-7,8-dimethoxy-10-(2-methoxy-2-oxoethylthio)-3-oxo-3,5,10,10a-tetrahydro-1H-oxazolo[3,4-b]isoquinoline-5-carboxylate 233a and **(5S,10S,10aR)-methyl 7,8-dimethoxy-10-(2-methoxy-2-oxoethylthio)-3-oxo-3,5,10,10a-tetrahydro-1H-oxazolo[3,4-b]isoquinoline-5-carboxylate 234b** : A solution of methyl thioglycolate (0.036 g, 0.341 mmol) in dry $PhCH_3$ (5.16 mL) was added to a solution of TFA (5.16 mL) containing **226** (0.100 g, 0.310 mmol) at 0°C and stirred during 1 hour. The reaction mixture was diluted with CH_2Cl_2 (10 mL) and washed with a saturated Na_2CO_3 aqueous solution (5 mL) and brine (4 mL). The organic layer was dried over $MgSO_4$ and filtered. The crude product was concentrated and purified on flash chromatography (silica gel, n -heptane/AcOEt = 8 : 2) giving **233a** (0.090 g, 71%) and **233b** (0.010 g, 8%) as white solids in 92% overall yield (0.117 g) and as a **233a/233b** mixture of 9 : 1 diastereoisomers. Data for compound **233a**: m.p. 157-158°C (CH_2Cl_2), $R_f = 0.6$ (AcOEt), $[\alpha]_D^{23} = -147.0$ (CH_2Cl_2 , $c = 0.6$). 1H NMR ($CDCl_3$, 500MHz) $\delta = 7.03$ (s, 1H, 8-H), 6.84 (s, 1H, 5-H), 5.29 (s, 1H, $CHCO_2Me$), 4.83 (m, 1H, $CHCH_A H_B O$), 4.67-4.59 (m, 2H, $CHCH_A H_B O$ and OCH_2CHN), 4.17 (br s, 1H, $CHSCH_2CO_2Me$), 3.87 (s, 6H, 7-OCH₃ and 6-OCH₃), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.67 (s, 3H, OCH₃), 2.98 (s, 2H, SCH_2CO_2Me) ppm. ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) $\delta = 170.6$ (CO_2Me), 170.2 (CO_2Me), 157.1 (NC=O), 149.3 (2ArC), 125.2 (ArC), 120.9 (ArC), 112.6 (ArCH), 109.3 (ArCH), 66.8 (CH₂), 56.1 (OCH₃), 56.0 (OCH₃), 54.7 (CH), 53.6 (CH), 53.0 (OCH₃),

52.7 (OCH₃), 45.8 (CH), 31.8 (CH₂) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 434 ([M+Na]⁺, 100), 306 ([M+H – HSCH₂CO₂Me]⁺, 59), 246 ([M+H – HSCH₂CO₂Me-HCO₂Me]⁺, 79), 202 ([M+H – HSCH₂CO₂Me-HCO₂Me-CO₂]⁺, 66). Anal. Calcd. for C₁₈H₂₁NO₈S C, 52.55; H, 5.14; N, 3.40, found C, 52.46; H, 5.23; N, 3.39. Data for compound **233b**: m.p. 64-65 °C (THF), R_f = 0.7 (AcOEt), $[\alpha]_D^{23}$ = -105.7 (CH₂Cl₂, c = 0.4). ¹H NMR (CDCl₃, 500MHz) δ = 7.37 (s, 1H, 5-H), 6.99 (s, 1H, 8-H), 5.38 (s, 1H, CHCO₂Me), 4.77 (t, J = 8.3 Hz, 1H, CHCH_AH_BO), 4.47 (m, 1H, OCH₂CHN), 4.47 (dd, J = 5.3, 8.8 Hz, 1H, CHCH_AH_BO), 3.90 (s, 6H, 7-OCH₃ and 6-OCH₃), 3.87 (s, 1H, CHSCH₂CO₂Me), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.65 (s, 3H, OCH₃), 3.17 (d, J = 15.2 Hz, 1H, SCH₂CO₂Me), 3.13 (d, J = 15.2 Hz, 1H, SCH₂CO₂Me) ppm. ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ = 170.5 (CO₂Me), 170.3 (CO₂Me), 156.6 (NC=O), 149.6 (ArC), 149.0 (ArC), 124.2 (ArC), 123.2 (ArC), 111.1 (ArCH), 110.1(ArCH), 66.8 (CH₂), 56.3 (OCH₃), 56.2 (OCH₃), 54.8 (CH), 53.5 (CH), 53.1 (OCH₃), 52.8 (OCH₃), 46.9 (CH), 30.6 (CH₂) ppm. ESI-MS: m/z (%) = 434 ([M+Na]⁺, 100), 306 ([M+H – HSCH₂CO₂Me]⁺, 30), 246 ([M+H – HSCH₂CO₂Me-HCO₂Me]⁺, 35), 202 ([M+H – HSCH₂CO₂Me-HCO₂Me-CO₂]⁺, 26). Anal. Calcd. for C₁₈H₂₁NO₈S C, 52.55; H, 5.14; N, 3.40, found C, 52.42; H, 5.13; N, 3.07.

(5S,10S,10aR)-methyl-10-hydroxy-7,8-dimethoxy-3-oxo-3,5,10,10a-tetrahydro-1H-oxazolo[3,4-*b*]isoquinoline-5-carboxylate 236 : A solution of ketone **224** (0.5 g, 1.56 mmol), ethylene glycol (1.25 g, 20.28 mmol) and APTS (0.013 g, 0.080 mmol) in C₆H₆ (10 mL) was stirred and heated at reflux during 72 hours with a Dean-Stark. After complete conversion of **224**, the reaction mixture was washed with a 5% NaHCO₃ aqueous solution (5 mL) and brine (5 mL), dried over MgSO₄ and filtered. The crude product was concentrated and purified on flash chromatography (SiO₂, *n*-heptane/AcOEt = 6 : 4) giving **236** as a white solid in 85% yield, m.p. 178-179 °C (THF), R_f = 0.4 (AcOEt), $[\alpha]_D^{23}$ = -64.6 (CH₂Cl₂, c = 0.5). ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ = 7.03 (s, 1H, 8-H), 6.88 (s, 1H, 5-H), 5.45 (s, 1H, CHCO₂Me), 4.54 (m, 2H, OCH₂CH₂O), 4.50 (m, 1H, OCH₂CHN), 4.45 (m, 1H, CHCH_AH_BO), 4.17 (dd, 1H, CHCH_AH_BO), 4.14 (m, 2H, OCH₂CH₂O), 3.89 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.88 (s, 3H, 7-OCH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃) ppm. ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 170.6 (CO₂Me), 157.3 (NC=O), 150.3 (ArC), 149.3 (ArC), 128.6 (ArC), 122.6 (ArC), 109.6 (ArCH), 108.0 (ArCH), 104.0 (OCO), 68.4 (CH₂), 65.2 (CH₂), 64.3 (CH₂), 56.7 (CH), 56.5 (OCH₃), 56.4 (OCH₃), 55.1 (CH), 53.3 (OCH₃) ppm. CI-MS: m/z (%) = 366 ([M+H]⁺, 100), 306 ([M+H – OH₂CCH₂O]⁺, 5). Anal. Calcd. for C₁₇H₁₉NO₈ C, 55.89; H, 5.24; N, 3.83, C, 55.42; H, 5.19; N, 3.74.

Chapitre 4 : Vers une nouvelle approche synthétique de la Phthalascidine 650

4.1. Introduction

La phthalascidine 650 représente un intérêt tout particulier dû à ses activités biologiques remarquables et similaires à l'ecteinascidine 743 et à sa plus simple architecture moléculaire.^{11b,12a,13} La découverte de ce composé et de ses propriétés remarquables a été réalisée par le groupe de Corey en 1999.^{13a} La synthèse fut reportée en 2000 et fait intervenir la préparation d'un intermédiaire synthétique commun à l'obtention de l'Et 743 et de la Pt 650 (Schéma 56).

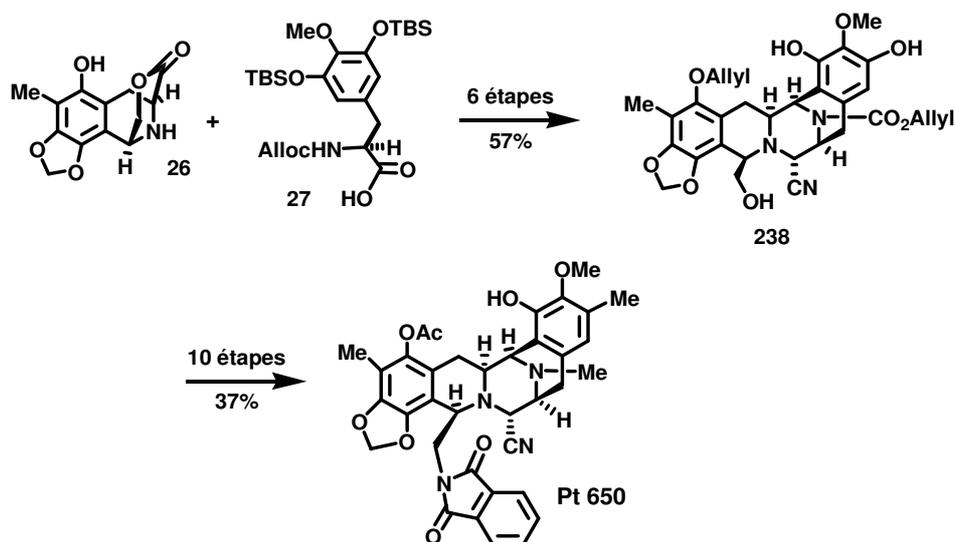


Schéma 56. Synthèse de la phthalascidine 650.^{13a}

La phthalascidine 650 est ainsi obtenue en 16 étapes à partir des précurseurs 26 et 27 avec un rendement de 22%.

Le groupe de Cuevas a aussi reporté la synthèse de la Pt 650 à partir de la cyanosafracine B¹² par fermentation de la bactérie *Pseudomonas fluorescens* en 9 étapes avec un rendement global de 14%.⁴⁰ Récemment, cette équipe a réalisé la synthèse de nouveaux composés à partir de la cyanosafracine B par modification de la chaîne latérale en C-1 et incorporation

d'un motif de type phthalimide (Schéma 57).^{14k} Ils ont aussi réalisé la synthèse de l'Et 743 à partir de la cyanosafracine B comme mentionné précédemment (Chapitre 1, Schéma 6).

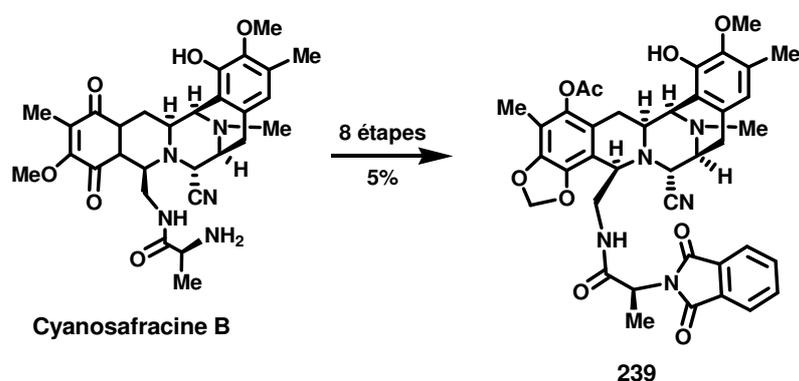


Schéma 57. Synthèse d'un analogue de la phthalascidine 650.^{14k}

Plusieurs équipes se sont aussi intéressées à la synthèse d'analogues structuraux simplifiés se rapportant aux familles des ecteinascidines et phthalascidines qui comportent un système pipérazine polycyclique.^{14,49-52}

Parmi ces exemples, nous pouvons citer les travaux de Myers qui ont conduit à la synthèse de nombreux composés polycycliques, analogues de la saframycine A, par synthèse sur support solide (Schéma 58).^{14a-c} Parmi ces composés, un dérivé de l'acide quinaldique (QAD) a montré des propriétés biologiques excellentes et supérieures comme agent inhibiteur de la prolifération des cellules cancéreuses *in vitro*.

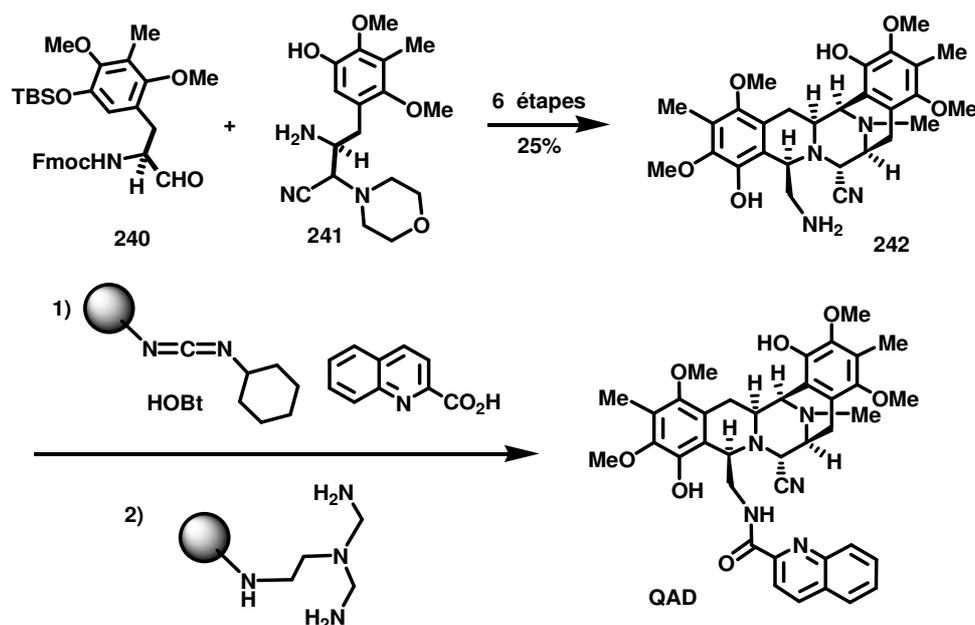


Schéma 58. Synthèse de la QAD sur support solide.^{14b}

Plus récemment, l'équipe d'Avendaño a réalisé la synthèse de dérivés de la phthalascidine reliés en position benzylique par le groupement phthalimide. Des activités biologiques notables de l'ordre du micromolaire vis-à-vis de plusieurs lignées cancéreuses ont été reportées (Schéma 59).^{14i,j,52}

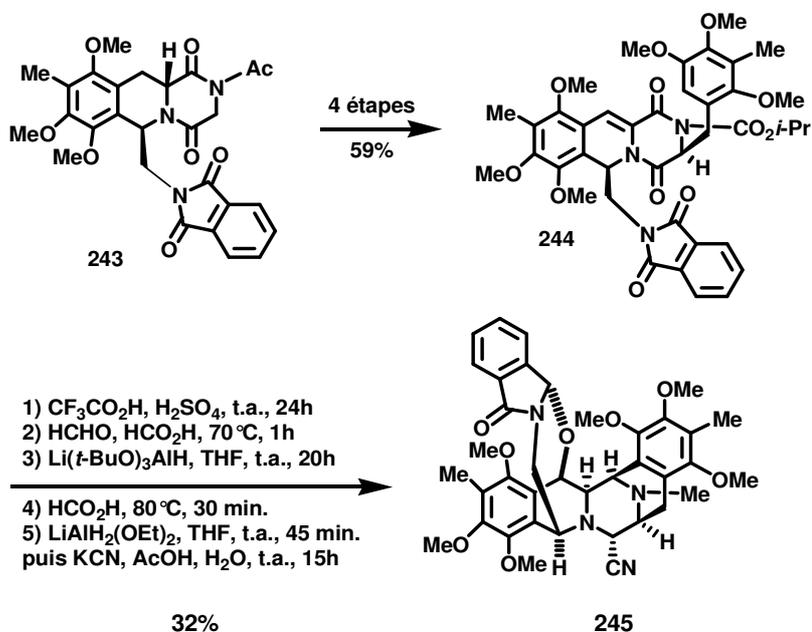


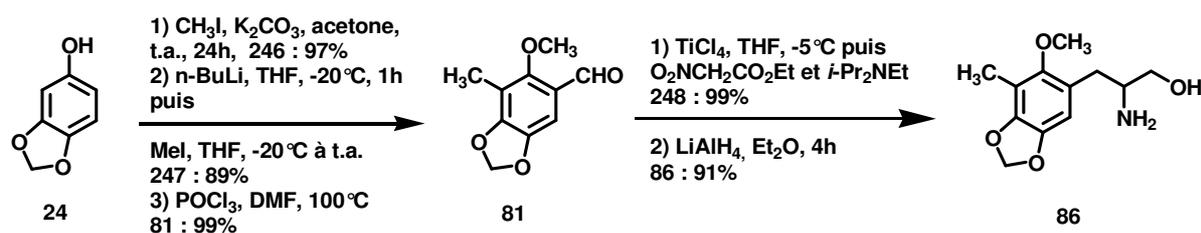
Schéma 59. Synthèse d'un analogue ponté de la Pt 650.^{14j}

Pour notre part, nous nous sommes concentrés sur la synthèse de la (\pm)-phthalascidine 650 et de certains analogues différenciés au niveau des aromatiques. Nos principaux objectifs ont été de réduire la séquence synthétique pour obtenir la (\pm)-Pt 650 et des analogues afin d'évaluer leurs propriétés biologiques.

Face aux difficultés rencontrées précédemment (épimérisation, mélange de (1,3')-bistetrahydroisoquinoléines et inversion de centres asymétriques), nous adapterons notre séquence synthétique. Pour cela, l'utilisation d'un groupement protecteur ainsi que de conditions réactionnelles (solvants, additifs) défavorisant l'épimérisation de l' α -aminoaldéhyde *N*-protégé seront envisagées.⁸⁵ De plus, la complète fonctionnalisation des noyaux aromatiques sera réalisée à partir de composés commerciaux (sésamol et 3-méthylcathécol), afin de réaliser la synthèse totale de la (\pm)-Pt 650 ainsi que l'évaluation biologique de celle-ci et des intermédiaires de synthèse.

4.2. Synthèse des précurseurs α -amino-alcools à partir de deux composés commerciaux4.2.1. Synthèse du précurseur α -amino-alcool à partir du sésamol

Nous avons choisi de partir du sésamol **24** disponible commercialement et bon marché (25g : 47.70€, Aldrich) afin d'accéder à la partie « est » de la phthalascidine 650. Après *O*-méthylation de **24** par le iodure de méthyl (MeI) dans l'acétone en présence de carbonate de potassium (K_2CO_3), le composé **246** obtenu avec 97% de rendement est ensuite *ortho*-lithié sélectivement par le *n*-BuLi dans le THF à $-20^\circ C$ entre les deux oxygènes du méthoxy et du pont méthylène dioxo, puis méthylé en présence de MeI à cette même température pour donner **247** avec un rendement de 89 % (Schéma 60). **247** est alors formylé par une réaction de Vilsmeier-Haack¹⁵⁰ en présence de $POCl_3$ dans le DMF et chauffé à $100^\circ C$ pour conduire après 90 minutes de réaction à **81** avec un rendement de 99%, obtenu par recristallisation dans le *n*-heptane. L'aldéhyde **81** est ensuite engagé dans une réaction de type Knoevenagel¹⁵¹ par condensation avec le nitroacétate d'éthyle ($O_2NCH_2CO_2Et$) dans le THF en présence de tétrachlorure de titane ($TiCl_4$) et de *i*-Pr₂NEt conduisant à un mélange de stéréoisomères (*E*)/(*Z*) de 50 : 50. Le nitroalcène correspondant **248** est ainsi obtenu avec un rendement de 99% après purification sur silice. Ce dernier est ensuite réduit par $LiAlH_4$ dans l'éther après 4 heures de réaction donnant l' α -amino-alcool correspondant **86** sous sa forme racémique avec un rendement de 91%. Cette réaction de réduction a permis à la fois de réduire les fonctions ester, nitro et alcène.

Schéma 60. Synthèse de l' α -amino-alcool **86**.

Le composé **86** sous sa forme racémique est donc obtenu en 5 étapes avec un rendement global de 77%. Il a été possible d'obtenir **86** à partir d'une centaine de grammes de **24**. De

¹⁵⁰ (a) Vilsmeier, A.; Haack, A. *Chem. Ber.* **1927**, *60*, 119; (b) Lambooy, J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 771.

¹⁵¹ (a) Knoevenagel, E. *Chem. Ber.* **1896**, *29*, 172; (b) Lehnert, W. *Tetrahedron* **1972**, *28*, 663; (c) versleijen, J. P. G.; Van Leusen, A. M.; feringa, B. L. *Tetrahedron Letters* **1999**, *40*, 5803.

plus, seulement deux étapes de purification sur silice ont été requises lors de l'étape de lithiation-méthylation et celle de Knoevenagel et n'ont pas engendré de pertes de masses importantes.

4.2.2. Synthèse du précurseur α -amino-alcool à partir du 3-méthylcatéchol

Le 3-méthylcatéchol **41** (25g : 20.70€, Aldrich) a servi de point de départ pour la synthèse de l' α -amino-alcool **76** obtenu en 8 étapes. La première est une isopropylation régiosélective menée dans des conditions préalablement décrites (Schéma 61).¹⁵² Cependant, lorsque la réaction est effectuée sur des quantités de l'ordre de 25 grammes, il semble préférable de réaliser la réaction à température ambiante et non à 100°C comme décrit. En effet ceci permet d'éviter la di-isopropylation de **41** et d'obtenir **80** avec un rendement de 69%. Le composé **80** est ensuite formylé régiosélectivement en *para* du groupement hydroxy dans les conditions de Duff en présence de tétraazatricyclo[1,1,3,3,7,7]décane ou hexaméthylènetétramine (HMTA) dans l'acide acétique à reflux pour donner l'aldéhyde **249** avec un rendement de 85%.¹⁵³ Le phénol **249** est ensuite méthylié en présence de diméthylsulfate (Me₂SO₄) dans l'acétone en présence de K₂CO₃ permettant d'obtenir **250** avec un rendement de 88%. Ensuite la réaction de Knoevenagel¹⁵¹ a été réalisée dans les mêmes conditions que décrites précédemment (Voie A : TiCl₄, O₂NCH₂CO₂Et, *i*-Pr₂NEt) pour conduire au nitro ester correspondant **251** avec un rendement de 88%. Ce rendement, plus faible en comparaison avec **248**, peut s'expliquer par la déprotection partielle du groupement *iso*-propyl en présence de TiCl₄.¹⁵² Le composé **251** est ensuite réduit en α -amino-alcool **252** par LiAlH₄ avec un rendement de 83%. La fonction isopropyle est alors soustraite en présence de BCl₃ (1.5 équivalents) à basse température. Malgré une masse correcte ([M + H]⁺), la pureté du produit obtenu ne dépasse pas les 60-70% aux vues du spectre RMN du proton. En fonction de ces résultats, nous avons substitué le groupement isopropyle par un benzyle à un stade plus avancé de notre séquence réactionnelle (Schéma 61, Voie B). Pour cela, à partir du composé **250**, la déprotection de l'isopropyle a été réalisée en présence de trichlorure d'aluminium dans CH₂Cl₂ avec un rendement de 83% en phénol **78**. Le groupement hydroxyle de **78** est ensuite alkylé en présence de bromure de benzyle (BnBr) et de K₂CO₃ dans le DMF conduisant à **253** avec un rendement de 94%. Ce dernier est ensuite engagé dans la réaction de Knoevenagel afin de donner le nitro ester **254**

¹⁵² Naoki S., Masashi T., Seki R., Sugawara Y., Takeuchi E., Kubo A. *Synth. Commun.*, **2000**, 2407.

¹⁵³ Duff, J. C. *J. Chem. Soc.* **1932**, 1987.

avec un rendement de 74%. Celui-ci est ensuite réduit par LiAlH_4 en **255** avec un rendement de 93%. La fonction benzyle de l' α -amino-alcool **255** est ensuite engagée dans des conditions d'hydrogénolyse (H_2 , 5 bar) en présence de Palladium sur charbon (Pd/C, 10%) dans un mélange $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (50 : 50) et a permis d'obtenir l' α -amino-alcool **76** désiré avec un rendement de 98% et une excellente pureté. Le composé **76** sous sa forme racémique est donc obtenu en 8 étapes avec un rendement global de 27%.

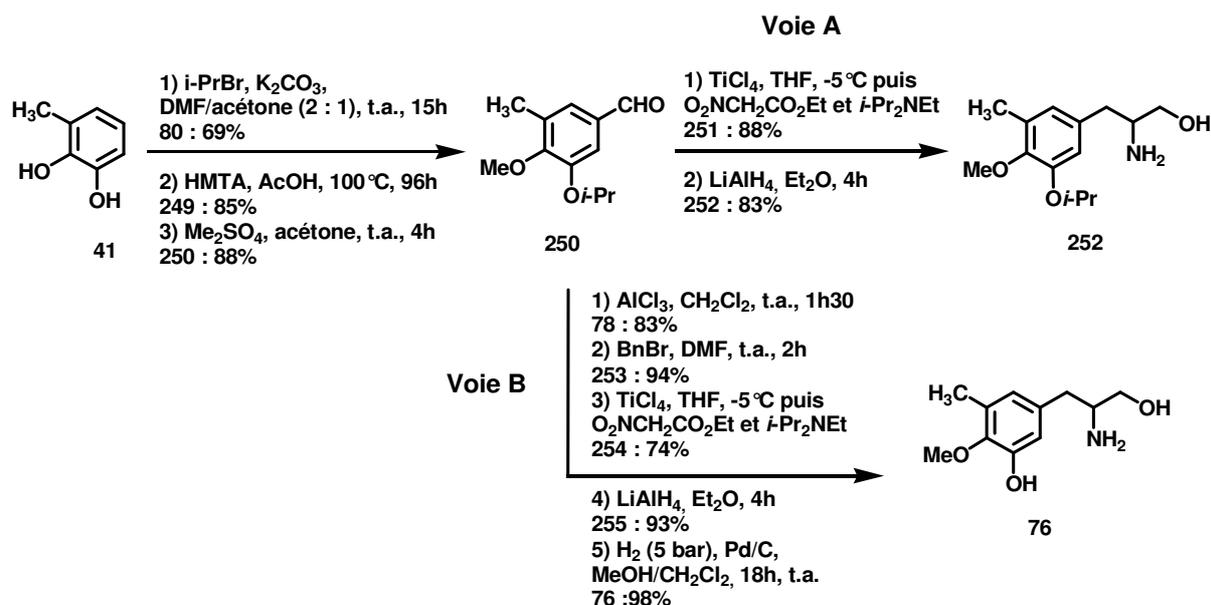


Schéma 61. Synthèse de l' α -amino-alcool **76**.

4.2.3. Synthèse d'un dérivé de type phthalimide à partir de **86**

Dans un premier temps, nous avons cherché à acyler sélectivement la fonction amine primaire par le le chlorure d'acide du phthaloyl glycine **256** préalablement synthétisé à partir de l'acide carboxylique **257** correspondant. Cette étape a permis d'obtenir l'amide incorporant la fonction alcool primaire correspondante qui a été immédiatement engagée sans purification préalable, dans une réaction de Bischler-Napieralski dans l'acétonitrile (CH_3CN) en présence de POCl_3 , pour donner de manière surprenante la dihydroisoquinoléine **258** avec un rendement de 76% après 3 heures de réaction à 90°C (Schéma 62).^{53,63,65}

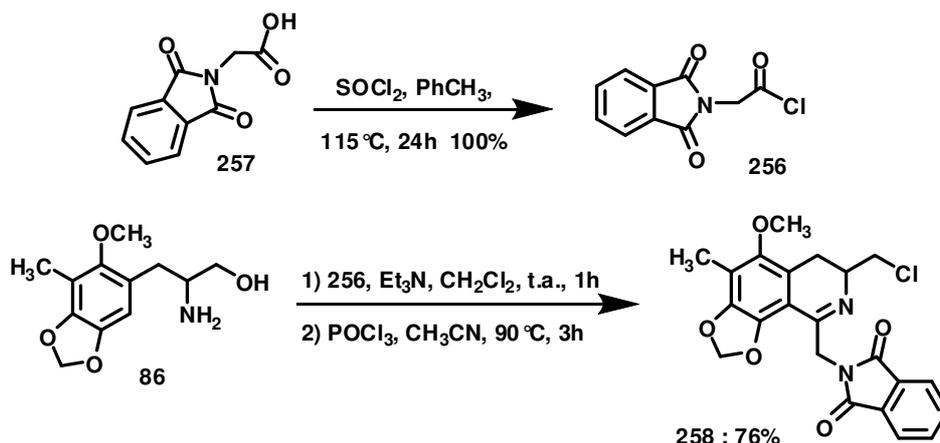


Schéma 62. Synthèse de la dihydroisoquinoléine chloré **258**.

Le spectre de masse nous a révélé la présence d'isotopes 35 et 37 d'un composé chloré qui nous a conduits à l'attribution structurale de **260**. En effet, une réaction de substitution nucléophile de type 2 (S_N2) par un ion chlorure peut être à l'origine de l'obtention du composé chloré **260**. En effet la libération de HCl au cours de la réaction de Bischler-Napieralski serait à l'origine de cette sous réaction non désirée.

Il pourrait être envisagé d'engager le composé **260** après réduction de la dihydroisoquinoléine et protection de l'amine secondaire obtenue dans une réaction de Kornblum afin d'obtenir l' α -amino-aldéhyde **261** correspondant désiré (Schéma 63).¹⁵⁴ Par manque de temps, cette synthèse n'a pu être tentée.

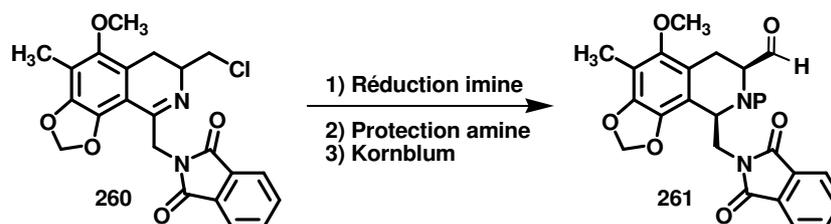


Schéma 63. Procédure synthétique envisageable de l' α -amino-aldéhyde **261**.

¹⁵⁴ (a) Kornblum, N. ; Jones, W. J.; Anderson, G. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 6562; (b) Kornblum, N. ; powers, J. W.; Anderson, G. J.; Jones, W. J.; Larson, H. O.; Levand, O.; Weaver, W. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 6562; (c) Epstein, W. W.; Sweat, F. W. *Chem. Rev.* **1967**, *67*, 247; (d) Ganem, B.; Boeckman, R. K., Jr. *Tetrahedron Lett.* **1974**, *15*, 917.

En revanche, l' α -amino-alcool **86** est engagé dans une étape d'acylation des fonctions amine et alcool toutes deux primaires avec le chlorure d'acide du phthaloyl glycine **256** (Schéma 64). Cette étape a conduit au composé **262** doublements « protégé » par un groupement de type phthaloyl dans CH_2Cl_2 en présence de NEt_3 avec un rendement de 94%. Par réaction de Bischler-Napieralski dans l'acétonitrile (CH_3CN) en présence de POCl_3 , la dihydroisoquinoléine **263** est obtenue avec un rendement de 95% après 3 heures de réaction à 90°C .^{53,63,65} Cette dernière est ensuite réduite par l'hydrogène moléculaire (H_2) en présence de 20% de Pd/C dans un mélange $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1 : 1) pour des raisons de solubilité de **263**. Cette étape permet d'obtenir la tétrahydroisoquinoléine **264** par hydrogénation diastéréosélective de la fonction imine avec un rendement de 81%. Cependant, nous observons dans le spectre du proton du brut réactionnel, la présence de l'isomère *trans* dans une proportion d'environ 2%. Néanmoins, la stéréochimie du diastéréoisomère majoritaire *cis*-**264** a été déterminée par corrélation des protons H-1 et H-3 du spectre NOESY. Le composé **264** est ensuite engagé dans une étape de transestérification dans un mélange $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1 : 1) en présence de méthylate de sodium (MeONa) conduisant à la formation de **265** avec un rendement de 63%.¹⁵⁵

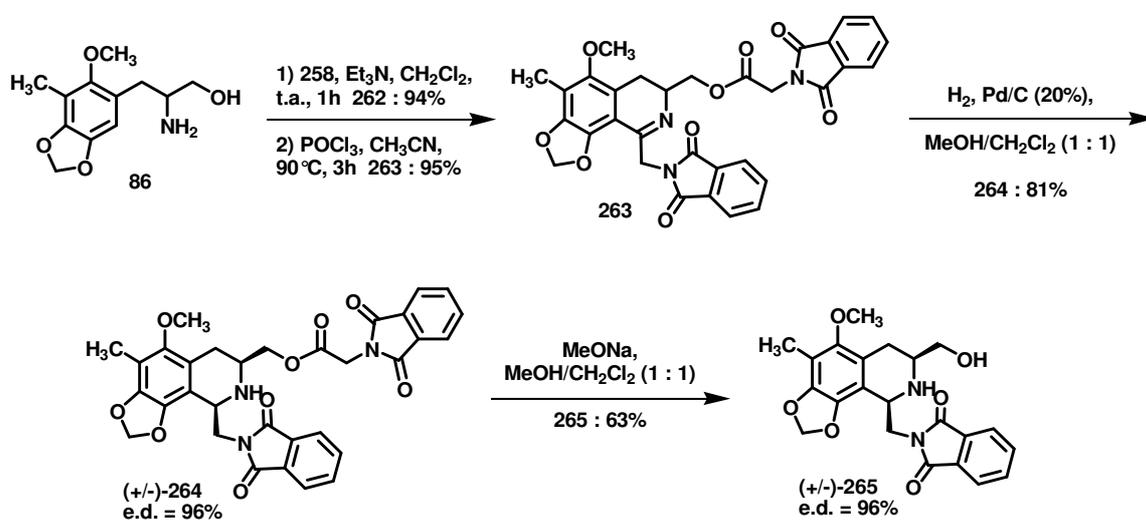


Schéma 64. Synthèse de l' α -amino-alcool **265**.¹⁵⁵

¹⁵⁵ Aubry, S.; Razafindrabe R., C.; Bourdon, B.; Pellet-Rostaing, S.; Lemaire, M. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, sous presse.

4.3. Conclusion

La synthèse des deux précurseurs α -amino-alcool **76** et **265** a donc été réalisée à partir du 3-méthylcatéchol **41** et du sésamol **24** respectivement. Le composé **76** a été synthétisé en 8 étapes à partir de **41** avec un rendement global de 27% et le dérivé phthalimide **265** en 9 étapes avec un rendement global de 35% à partir de **24**. Nous espérons pouvoir continuer et appliquer notre stratégie de synthèse développée dans le chapitre 2 par la synthèse d'un intermédiaire de type (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléine du système hexacyclique de la phthalascidine 650 (Schéma 65). La synthèse d'analogues sera envisagée dans le but d'établir des relations de type structure-activité au cours de l'évaluation biologique de nos composés.

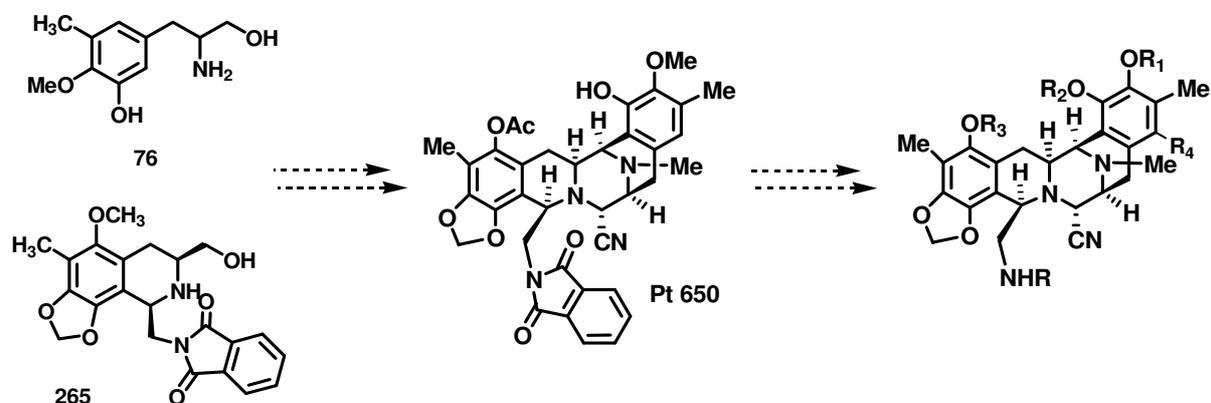


Schéma 65. Plan de synthèse de la phthalascidine 650 et de ses analogues.

4.4. Experimental section of chapter 4

5-methoxybenzo[d][1,3]dioxole 246 :¹⁵⁶ To a stirred solution of sesamol **24** (25 g, 181 mmol) contained in acetone (400 mL), under an atmosphere of argon, was added K_2CO_3 (87.5 g, 633.5 mmol) and MeI dropwise (51.3 g, 362 mmol). The mixture was then stirred at room temperature during 24 hours. After, the reaction mixture was filtered and the solid washed with Et_2O (3×100 mL). The organic layer was washed with 1.5 N HCl (50 mL), 1N NaOH (50 mL), dried over $MgSO_4$ and evaporated to **246** as a yellow oil (26.71 g, 97%), $R_f = 0.5$ (*n*-heptane/AcOEt = 7 : 3). 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) $\delta = 6.73$ (d, 1H, $J = 8.5$ Hz, ArH),

¹⁵⁶ (a) Bernet A.; Seifert, K. *Helvetica Chimica Acta* **2006**, 89, 784; (b) Hussain, H. H.; Babic, G.; Durst, T.; Wright, J. S.; Flueraru, M.; Hichirau, A.; Chepelev L. L. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 7023; (c) Aslam, S. N.; Steveson, P. C.; Phythian, S. J.; Veitch, N. C.; Hall, D. R. *Tetrahedron* **2006**, 62, 4214; (d) Schuda, P. F.; Price, W. A. *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 1972.

6.52 (d, 1H, $J = 2.5$ Hz, ArH), 6.34 (dd, 1H, $J = 8.5, 2.5$ Hz, ArH), 5.93 (s, 2H, OCH₂O), 3.76 (3H, s, OCH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) $\delta = 155.6$ (ArC), 148.7 (ArC), 142.0 (ArC), 108.3 (ArC), 105.1 (ArCH), 101.5 (CH₂), 97.9 (ArCH), 56.4 (OCH₃) ppm. EI-MS: m/z (%) = 152 [M]⁺ (100), 138 [M - CH₂]⁺ (10), 137 [M - CH₃]⁺ (84), 121 [M - OCH₃]⁺ (5), 107 [M - OCH₃ - CH₂]⁺ (36). Anal. Calcd. for C₈H₈O₃ C, 63.15; H, 5.30 %, found C, 62.52; H, 5.43 %.

5-methoxy-4-methylbenzo[d][1,3]dioxole 247 : ^{156b,51} To a solution of 2.5 M *n*-BuLi (34.98 mL, 87.78 mmol) in hexane under an inert atmosphere of argon, **246** (5.32g, 35.11 mmol) in dry THF (10 mL) was added dropwise at -20°C. The mixture was stirred for 1 hour, and then MeI (14.8 g, 105.34 mmol) contained in THF (21 mL) was added dropwise. After stirring for an additional time of 1 hour, H₂O (100 mL) was added. The mixture was then extracted with ether (3 × 100 mL). The organic layers were washed with 1N NaOH (150 mL), dried over MgSO₄ and evaporated. The crude residue was purified by flash column chromatography (silica gel, cyclohexane) **247** as colourless crystals (5.17g, 89%), m.p. 44-45°C (*n*-heptane), (lit. m.p. 39-41°C),⁵¹ $R_f = 0.7$ (*n*-heptane/AcOEt = 7 : 3). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) $\delta = 6.58$ (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, ArH), 6.25 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, ArH), 5.90 (s, 2H, OCH₂O), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 2.11 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) $\delta = 154.0$ (ArC), 147.2 (ArC), 141.5 (ArC), 109.6 (ArC), 104.8 (ArCH), 102.0 (ArCH), 101.3 (CH₂), 56.2 (OCH₃), 9.1 (CH₃) ppm. EI-MS: m/z (%) = 166 [M]⁺ (94), 151 [M - CH₃]⁺ (100), 135 [M - OCH₃]⁺ (9), 121 [M - OCH₃ - CH₂]⁺ (52). Anal. calcd. for C₉H₁₀O₃ C 65.05; H 6.07 %, found C 65.45; H 6.48 %.

6-methoxy-7-methylbenzo[d][1,3]dioxole-5-carbaldehyde 81 : ^{49a,51} POCl₃ was added dropwise at 0°C (4.2 mL, 45.2 mmol) to a stirred anhydrous DMF solution (10 mL). After stirring at room temperature for 30 min, **247** (5 g, 30.1 mmol) contained in DMF (10 mL) was slowly added and the mixture was stirred at 100°C for 3 hours. Then a saturated NaHCO₃ aqueous solution (100 mL) was added at 0°C and the aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (3×50 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, and evaporated. The residue was recrystallized from *n*-heptane to give **81** as colourless crystals (5.78 g, 99%), m.p. = 95-96°C (*n*-heptane), (lit. Mp. 74-76°C),⁵¹ (lit Mp. 82-82°C)^{49a}. $R_f = 0.3$ (cyclohexane/AcOEt = 8 : 2). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) $\delta = 10.19$ (s, 1H, CHO), 7.11 (s, 1H, ArH), 6.03 (s, 2H, OCH₂O), 3.84 (3H, s, OCH₃), 2.19 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) $\delta = 188.9$ (CHO), 160.4 (ArC), 153.0 (ArC), 144.5 (ArC), 123.5 (ArC), 114.0 (ArCH), 103.5 (ArC),

102.5 (CH₂), 64.6 (OCH₃), 9.1 (CH₃). EI-MS: m/z (%) = 194 [M]⁺ (100), 163 [M – OCH₃]⁺ (14), 148 [M – OCH₃ – CH₂]⁺ (54). Anal. calcd. for C₁₀H₁₀O₄ C 61.85; H 5.19 %, found C 62.00; H 5.25 %.

(±)-2-amino-3-(6-methoxy-7-methylbenzo[d][4,5]dioxol-5-yl)propan-1-ol 86 :¹⁵⁷ To a stirred solution of TiCl₄ (2.93 g, 15.46 mmol) in THF (10 mL), **81** (0.5 g, 2.58 mmol) in THF (4.5 mL) was added dropwise at -5°C. After stirring at room temperature for 1 hour, ethyl nitroacetate (0.595 g, 5.66 mmol) was added at -5°C. Then, the mixture was stirred for an additional time of 1h and *i*-Pr₂NEt (2.98 g, 23.17 mmol) was added. The mixture was then stirred at room temperature stirring for 24 hours and H₂O (20 mL) was added. The residue was extracted with CH₂Cl₂ (3 × 50 mL). The organic layer was washed with brine, dried over MgSO₄, evaporated and purified by flash column chromatography (silica gel, cyclohexane/AcOEt = 100 : 0 → 90 : 10) to yield a 50 : 50 mixture of (*E*) : (*Z*) isomers **248** as a yellow oil (0.79 g, 99%), *R_f* = 0.3 (cyclohexane/AcOEt = 8 : 2). Then, **248** (500 mg, 1.618 mmol) was reduced with LiAlH₄ (614.18 mg, 16.18 mmol) in Et₂O (30 mL), under an atmosphere of argon. After stirring at room temperature for 4h, CH₂Cl₂ (50 mL), H₂O (0.62 mL), 2N NaOH (0.62 mL) and H₂O (1.86 mL) were added at 0°C until a white solid appears. The mixture was then filtered and the solid washed with CH₂Cl₂ (3 × 30 mL), dried over Na₂SO₄, evaporated to yield **86** as a pale yellow oil (352 mg, 91%). ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ = 6.47 (s, 1H, ArH), 5.87 (s, 2H, OCH₂O), 4.55 (s, 1H, OH), 3.63 (s, 3H, OCH₃), 3.49 (dd, 1H, *J* = 11.0, 4.1 Hz, CH_AH_BO), 3.33 (dd, 1H, *J* = 11.0, 6.0 Hz, CH_AH_BO), 2.99 (m, 1H, CHN), 2.64 (m, 1H, CH_AH_BCHN), 2.50 (m, 1H, CH_AH_BCHN), 2.7 (br s, 2H, NH₂), 2.13 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ = 151.69 (ArC), 145.39 (ArC), 143.11 (ArC), 123.52 (ArC), 113.46 (ArC), 107.04 (ArC), 101.08(CH₂), 66.05 (CH₂), 61.01 (OCH₃), 53.98 (CH), 34.75 (CH₂), 9.47 (CH₃). ESI-MS: m/z (%) = 240 [M + H]⁺ (100), 179 [MH – H₃NCHCH₂OH]⁺(68). Anal. calcd. for C₁₂H₁₇O₄N C 60.24; H 7.16; N 5.85 %, found C 60.11; H 6.98; N 5.73 %

2-Phthalimido acetyl chloride 256 :¹⁵⁸ Under an atmosphere of argon, SOCl₂ (6.96g, 58.54 mmol) was added dropwise at 0°C to a stirred solution of *N*-Phtaloylglycine **257** (10g, 48.78

¹⁵⁷ Grosset V.; Danvy D.; Capet M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 2335.

¹⁵⁸ (a) Balenović K.; Bregant N.; Cerar D.; Tralčić M. *J. Org. Chem.* **1951**, *16*, 1308; (b) Cyril B. D.; Stanley M. R. *Arkivoc* **2000**, *vi*, 882.

mmol) in toluene (60 mL). After stirring at 115°C for 24 hours, the reaction mixture was cooled at room temperature and evaporated. The residue was diluted in toluene (60 mL) and coevaporated to yield **254** as a white solid (10.9 g, 100%), m.p. 81-82°C (lit. m.p. 84-85°C).^{158a} ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ = 7.93 (m, 2 H, ArH), 7.81 (m, 2 H, ArH), 4.85 (s, 2 H, CH₂N). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ = 169.3 (CO), 166.6 (2NCO), 135.1 (2ArCH), 131.6 (2ArC), 124.4 (2ArCH), 49.1 (CH₂). EI-MS: m/z (%) = 225 [M³⁷Cl]⁺ (4), 223 [M³⁵Cl]⁺ (12), 160 [M – COCl]⁺ (100). HRMS (EI) calcd for C₁₀H₆ClNO₃, [M³⁵Cl]⁺ 223.0036, found 223.0032.

2-(2-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)acetamido)-3-(6-methoxy-7-methylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)propyl 2-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)acetate 262 : To a stirred solution of **86** (580 mg, 2.43 mmol) in CH₂Cl₂ (42 mL) was added Et₃N (0.491 g, 4.85 mmol) and phthalylglycyl chloride (1.30 g, 5.82 mmol) at 0°C. The mixture was stirred 3 hours at room temperature. The solution was then washed with 1.5 N HCl (10 mL), aqueous Na₂CO₃ (30 mL), brine, dried over Na₂SO₄, evaporated and purified by flash column chromatography (silica gel, cyclohexane/AcOEt = 100 : 0 → 80 : 20 → 60 : 40) to yield **262** as a white solid (1.4 g, 94%), m.p. 88-90°C, *R_f* = 0.8 (AcOEt). ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ = 7.92 (m, 4H, 4ArH), 7.78 (m, 4H, 4ArH), 6.8 (d, 1H, *J* = 6.5 Hz, NH), 6.4 (s, 1H, ArH), 5.9 (s, 2H, OCH₂O), 4.56 (d, 1H, *J* = 17.4 Hz, NHCOCH_AH_BN), 4.5 (d, 1H, *J* = 17.4 Hz, NHCOCH_AH_BN), 4.34 (d, 1H, *J* = 16.4 Hz, OCOCH_AH_BN), 4.24 (d, 1H, *J* = 16.4 Hz, OCOCH_AH_BN), 4.23 (m, 2H, CH_AH_BOCOCH₂ and CH_AH_BOCOCH₂), 4.17 (m, 1H, CHN), 3.39 (s, 3H, OCH₃), 2.71 (dd, 1H, *J* = 13.9, 8.2 Hz, CH_AH_BCHN), 2.64 (dd, 1H, *J* = 13.9, 5.0 Hz, CH_AH_BCHN), 1.90 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ = 167.9 (NCO), 167.8 (CO), 167.5 (2NCO), 166.8 (2NCO), 151.4 (ArC), 146.3 (ArC), 143.8 (ArC), 134.7 (2ArCH), 134.6 (2ArCH), 132.6 (2ArC), 132.4 (2ArC), 124.1 (2ArCH), 124.0 (2ArCH), 121.8 (ArC), 113.7 (ArC), 107.7 (ArCH), 101.6 (OCH₂O), 65.7 (CH₂), 61.0 (OCH₃), 51.2 (CH), 41.3 (CH₂), 39.3 (CH₂), 32.0 (CH₂), 9.5 (CH₃). ESI-MS: m/z (%) = 636 [M + Na]⁺ (64), 614 [M + H]⁺ (100). HRMS (ESI) calcd. for C₃₂H₂₇O₁₀N₃Na [M + Na]⁺ 636.1594, found 636.1592. Anal. calcd. for C₃₂H₂₇N₃O₁₀: C 62.64; H 4.44; N 6.85 %, found C 62.34; H 4.59; N 6.58 %.

(9-((1,3-dioxoisindolin-2-yl)methyl)-5-methoxy-4-methyl-6,7-dihydro-[1,3]dioxolo[4,5-h]isoquinolin-7-yl)methyl 2-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)acetate 263 : To a solution of **262** (1.30 g, 2.12 mmol) in CH₃CN (2.62 mL) was added dropwise POCl₃ (0.975 g, 6.36 mmol) at

0°C and stirred and heated at 90°C for 3 hours. After, the reaction mixture was neutralized with a saturated Na₂CO₃ aqueous solution (15 mL) at 0°C and the aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (3 × 50 mL). The organic layer was dried over Na₂SO₄, evaporated and purified by flash column chromatography (silica gel, cyclohexane/AcOEt = 50 : 50 → 0 : 100) to yield **263** as a white solid (1.19 g, 95 %), m.p. 110-112°C, *R_f* = 0.4 (*n*-heptane/AcOEt = 1 : 1). ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ = 7.92 (m, 2H, *J* = 5.4, 3.0 Hz, 2ArH), 7.89 (m, 2H, *J* = 5.4, 3.0 Hz, 2ArH), 7.76 (m, 4H, 4ArH), 6.07 (d, 2H, *J* = 16.2 Hz, OCH₂O), 5.13 (dd, 1H, *J* = 17.6, 2.8 Hz, NCCH_AH_BN), 4.78 (d, 1H, *J* = 17.7 Hz, NCCH_AH_BN), 4.42 (d, 1H, *J* = 17.7 Hz, OCOCH_AH_BN), 4.35 (d, 1H, *J* = 17.4 Hz, OCOCH_AH_BN), 4.29 (m, 1H, *J* = 10.7, 4.7 Hz, CH_AH_BOCOCH₂), 4.12 (m, 1H, *J* = 10.7, 8.0 Hz, CH_AH_BOCOCH₂), 3.67 (s, 3H, CH₃), 3.57 (m, 1H, CHN), 2.93 (d, 1H, *J* = 15.8, 5.0 Hz, CH_AH_BCHN), 2.28 (m, 1H, CH_AH_BCHN), 2.23 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ = 168.9 (CO), 167.7 (4NCO), 167.3 (CN), 150.4 (ArC), 146.2 (ArC), 141.8 (ArC), 134.6 (2ArCH), 134.2 (2ArCH), 132.8 (2ArC), 132.4 (2ArC), 124.0 (2ArCH), 123.7 (2ArCH), 121.0 (ArC), 119.3 (ArC), 115.9 (ArC), 102.0 (OCH₂O), 68.9 (CH₂), 61.2 (OCH₃), 55.5 (CH), 43.5 (CH₂), 39.1 (CH₂), 22.7 (CH₂), 9.9 (CH₃). ESI-MS: *m/z* (%) = 596 [M + H]⁺ (100). HRMS (ESI) calcd. for C₃₂H₂₆O₉N₃ [M + H]⁺ 596.1669, found 596.1670. Anal. calcd. for C₃₂H₂₅N₃O₉·0.15CH₂Cl₂: C 63.27; H 4.19; N 6.89 %, found C 63.05; H 4.27; N 6.77 %.

(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-acetic acid 9-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-ylmethyl)-5-methoxy-4-methyl-6,7,8,9-tetrahydro-[1,3]dioxolo[4,5-h]isoquinolin-7-ylmethyl ester 264 : A mixture of dihydroisoquinoline **263** (1 g, 1.68 mmol) and 10% Pd/C (0.358 mg, 0.337 mmol) in MeOH/CH₂Cl₂ (1 : 1, 50 mL) was stirred for 24 hours at room temperature under H₂ atmosphere (10 bars). Then, the residue was filtered through Celite, and dried over Na₂SO₄, evaporated and purified by flash column chromatography (silica gel, cyclohexane/ethyl acetate = 70 : 30) to yield **264** as a colourless solid (0.812 g, 81 %), m.p. 180°C, *R_f* = 0.3 (*n*-heptane/AcOEt = 1 : 1). ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ = 7.91 (m, 4H, 4ArH), 7.78 (m, 2H, *J* = 5.5, 3.0 Hz, 2ArH), 7.75 (m, 2H, *J* = 5.5, 3.0 Hz, 2ArH), 5.92 (s, 1H, OCH_ACH_BO), 5.88 (s, 1H, OCH_ACH_BO), 4.60 (m, 1H, CHCH₂N), 4.52 (s, 1H, OCOCH_ACH_BN), 4.51 (s, 1H, OCOCH_ACH_BN), 4.45 (dd, 1H, *J* = 14.0, 4.3 Hz, CHCH_AH_BN), 4.23 (m, 2H, CH_AH_BOCOCH₂ and CH_AH_BOCOCH₂), 3.86 (dd, 1H, *J* = 14.0, 8.9 Hz, CHCH_AH_BN), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 2.96 (m, 1H, CHN), 2.87 (dd, 1H, *J* = 15.6, 2.8 Hz, CH_AH_BCHN), 2.35 (m, 1H, CH_ACH_BCHN), 2.17 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 125

MHz) δ = 169.2 (CO), 167.8 (2NCO), 167.6 (2NCO), 151.3 (ArC), 144.9 (ArC), 140.0 (ArC), 134.7 (2ArCH), 134.6 (2ArCH), 132.5 (2ArC), 132.4 (2ArC), 124.0 (2ArCH), 123.0 (2ArCH), 121.4 (ArC), 115.4 (ArC), 112.6 (ArC), 101.4 (OCH₂O), 69.4 (CH₂), 60.9 (OCH₃), 52.6 (CH), 51.7 (CH), 42.7 (CH₂), 39.3 (CH₂), 27.1 (CH₂), 9.5 (CH₃); ESI-MS: m/z (%) = 598 [M+H]⁺ (100). HRMS (ESI) calcd. for C₃₂H₂₇N₃O₉ [M+H]⁺ 598.1826, found 598.1825. Anal. calcd. for C₃₂H₂₇N₃O₉. 0.4H₂O: C 63.55; H 4.64; N 6.95 %, found C 63.29; H 4.69; N 6.45 %.

2-(7-Hydroxymethyl-5-methoxy-4-methyl-6,7,8,9-tetrahydro-[1,3]dioxolo[4,5-

h]isoquinolin-9-ylmethyl)-isoindole-1,3-dione 265 : A solution of tetrahydroisoquinoline **264** (200 mg, 0.335 mmol) and MeONa (36 mg, 0.67 mmol) in MeOH/CH₂Cl₂ (1 : 1, 8 mL) was stirred overnight at room temperature. The mixture was then diluted in CH₂Cl₂ (20 mL), washed with brine, and dried over Na₂SO₄, evaporated and purified by filtration to yield **265** (86 mg, 63%), m.p. 215°C, R_f = 0.8 (MeOH/CH₂Cl₂ : 1 : 60). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ = 7.87 (dd, 2H, J = 5.4, 3.2 Hz, 2ArH), 7.75 (dd, 2H, J = 5.4, 3.2 Hz, 2ArH), 5.94 (s, 1H, OCH_AH_BO), 5.93 (s, 1H, OCH_AH_BO), 4.58 (m, 1H, CHCH₂N), 4.51 (dd, 1H, J = 13.9, 3.8 Hz, CHCH_AH_BN), 3.90 (dd, 1H, J = 13.9, 9.4 Hz, CHCH_AH_BN), 3.77 (dd, 1H, J = 11.0, 3.4 Hz, CH_AH_BOH), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.52 (dd, 1H, J = 11.0, 7.9 Hz, CH_AH_BOH), 2.91 (m, 1H, CH₂CHN), 2.84 (dd, 1H, J = 16.0, 3.2 Hz, CH_AH_BCHN), 2.49 (br, 2H, NH, OH), 2.4 (dd, 1H, J = 16.0, 11.7 Hz, CH_AH_BCHN), 2.18 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ = 169.2 (2C, NCO), 151.3 (ArC), 144.9 (ArC), 140.0 (ArC), 134.4 (2ArCH), 132.4 (2ArC), 123.8 (2ArCH), 121.6 (ArC), 115.1 (ArC), 112.8 (ArC), 101.5 (CH₂), 66.0 (CH₂OH), 60.8 (OCH₃), 54.9 (CH), 52.8 (CH), 42.5 (CH₂), 26.3 (CH₂), 9.5 (CH₃). ESI-MS: m/z (%) = 411 [M+H]⁺ (100). HRMS (ESI) calcd. for C₂₂H₂₂N₂O₆ [M+H]⁺ 411.1556, found 411.1556. Anal. calcd. for C₂₂H₂₂N₂O₆. 0.15CH₂Cl₂: C 62.86; H 5.32; N 6.62 %, found C 62.51; H 5.39; N 6.40 %.

2-((7-(chloromethyl)-5-methoxy-4-methyl-6,7-dihydro-[1,3]dioxolo[4,5-h]isoquinolin-9-

yl)methyl)isoindoline-1,3-dione 258 : A solution of **256** (0.206 g, 0.921 mmol) contained in CH₂Cl₂ (4 mL) was slowly added to a stirred solution of **86** (200 mg, 0.837 mmol) in CH₂Cl₂ (8 mL) and Et₃N (0.093 g, 0.921 mmol) at 0°C. The mixture was stirred 1 hour at room temperature. The solution was then washed with 1.5 N HCl (10 mL), and Na₂CO₃ (30 mL), brine, dried over Na₂SO₄ and evaporated. The crude reaction mixture was then engaged directly in a Bischler-Napieralski reaction. Then, CH₃CN (1 mL) and POCl₃ (0.385 g, 2.51

mmol) were added to this intermediate. After 3 hours of heating at 90°C, the reaction mixture was neutralized with a saturated solution of Na₂CO₃ (20 mL) at 0°C and the aqueous layer extracted with CH₂Cl₂ (3 × 20 mL). The organic layer was dried with Na₂SO₄, evaporated and purified by flash column chromatography (silica gel, cyclohexane/AcOEt = 80 : 20 → 0 : 100) to yield **258** as a white solid (271 mg, 76 %), m.p. 180-182°C, *R_f* = 0.8 (cyclohexane/AcOEt = 50 : 50). ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ = 7.89 (dd, 2H, *J* = 5.4, 2.8 Hz, 2ArH), 7.75 (dd, 2H, *J* = 5.4, 3.2 Hz, 2ArH), 6.06 (s, 2H, OCH₂O), 5.04 (dd, 1H, *J* = 18.0, 2.8 Hz, CCH_AH_BN), 4.81 (dd, 1H, *J* = 18.0, 1.9 Hz, CCH_AH_BN), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.63 (dd, 1H, *J* = 10.5, 4.1 Hz, CH_AH_BCl), 3.59 (m, 1H, CHN), 3.38 (dd, 1H, *J* = 10.5, 8.5 Hz, CH_AH_BCl), 3.01 (dd, 1H, *J* = 16.1, 5.0 Hz, CH_AH_BCHN), 2.43 (dd, 1H, *J* = 16.1, 11.7 Hz, CH_AH_BCHN), 2.19 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ = 168.87 (2NCO), 157.6 (CN), 150.6 (ArC), 146.2 (ArC), 140.7 (ArC), 134.2 (2ArCH), 132.90 (2ArC), 123.7 (2ArCH), 121.0 (ArC), 117.6 (ArC), 108.2 (ArC), 102.0 (CH₂), 61.3 (OCH₃), 58.2 (CH), 47.8 (CH₂), 43.5 (CH₂), 22.9 (CH₂), 9.9 (CH₃). ESI-MS: *m/z* (%) = 429 [M³⁷Cl + H]⁺ (37), 427 [M³⁵Cl + H]⁺ (100). HRMS (EI) calcd. for C₂₂H₁₉ClN₂O₅ [M]⁺ 426.0982, found 426.0979.

2-isopropoxy-6-methylphenol 80 :¹⁵² To a solution of 3-methylcatechol **41** (25 g, 201.66 mmol) and K₂CO₃ (64.4 g, 443.65 mmol) in DMF (1200 mL) and acetone (600 mL) was added dropwise *iso*-propyl bromide (41.4 mL, 443.65 mmol). After stirring at room temperature for 15 hours, the reaction mixture was filtered and the solid washed with Et₂O (3×100 mL). The organic layer was washed with 1.5 N HCl (300 mL). The residue was extracted with diethyl ether (3×200 mL), dried over MgSO₄, evaporated and purified by flash column chromatography (silica gel, cyclohexane) to **80** in 69% yield (23.77 g), *R_f* = 0.5 (cyclohexane/AcOEt = 9 : 1); ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ = 6.60 (s, 3H, ArH), 5.74 (s, 1H, OH), 4.42 (sept, 1H, *J* = 6.1 Hz CH(CH₃)₂), 2.16 (s, 3H, CH₃), 1.23 (d, 6H, *J* = 6.1 Hz CH(CH₃)₂). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ = 145.2 (ArC), 141.7 (ArC), 124.5 (CH₃), 123.5 (ArCH), 119.5 (ArCH), 111.3 (ArCH), 72.0 (CH(CH₃)₂), 22.7 (CH(CH₃)₂), 16.0 (CH₃). ESI-MS: *m/z* (%) = 166 [M]⁺ (20), 124 [M - C₃H₆]⁺ (100), 123 [M - C₃H₇]⁺ (30), 78 [C₆H₆]⁺ (34), 77 [C₆H₅]⁺ (15). Anal. calcd. for C₁₀H₁₄O₂ C 72.26; H 8.49 %, found C, 71.89; H, 8.42%.

4-hydroxy-3-isopropoxy-5-methylbenzaldehyde 249 : A solution of **80** (5 g, 30.12 mmol) in AcOH (150 mL) and HMTA (10.54 g, 75.3 mmol) was stirred at 100°C for 96 hours. After this period, the solution was cooled and a saturated solution of NaHCO₃ was added. The

aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3×50 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 , evaporated and purified by flash column chromatography (silica gel, cyclohexane) to give **249** in 85% yield (4.97 g), $R_f = 0.3$ (cyclohexane/AcOEt = 9 : 1). ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) $\delta = 9.77$ (s, 1H, CHO), 7.26 (s, 1H, ArH), 7.25 (s, 1H, ArH), 6.32 (s, 1H, OH), 4.68 (sept, 1H, $J = 6.0$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.31 (s, 3H, CH_3), 1.38 (d, 6H, $J = 6.0$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) $\delta = 191.6$ (CHO), 151.0 (ArC), 145.1 (ArC), 129.1 (ArCH), 128.8 (ArCH), 124.5 (ArC), 109.3 (ArC), 72.3 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 22.4 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 15.8 (CH_3). ESI-MS: m/z (%) = 194 $[\text{M}]^+$ (27), 152 $[\text{M} - \text{C}_3\text{H}_6]^+$ (82), 151 $[\text{M} - \text{C}_3\text{H}_7]^+$ (100). Anal. calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_3$ C 68.02; H 7.27 %, found C 68.07; H 7.37 %.

3-isopropoxy-4-methoxy-5-methylbenzaldehyde 250 : To a solution of **249** (38.1 g, 0.196 mmol) was added K_2CO_3 (81.4 g, 0.589 mmol) in acetone (212 mL) and Me_2SO_4 (49.5 g, 0.393 mmol) dropwise. After stirring at room temperature for 4 hours, the reaction mixture was filtered and the solid washed with Et_2O . The organic layer was washed with a 1.5 N HCl solution (180 mL) and 1 N NaOH solution (200 mL). Then, the residue was extracted with Et_2O , dried over MgSO_4 , evaporated and purified by flash column chromatography (silica gel, cyclohexane/AcOEt = 100 : 2 \rightarrow 95 : 5) to yield **250** as a pale yellow oil (35.8 g, 88%), $R_f = 0.6$ (cyclohexane/AcOEt = 9 : 1). ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) $\delta = 9.75$ (s, 1H, CHO), 7.20 (s, 1H, ArH), 7.19 (s, 1H, ArH), 4.56 (sept, 1H, $J = 6.0$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3.82 (s, 3H, OCH_3), 2.22 (s, 3H, CH_3), 1.31 (d, 6H, $J = 6.0$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) $\delta = 191.8$ (CHO), 154.2 (ArC), 151.5 (ArC), 133.0 (ArCH), 132.3 (ArCH), 127.1 (ArC), 112.1 (ArC), 71.2 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 60.5 (OCH_3), 22.4 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 16.4 (CH_3). EI-MS: m/z (%) = 208 $[\text{M}]^+$ (36), 166 $[\text{M} - \text{C}_3\text{H}_6]^+$ (100), 165 $[\text{M} - \text{C}_3\text{H}_7]^+$ (56), 151 $[\text{M} - \text{CH}_3 - \text{C}_3\text{H}_6]^+$ (30), 123 $[\text{M} - \text{C}_3\text{H}_6 - \text{CH}_3 - \text{CO}]^+$ (22). Anal. calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_3$ C 69.21; H 7.74 %, found C 69.03; H 7.93 %.

2-amino-3-(3-isopropoxy-4-methoxy-5-methylphenyl)propan-1-ol 252 : To a stirred solution of TiCl_4 (4.1 g, 21.6 mmol) in THF (28 mL), **250** (1.0 g, 4.81 mmol) in THF (17 mL) was added dropwise at 0°C . After stirring at room temperature for 1 hour, ethyl nitroacetate (1.41 g, 10.58 mmol) was added at 0°C . Then, the mixture was stirred for an additional time of 1 hour and $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$ (5.67 g, 43.27 mmol) was added. The mixture was then stirred at room temperature stirring for 24 hours and H_2O (40 mL) was added. The residue was extracted with CH_2Cl_2 (3×80 mL). The organic layer was washed with brine, dried over Na_2SO_4 , evaporated

and purified by flash column chromatography (silica gel, cyclohexane/AcOEt = 95 : 5 → 90 : 10) to yield a 50 : 50 mixture of (*E*)/(*Z*) isomers **251** as a yellow oil (1.30 g, 88 %), $R_f = 0.6$ (cyclohexane/AcOEt = 9 : 1). Then, **251** (1 g, 3.26 mmol) was reduced with LiAlH₄ (1.24 g, 32.6 mol) in Et₂O (60 mL), under an atmosphere of argon. After stirring at room temperature for 4h, CH₂Cl₂ (60 mL), H₂O (1.3 mL), 2N NaOH (1.3 mL) and H₂O (3.9 mL) were added at 0°C until a white solid appears. The mixture was then filtered and the solid was washed with CH₂Cl₂ (3×30 mL), dried over Na₂SO₄, evaporated to yield **252** as a pale yellow oil (684 mg, 83 %). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 6.60$ (s, 1H, ArH), 6.59 (s, 1H, ArH), 4.53 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.63 (dd, 1H, $J = 10.7, 3.7$ Hz, CH_AH_BOH), 3.40 (dd, 1H, $J = 10.7, 7.0$ Hz, CH_AH_BOH), 3.09 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 2.9 (t, 1H, $J = 7.0$ Hz, OH), 2.64 (m, 1H, CH_AH_BCHN), 2.50 (m, 1H, CH_AH_BCHN), 2.7 (br s, 2H, NH₂), 2.23 (s, 3H, CH₃), 1.3 (d, 6H, $J = 6.1$ Hz, CH(CH₃)₂). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) $\delta = 151.0$ (ArC), 147.5 (ArC), 134.0 (ArC), 132.4 (ArC), 123.6 (ArCH), 114.7 (ArCH), 71.2 (CH(CH₃)₂), 66.6 (CH₂), 60.3 (OCH₃), 54.7 (CH), 40.8 (CH₂), 22.6 (2CH₃), 16.3 (CH₃). ESI-MS: m/z (%) = 254 [M + H]⁺ (100), 193 [M + H - H₃NCHCH₂OH]⁺ (24). HRMS (EI) calcd. for C₁₄H₂₄O₃N [M]⁺ 253.1678, found 253.1675. Anal. calcd. for C₁₄H₂₃NO₃: C 66.37, H 9.15, N 5.53 %, found C 66.05, H 9.05, N 4.37 %.

3-hydroxy-4-methoxy-5-methylbenzaldehyde 78 : To a stirred solution of **251** (1 g, 4.81 mmol) in CH₂Cl₂ (18.4 mL) was added AlCl₃ (1.85 g, 13.94 mmol) at room temperature. After stirring for 90 minutes, the reaction mixture was hydrolyzed by NH₄Cl (50 ml) and the aqueous layer extracted with CH₂Cl₂ (3 × 50 mL). Then, the organic layer was dried with MgSO₄, evaporated and purified by flash column chromatography (silica gel, cyclohexane/AcOEt = 90 : 10 → 80 : 20) to yield **78** as pale yellow oil (0.666 g, 83%), $R_f = 0.4$ (cyclohexane/AcOEt = 8 : 2). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) $\delta = 9.76$ (s, 1H, CHO), 7.25 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, ArH), 7.20 (m, 1H, $J = 2.0$ Hz, ArH), 6.10 (s, 1H, OH), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 2.29 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) $\delta = 192.13$ (CHO), 151.29 (ArC), 149.99 (ArC), 133.23 (ArC), 132.11 (ArC), 125.68 (ArCH), 114.31 (ArCH), 61.09 (OCH₃), 16.48 (CH₃). EI-MS: m/z (%) = 166 [M]⁺ (100), 151 [M - CH₃]⁺ (21), 123 [M - CH₃CO]⁺ (60). Anal. calcd. for C₉H₁₀O₃ C, 65.05; H, 6.07 %, found C, 65.00; H, 6.15 %.

3-(benzyloxy)-4-methoxy-5-methylbenzaldehyde 253 : To a solution of **78** (600 mg, 3.61 mmol) was added K₂CO₃ (1.5 g, 10.84 mmol) in DMF (12 mL) and BnBr (680 mg, 3.97

mmol). After stirring at room temperature for 2 h, the reaction mixture was filtered and the solid washed with Et₂O (100 mL). The organic layer was washed with a 1.5 N HCl solution (20 mL). Then, the residue was extracted with Et₂O (3 × 50 mL), dried over MgSO₄, evaporated and purified by flash column chromatography (silica gel, cyclohexane/ethyl acetate = 8 : 2) to yield **253** as an orange oil (870 mg, 94%). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ = 9.75 (s, 1H, CHO), 7.45 (m, 5H, ArH), 7.33 (m, 2H, ArH), 5.16 (s, 2H, CH₂Ph), 3.93 (s, 3H, OCH₃), 2.34 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ = 191.8 (CHO), 153.7 (ArCO), 152.7 (ArCO), 136.8 (2C, ArC), 133.0 (ArC), 132.4 (ArCH), 129.0 (ArCH), 128.5 (ArCH), 127.8 (ArCH), 127.7 (ArCH), 111.0 (ArCH), 71.1 (CH₂), 60.8 (OCH₃), 16.5 (CH₃). EI-MS: m/z (%) = 256 [M]⁺ (5), 228 [M - CO]⁺ (4), 165 [M - CH₂C₆H₅]⁺ (3), [C₆H₅CH₂]⁺ (100).

2-amino-3-(3-(benzyloxy)-4-methoxy-5-methylphenyl)propan-1-ol 255 : To a stirred solution of TiCl₄ (2.66 g, 14.04 mmol) in THF (9 mL) was added dropwise at -5°C **251** (0.6 g, 2.34 mmol) contained in THF (4.1 mL). After stirring at room temperature for 30 minutes, ethyl nitroacetate (0.685 g, 5.15 mmol) was added at -5°C. Then, the mixture was stirred for an additional time of 30 minutes and *i*-Pr₂NEt (2.76 g, 21.09 mmol) was added. The mixture was then stirred at room temperature stirring for 24 hours and H₂O (20 mL) was added. The residue was extracted with CH₂Cl₂ (3×50 mL). The organic layer was washed with brine, dried over MgSO₄, evaporated and purified by flash column chromatography (SiO₂, cyclohexane/AcOEt = 100 : 0 → 90 : 10) to yield a 40 : 60 mixture of **254** as a yellow oil (0.64 g, 74 %). Nitroesters **254** (0.2 g, 0.539 mmol) was then reduced with LiAlH₄ (0.205 g, 5.39 mmol) in a stirred solution of Et₂O (12 mL), under an atmosphere of argon. After stirring at room temperature for 4 hours, CH₂Cl₂ (25 mL), H₂O (0.2 mL), 2N NaOH (0.2 mL) and H₂O (0.6 mL) were added at 0°C until a white solid appears. The mixture was then filtered and the solid washed with CH₂Cl₂ (3 × 30 mL), dried over Na₂SO₄, evaporated to yield **255** as a pale yellow oil (151 mg, 93%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 7.48 (d, 2H, *J* = 7.3 Hz, ArH), 7.42 (m, 2H, ArH), 7.35 (m, 1H, *J* = 7.3 Hz, ArH), 6.66 (s, 1H, ArH), 6.65 (s, 1H, ArH), 5.14 (s, 2H, CH₂), 3.87 (s, 3H, CH₃), 3.61 (dd, 1H, *J* = 10.8, 3.8 Hz, CH_AH_BOH), 3.38 (dd, 1H, *J* = 10.8, 7.0 Hz, CH_AH_BOH), 3.08 (m, 1H, CHN), 2.94 (m, 1H, OH), 2.70 (dd, 1H, *J* = 13.6, 5.1 Hz, CH_AH_BCHN), 2.43 (m, 1H, CH_AH_BCHN), 2.29 (s, 3H, CH₃), 2.26 (br s, 2H, NH₂). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ = 152.0 (ArCO), 147.0 (ArCO), 137.6 (ArC), 134.3 (ArC), 132.5 (ArC), 128.9 (2C, ArCH), 128.3 (ArCH), 127.7 (2C, ArCH), 124.3 (ArCH), 113.5 (ArCH), 71.1 (CH₂), 66.7 (CH₂), 60.6 (OCH₃), 54.5 (CH), 40.9 (CH₂), 16.3 (CH₃). ESI-

MS: m/z (%) = 302 $[M + H]^+$ (100), 272 $[M + H - CH_3OH]^+$ (21), 241 $[M + H - H_3NCHCH_2OH]^+$ (13). HRMS (ESI) calcd. for $C_{18}H_{23}NO_3Na$ $[M+Na]^+$ 324.1576, found 324.1577.

(±)-5-(2-amino-3-hydroxypropyl)-2-methoxy-3-methylphenol 76 : A mixture of **255** (0.16 g, 0.532 mmol) and 10% Pd/C (64 mg), in 1 : 1 mixture of MeOH/CH₂Cl₂ (9 mL), was stirred overnight at room temperature under 5 bars of H₂ atmosphere. After the catalyst was filtered, washed with MeOH and dried over Na₂SO₄ and evaporated. to give **76** as a colourless oil (110 mg, 98%). ¹H NMR (MeOD, 500 MHz) δ = 6.65 (d, 1H, J = 1.4 Hz, ArH), 6.59 (d, 1H, J = 1.4 Hz, ArH), 4.93 (s, 4H, NH₂ and 2 OH), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.71 (m, 1H, OCH_AH_BOH), 3.53 (dd, 1H, J = 11.7, 6.3 Hz, OCH_AH_BOH), 3.39 (m, 1H, CHN), 2.79 (d, 2H, J = 7.6 Hz, CH₂CHN), 2.25 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (MeOH, 125 MHz) δ = 150.4 (ArCO), 145.5 (ArCO), 132.1 (ArC), 132.0 (ArC), 122.5 (ArH), 115.0 (ArH), 60.9 (CH₂), 59.4 (OCH₃), 54.8 (CH), 35.3 (CH₂), 15.0 (CH₃). ESI-MS: m/z (%) = 212 $[M + H]^+$ (100), 151 $[M + H - H_3NCHCH_2OH]^+$ (40). HRMS (EI) calcd. for $C_{11}H_{17}O_3N$ $[M]^+$ 211.1208, found 212.1207.

Conclusion générale

La stratégie de synthèse de la phtahalascidine 650 utilisée dans ce travail a pour avantage d'obtenir plusieurs séries de composés qui comportent des activités biologiques potentielles, qui ont été testées ou sont en cours de test sur plusieurs cibles.

Dans un premier temps, la synthèse de tétrahydroisoquinoléines, de (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléines et de systèmes pipérazines pentacycliques incorporant une fonction α -aminonitrile permettant l'alkylation de l'ADN a été réalisée. La réaction de Pictet-Spengler et un couplage peptidique intramoléculaire ont représenté les deux étapes clés pour l'obtention de ces pentacycles. Ces composés ont été caractérisés par RMN et les structures déterminées par analyses aux rayons X. Cette série de composés a montré des activités anticancéreuses encourageantes à la suite de tests biologiques effectués au « Centre for Molecular Drug Design » sous la supervision du Professeure Sylvie Ducki à l'Université de Salford. En absence de complète fonctionnalisation des noyaux aromatiques, nos composés ont engendré l'inhibition de la prolifération de cellules cancéreuses dans des concentrations de l'ordre du micromolaire et comportent un caractère d'agent interférent de l'ADN comme démontré au cours des analyses de cytométrie en flux du cycle cellulaire.

Dans un deuxième temps, l'exploration d'une méthode synthétique permettant l'accès à des composés dérivés de la L-DOPA et comportant un substituant en position benzylique a été étudiée. Pour réaliser cette étape de fonctionnalisation, l'utilisation d'une réaction de substitution nucléophile oxydante en présence de DDQ a été mise au point, notamment pour la synthèse d'une série de plusieurs composés analogues de la syncarpamide qui comportent des activités potentielles comme agent antipaludéen. De plus, à partir d'un composé correctement fonctionnalisé et comportant une cétone prochirale en position benzylique, la synthèse de tétrahydroisoquinoléines fonctionnalisées, analogues des azapodophylotoxines et précurseurs synthétiques pour la synthèse d'analogues des ecteinascidines a été réalisée. Enfin, l'incorporation d'un dérivé soufré par substitution nucléophile d'un alcool secondaire en milieu acide a été testé avec succès. Cette voie de synthèse représente ainsi un nouveau mode d'accès pour la fonctionnalisation de la position benzylique par un dérivé de type cystéinique contenu dans l'Et 743.

Conclusion générale

Dans une dernière partie, la synthèse de deux précurseurs de type α -amino-alcool à partir de deux composés disponibles commercialement a été envisagée. En effet, l' α -amino-alcool phénolique **76** a été obtenu en 8 étapes avec un rendement global de 27%, alors que le dérivé α -amino-alcool **265** incorporant un phthalimide a été synthétisé en 9 étapes avec un rendement global de 35% (Schéma 66). Ces deux précurseurs ont ensuite été engagés dans la séquence réactionnelle qui devrait permettre d'obtenir la phthalascidine 650 *via* l'obtention d'un dérivé (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléine comme intermédiaire réactionnel. La synthèse d'analogues sera envisagée par la suite pour évaluer et comparer leurs propriétés biologiques au cours d'études relations structure-activité comme agents d'inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses mais aussi comme intercalant de l'ADN.

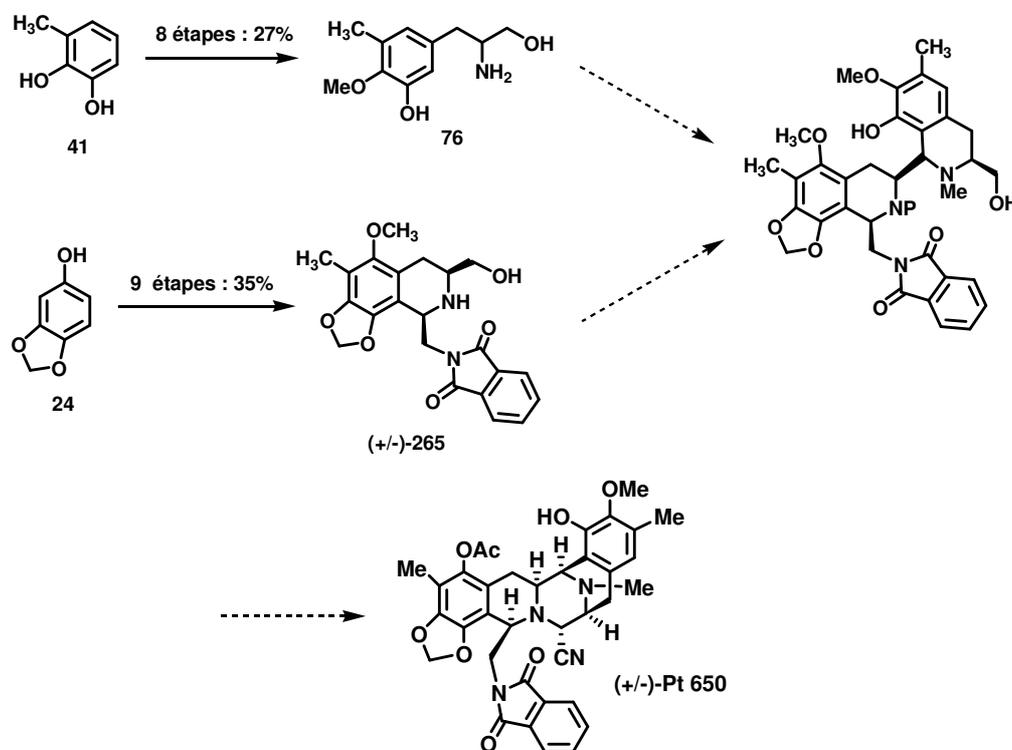


Schéma 66. Voie de synthèse vers (\pm)-phthalascidine 650.

Plus difficile et longue à réaliser, la synthèse de l'Et 743, rassemblant les différentes méthodologies mises au point au cours de ces travaux (cyclisation de Pictet-Spengler, couplage peptidique intramoléculaire, substitution nucléophile oxydante), pourra faire l'objet de prochains travaux de synthèse.

Conclusion générale

La synthèse de β -phénylalanines et de tétrahydroisoquinoléines, pouvant comporter des activités contre les maladies neurodégénératives de type parkinson ou Alzheimer, et être impliquées dans les maladies cardiaques et vasculaires a été réalisée à partir d'aldéhydes préalablement fonctionnalisés (Schéma 67). A partir des β -phénylalanines et tétrahydroisoquinoléines synthétisées, les (1,3')-bis-tétrahydroisoquinoléines et les systèmes pentacycliques de type pipérazine comportant des activités antiprolifératives contre des cellules cancéreuses et un caractère d'agent intercalant de l'ADN ont été étudiées. De plus, les tétrahydroisoquinoléines de type azapodophylotoxine, oxydées en position benzylique, ont aussi été obtenues à partir des dérivés de β -phénylalanines. De plus, des structures voisines possèdent des propriétés d'agents anticancéreux inhibiteurs de la topoisomérase II. Les dérivés de la syncarpamide pourraient se comporter comme des agents antipaludéens potentiels et seront testés dans le cadre de la chimiothèque nationale du CNRS.

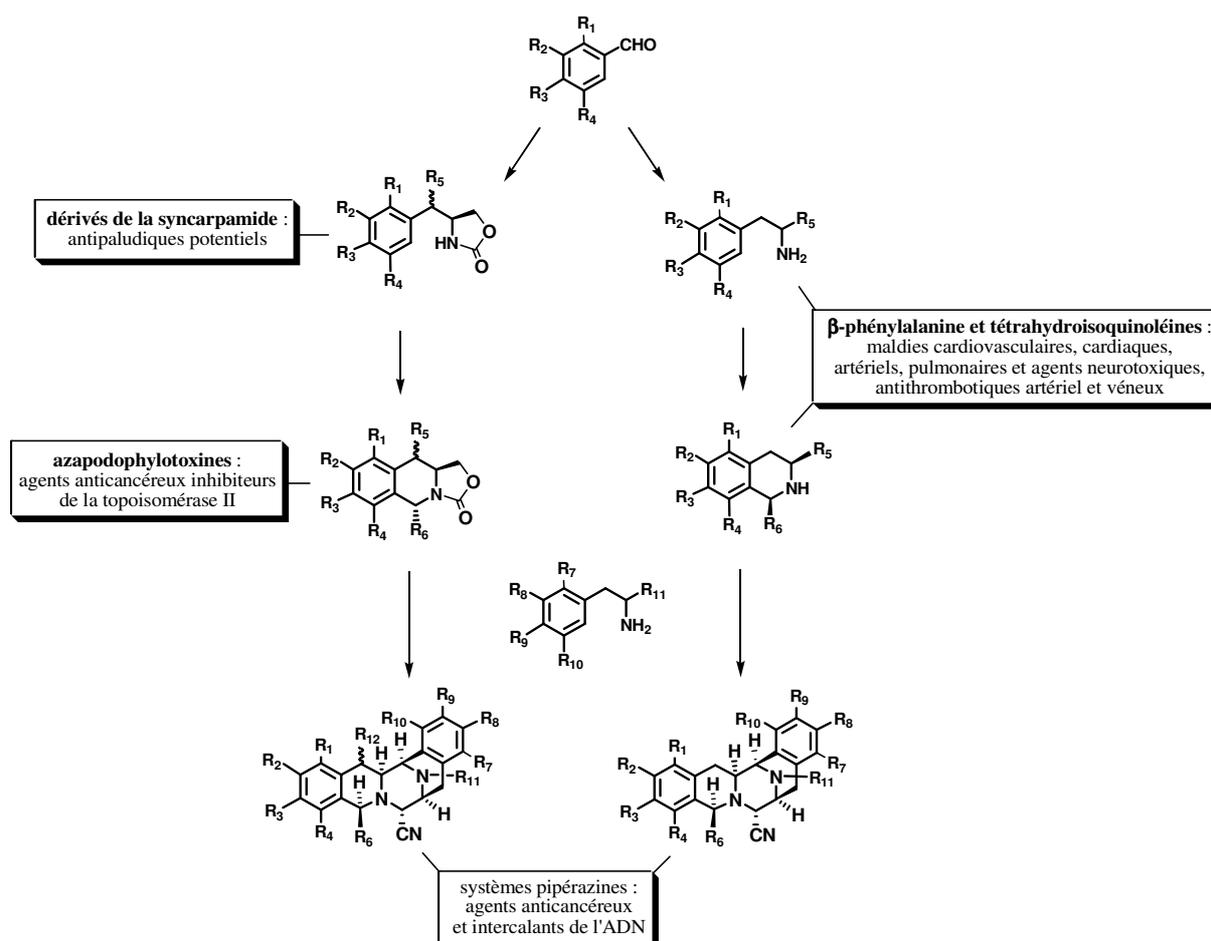


Schéma 67. Différentes voies d'obtention de composés à potentialité bioactive.

Molécules synthétisées

