

Faculté des Sciences

**Synthèse de dérivés d'isocoumarines naturelles,
métabolites du champignon pathogène
Ceratocystis fimbriata sp.**

Thèse présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel
pour l'obtention du titre de Docteur ès Sciences
par

Mustapha Tiouabi

Chimiste diplômé de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg

Membres de jury :

Prof. R. Tabacchi, Directeur de thèse

Prof. R. Deschenaux, Université de Neuchâtel

Prof. L. Scapozza, Université de Genève

Prof. A. Gossauer, Université de Fribourg

27 Septembre 2005

IMPRIMATUR POUR LA THESE

Synthèse de dérivés d'isocoumarines naturelles, métabolites du champignon pathogène *Ceratocystis fimbriata* sp.

Mustapha TIOUABI

UNIVERSITE DE NEUCHÂTEL

FACULTE DES SCIENCES

La Faculté des sciences de l'Université de Neuchâtel,
sur le rapport des membres du jury

MM. R. Tabacchi (directeur de thèse),
R. Deschenaux,
L. Scapozza (Genève)
et A. Gossauer (Fribourg)

autorise l'impression de la présente thèse.

Neuchâtel, le 14 novembre 2005

Le doyen :



J.-P. Derendinger

Faculté des Sciences

■ Rue Emile-Argand 11 ■ CP 2 ■ CH-2007 Neuchâtel

■ Téléphone : +41 32 718 21 00 ■ Fax : +41 32 718 21 03 ■ E-mail : secretariat.sciences@unine.ch ■ www.unine.ch

À mes parents

À mes sœurs et mon frère

À ma femme

À toutes les mains qui m'ont été tendues...

Remerciements

Ce travail a été effectué de Novembre 2001 à Avril 2005 à l'institut de Chimie de l'Université de Neuchâtel, sous la direction du Professeur Raffaele Tabacchi. Je tiens à le remercier pour m'avoir offert l'opportunité de travailler au sein de son groupe de recherche et pour la confiance qu'il m'a accordé pour mener à bien ce projet.

Je remercie également, Mr le Professeur Albert Gossauer et Mr le Professeur Leonardo Scapozza ainsi que Mr le Professeur Robert Deschenaux, pour avoir accepté de prendre part à l'évaluation et la correction de ce travail.

Un grand merci au Docteur Eliane Abou-Mansour, pour sa participation à la correction de ce manuscrit et pour ses conseils précieux.

Un grand merci à ma femme pour son soutien moral et à mes parents qui sans eux, je ne serais pas là ...

Enfin, je tiens à remercier,

Madame le Professeur Stoëckli-Evans pour les structures cristallographiques aux Rayons X.

Messieurs le Docteur Saturnin Claude et Heinz Bursian pour les mesures RMN 400 MHz.

François Loiseau pour les discussions scientifiques que nous avons eu, et pour ces idées précieuses.

Mary-Lorène, Laura, Eliane, Sandrine, Claire-Lise, Jules, Nicolas, Bernard, Jean-Marc et Manuel, amis et collègues avec qui j'ai partagé de bons moments pendant ces années de thèse.

Les étudiants de pharmacie et de chimie, avec lesquels j'ai pu m'exercer à l'enseignement pédagogique, lors des travaux pratiques de Chimie Organique.

Ana-Maria, François, Valli, Sébastien, David, Anton, Natacha, Valeria, Beat, Sabine, Julie, Myriam, Mr Binggeli, Stauffer et André, pour leur amitié et disponibilité.

Merci au Fond National Suisse.

Abréviations

A.D.	Dihydroxylation asymétrique
A.E.	Epoxydation asymétrique
APCI	Ionisation chimique à la pression atmosphérique
aq.	Aqueuse
CCM	Chromatographie sur couche mince
COSY	Spectroscopy de corrélation
<i>m</i> -CPBA	Acide <i>mé</i> ta-Chloro perbenzoïque
DEPT	Augmentation sans déformation par transfert de polarisation
DMF	Diméthylformamide
DMSO	Sulfoxyde de diméthyle
EI	Impact électronique
ESI	Ionisation par électrospray
éq.	Equivalent
(m)g	(milli)gramme
HETCOR	Spectroscopie de corrélation hétéronucléaire
HMPA	Hexaméthylphosphoramide
HOMO	Highest Occuped Molecular Orbital
IR	Infrarouge
LDA	Amidure de diisopropyl lithium
LR/SR	Longue distance/courte distance
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
MIQ	Quantité minimum d'inhibition
ml	Millilitre
MS	Spectrométrie de masse
P _{éb}	Point d'ébullition
P _f	Point de fusion
ppm	Partie par million
Pyr	Pyridine
R _f	Facteur de rétention

RMN	Résonance magnétique nucléaire
rx	Reflux
t°a	Température ambiante
THF	Tétrahydrofurane
TMEDA	Tétraméthyléthylènediamine
UV	Ultra violet

Abréviations chimiques usuelles : Ac = Acétyle, Bn = Benzyle, *t*Bu = *tert*-Butyle, Et = éthyle, Me = Méthyle.

Remarques :

Dans la majorité des cas, la numérotation de la structure est en accord avec le nom IUPAC donné par le logiciel *Autonom*. Cependant, dans certains cas pour des raisons pratiques nous avons utilisé une numérotation arbitraire, indépendante du nom IUPAC de la molécule.

Résumé

Au cours de nos recherches sur les phytotoxines produites par l'espèce *Ceratocystis fimbriata*, agent pathogène responsable des infections du platane, du caféier et de l'orme, des études analytiques et spectroscopiques ont permis d'isoler et d'identifier les isocoumarines **a-f** en faible quantité.

Notre objectif est de développer une méthode efficace pour une synthèse totale et en quantité suffisante de ces isocoumarines, pour confirmer leurs structures moléculaires et effectuer des études de phytotoxicité et de pathogénecité plus approfondies.

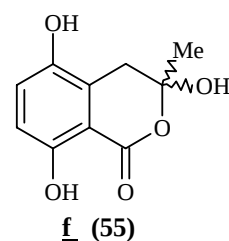
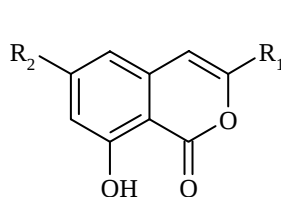
a : R₁ = Me ; R₂ = OMe (7)

b : R₁ = Me ; R₂ = OH (8)

c : R₁ = CH₂OH ; R₂ = OMe (24)

d : R₁ = CH₂OH ; R₂ = OH (28)

e : R₁ = CH₂CHOHCH₃ ; R₂ = OH (38)



Dans ce travail, nous rapportons la synthèse totale des isocoumarines **a**, **b**, **c**, **d** et **e** : Deux voies de synthèse sont utilisées pour la préparation des isocoumarines **a** et **b** : la première est basée sur une cycloaddition Diels-Alder du diène de Brassard sur un diester allénique, et la deuxième sur une double oxydation de l'orcinol. Une C-acylation suivie d'une éno-lactonisation ont permis d'obtenir ces isocoumarines. La bromation allylique des dérivés acétylés de **a** et **b**, suivie d'une substitution nucléophile du brome par l'anion formiate, fourni après hydrolyse acide les isocoumarines **c** et **d**.

Nous avons aussi développé une nouvelle synthèse de l'orthosporine (**e**). Sa préparation est effectuée par la condensation du carbanion allylique de l'isocoumarine **a**, sur l'acétaldéhyde.

La synthèse de la dihydroisocoumarine **f** n'a par contre pas donné le résultat espéré. Nos tentatives d'une synthèse asymétrique selon les models de Sharpless et Zhu, se sont avérées irréalisables. Les essais d'une synthèse racémique ont permis d'obtenir de nouvelles isocoumarines mais pas la molécule **f**.

En conclusion, nos différentes synthèses ont prouvé que l'approche basée sur la cycloaddition des dérivés d'acide homophtalique, est une méthode efficace et généralisable pour la préparation d'autres isocoumarines. Nous avons constaté également que les synthèses établies sur la fonctionnalisation d'une structure stable préalablement existante, sont les plus efficaces. Enfin, les tests biologiques effectués sur les isocoumarines **a**, **b**, **c** et **d** ont fourni des informations inédites sur la phytotoxicité et les propriétés antifongiques de ces métabolites.

Mots clés

Chancre du platane et du caféier, *Ceratocystis fimbriata* sp., synthèse des isocoumarines, tests phytotoxiques et antifongiques.

Summary

During our research on phytotoxins produced by the *Ceratocystis fimbriata* species, pathogenic agent responsible for the infections of plane, coffee and elm tree, the analytical and spectroscopic studies allowed the isolation and identification of the isocoumarins **a-f** in small quantity.

Our objective is the development of an efficient method for the total synthesis of a sufficient amount of these isocoumarins, in order to confirm their molecular structures and to achieve thorough studies of phytotoxicity and pathogenecity.

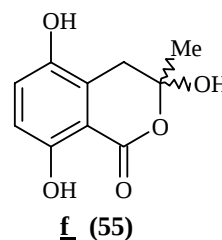
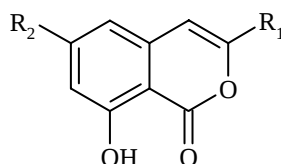
a : R₁= Me ; R₂= OMe (7)

b : R₁= Me ; R₂= OH (8)

c : R₁= CH₂OH ; R₂= OMe (24)

d : R₁= CH₂OH ; R₂= OH (28)

e : R₁= CH₂CHOHCH₃ ; R₂= OH (38)



In this work, we report the total synthesis of isocoumarins **a**, **b**, **c**, **d** and **e** : Two synthetic pathways were used for the preparation of isocoumarins **a** and **b** : the first is based on the Diels-Alder cycloaddition of Brassard's diene to allenic diester, and the second on the double oxidation of orcinol. The C-acylation followed by enol-lactonization led to these isocoumarins. The allylic bromination of the acetylated derivatives of **a** and **b**, followed by a nucleophilic substitution of bromine by formate anion and acid hydrolysis, afforded isocoumarins **c** and **d**.

We have also developed a new synthesis of orthosporine (**e**). The preparation was carried out by condensation of the allylic carbanion of isocoumarin **a**, on the acetaldehyde. On the other hand, the synthesis of the dihydroisocoumarin **f** did not give the expected result. Our attempts of an asymmetric synthesis according to Sharpless and Zhu models were not realizable. The assays of a racemic synthesis led to a new isocoumarins but not to **f**.

In conclusion, our different syntheses proved that the approach based on the cycloaddition of homophthalic acid derivatives, is an efficient method and can be generalized for preparation of others isocoumarins. We have also observed that the syntheses established on the functionalization of an existing stable structure, are the most efficient. Finally, the biological assays of isocoumarins **a**, **b**, **c** and **d** provided new informations about the phytotoxicity and antifungal properties of these metabolites.

Keywords

Canker disease of plane and coffee trees, *Ceratocystis fimbriata* sp., synthesis of isocoumarins, phytotoxic and antifungal assays.

Table des matières

CHAPITRE 1	1
Introduction	1
1.1. Le Chancre du platane et du caféier :	1
1.2. Biologie de <i>Ceratocystis fimbriata</i> :	3
1.3. Modes de pénétration et symptomatologie :	4
1.4. But du travail :	5
CHAPITRE 2	7
L'origine naturelle des isocoumarines : Fonction et biosynthèse	7
2.1. Les métabolismes :	7
2.2. Les métabolites secondaires :	8
2.3. Origine biogénétique des isocoumarines étudiés :	9
2.3.1. Isocoumarines a-e :	9
2.3.2. Dihydroisocoumarine f :	10
2.4. Mécanisme probable d'action des isocoumarines :	11
CHAPITRE 3	12
Synthèse des 8-hydroxy-6-méthoxy-3-méthylisocoumarine (7) et 6,8-dihydroxy-3-méthylisocoumarine (8)	12
3.1. Résultats antérieurs :	12
3.2. Schéma rétrosynthétique :	16
3.3. Synthèse de l'acide homophtalique 4 selon la voie A :	17
3.3.1. Synthèse du penta-2,3-diénoate de diméthyle (allène) (13) :	19
3.3.1.1. Résultats antérieurs :	19
3.3.1.2. Préparation de l'allène 13 :	22
3.3.2. Synthèse du 1,3-diméthoxy-1-[(triméthylsilyl)oxy]buta-1,3-diène (diène de Brassard) (15) :	24
3.3.2.1. Résultats antérieurs :	24
3.3.2.2. Préparation du diène 15 :	26
3.3.3. Synthèse de l'acide homophtalique 4 par cycloaddition Diels-Alder :	28
3.3.3.1. Cycloaddition Diels-Alder :	28
3.3.3.2. Préparation de l'acide homophtalique 4 (voie A) :	29

3.4. Synthèse de l'acide homophthalique 4 selon la voie B :	31
3.4.1. Synthèse de l'acide orsellinique 3 :	31
3.4.1.1. Oxydation de l'orcinol par formylation de Vilsmeier-Haack :	32
3.4.1.2. Préparation de l'acide orsellinique 3 :	33
3.4.2. Préparation de l'acide homophthalique 4 par carboxylation :	37
3.5. Synthèse de l'acide 2,4-diméthoxy-6-(2-oxopropyl)benzoïque ou 6,8-diméthoxy-3-hydroxy-3-méthyl-3,4-dihydroisocoumarine (5) :	40
3.6. Synthèse des 8-hydroxy-6-méthoxy-3-méthylisocoumarine (7) et 6,8-dihydroxy-3-méthylisocoumarine (8) :	47
3.6.1. Préparation de la 6,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (6) :	47
3.6.2. Préparation de la 8-hydroxy-6-méthoxy-3-méthylisocoumarine (7) :	50
3.6.3. Préparation de la 6,8-dihydroxy-3-méthylisocoumarine (8) :	52
3.7. Conclusion :	54
CHAPITRE 4.....	56
Synthèse des 8-hydroxy-3-hydroxyméthyl-6-méthoxyisocoumarine (cytogénine) (24) et 6,8-dihydroxy-3-hydroxyméthylisocoumarine (28).....	56
4.1. Résultats antérieurs :	56
4.2. Schéma rétrosynthétique :	57
4.3. Synthèse de la cytogénine (24) et son dérivé 28 :	65
4.3.1. Préparation des bromométhyl-isocoumarines 21 et 26 :	67
4.3.1.1. Préparation des isocoumarines 20 et 25 par acétylation :	68
4.3.1.2. Synthèse des bromo-isocoumarines 21 et 26 :	71
4.3.1.2.1. La bromation allylique par le <i>N</i> -bromosuccinimide :	71
4.3.1.2.2. Préparation des bromo-isocoumarines 21 et 26 par bromation allylique :	72
4.3.2. Préparation des 3-formyloxyméthyl-isocoumarines 23 et 27 :	74
4.3.3. Préparation de la cytogénine (24) et son dérivé 28 :	80
4.4. Conclusion :	82
CHAPITRE 5.....	83
Synthèse racémique de la (R,S)-6,8-dihydroxy-3-(2-hydroxypropyle)isocoumarine (38) ((±)-orthosporine).....	83
5.1. Résultats antérieurs :	83
5.2. Schéma rétrosynthétique :	86
5.3. Synthèse racémique de la (R,S)-orthosporine (38) :	90
5.3.1. Préparation de la (R,S)-6,8-diméthoxyorthosporine (37) :	90

5.3.2. Préparation de la (R,S)-orthosporine (38) :	93
5.4. Conclusion :	94
CHAPITRE 6	95
Essais de synthèse de la 3-méthyl-3,5,8-trihydroxy-3,4-dihydroisocoumarine (55)	95
6.1. Résultats antérieurs :	95
6.2. Schéma rétrosynthétique :	97
6.3. Essais d'une synthèse racémique de la 3,4-dihydroisocoumarine (55) :	104
6.3.1. Essais <i>via</i> la synthèse de la 5,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (48) :	106
6.3.1.1. Préparation de l'acide 3,6-diméthoxyhomophthalique (46) :	106
6.3.1.2. Préparation de la 5,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (48) :	113
6.3.1.3. Essai de synthèse <i>via</i> un clivage par hydrolyse basique de l'énol-lactone : .	115
6.3.1.4. Essai de synthèse <i>via</i> une époxydation de l'énol-lactone :	117
6.3.1.5. Essai de synthèse <i>via</i> une alkoxylation selon la procédure de Langlois :	118
6.3.1.6. Essai de synthèse par hydrochloration de l'énol-lactone :	119
6.3.2. Essais <i>via</i> la synthèse de la 5,8-diméthoxy-3-méthyl-3,4-dihydroisocoumarine (51) :	120
6.3.2.1. Préparation de la 5,8-diméthoxy-3-méthyl-3,4-dihydroisocoumarine (51) :	120
6.3.2.2. Essai de synthèse <i>via</i> une bromation radicalaire de l'hydroisocoumarine 51 :	123
6.4. Conclusion :	125
CHAPITRE 7	126
Tests biologiques	126
7.1. Tests de toxicité sur disque de feuilles de vigne :	126
7.1.1. Test de toxicité de l'isocoumarine 7 :	127
7.1.2. Test de toxicité de l'isocoumarine 8 :	127
7.1.3. Test de toxicité de l'isocoumarine 28 :	128
7.1.4. Test de toxicité de l'isocoumarine 24 :	129
7.1.5. Conclusion :	130
7.2. Tests antifongiques :	131
7.2.1. Protocole des tests antifongiques selon la méthode bioautographique :	131
7.2.2. Test antifongique sur <i>Aspergillus</i> sp. :	132
7.2.3. Test antifongique sur <i>Trichoderma harzianum</i> :	133
7.2.4. Test antifongique sur <i>Penicillium</i> sp. :	134
7.2.5. Conclusion :	135

CHAPITRE 8.....	136
Conclusions et perspectives	136
8.1. Conclusions :	136
8.2. Perspectives :	141
CHAPITRE 9.....	144
Partie expérimentale	144
9.1. Techniques analytiques :	144
9.1.1. Chromatographies :	144
9.1.2. Spectroscopie infrarouge (IR) :	144
9.1.3. Spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) :	145
9.1.4. Spectroscopie de masse (MS) :	145
9.1.5. Analyses élémentaires :	145
9.1.6. Point de fusion :	146
9.2. Verrerie et produits :	146
9.2.1. Verrerie, agitation, système de chauffage et de refroidissement :	146
9.2.2. Produits :	146
9.3. Synthèse des 8-hydroxy-6-méthoxy-3-méthylisocoumarine (7) et 6,8-dihydroxy-3-méthylisocoumarine (8) :	150
9.4. Synthèse des 8-hydroxy-3-hydroxyméthyl-6-méthoxyisocoumarine (cytogénine) (24) et 6,8-dihydroxy-3-hydroxyméthylisocoumarine (28) :	170
9.5. Synthèse racémique de la (<i>R,S</i>)-6,8-dihydroxy-3-(2-hydroxypropyle)isocoumarine (38) ((±)-orthosporine) :	186
9.6. Essais de synthèse de la 3-méthyl-3,5,8-trihydroxy-3,4-dihydroisocoumarine (55) :	189
Bibliographie.....	209

CHAPITRE 1

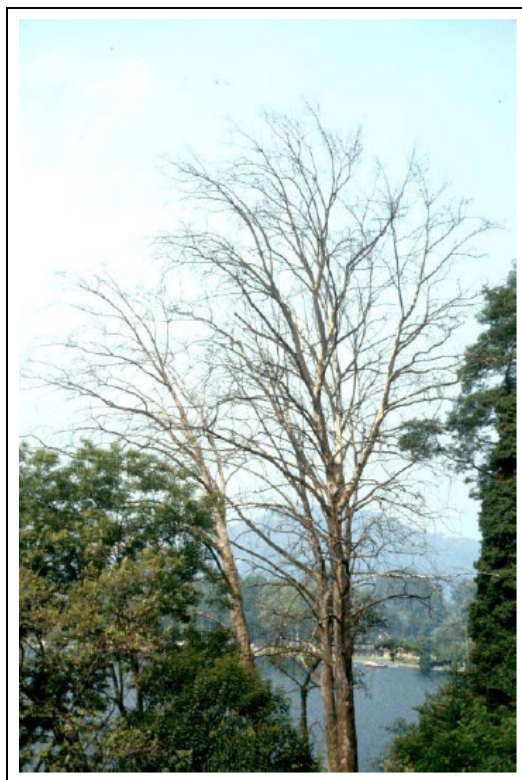
Introduction

1.1. Le Chancre du platane et du caféier :

Depuis quelques dizaine d'années, un champignon Ascomycète, *Ceratocystis fimbriata* sp. *platani*, introduit des États-Unis pendant la seconde guerre mondiale et d'une virulence extrême pour le platane, constitue une grave menace pour les plantations européennes. Il est l'agent de la maladie dite du Chancre coloré qui sévit actuellement dans toute l'Italie, le Sud de la Suisse et le Sud-Est de la France (avec un front avancé dans la région lyonnaise). Quelques spores introduites dans une blessure minime provoquent une infection qui, irrémédiablement, va tuer un beau platane en 4 à 6 ans selon la localisation de la contamination. Tous les essais de traitement chimique ont échoué à cause de la localisation très interne du parasite, hors d'atteinte même des fongicides dits systémiques (véhiculés par la sève).

L'étude de l'épidémiologie du champignon a précisé les principaux moyens de dissémination (outils, engins, eaux courantes) mais les mesures de prophylaxie que l'on peut en déduire sont astreignantes, et souvent, mal ou même pas du tout appliquées. Malgré les efforts déployés par les services européens de la protection des végétaux (détection, élimination des arbres atteints...), le résultat reste alarmant. Plus de 25 000 sujets adultes ont déjà péri en France et, dans les zones où rivières et canaux d'irrigation favorisent la propagation de la maladie. Celle-ci élargit de façon impressionnante les vides créés dans les plantations (Vaucluse, plus particulièrement).

En Suisse, le pathogène de cette grave infection vasculaire (*Ceratocystis fimbriata* sp. *platani*), mortelle pour le platane, a été identifié pour la première fois au Tessin¹ en 1983. Depuis lors, la maladie s'est propagée au nord des Alpes, dans le canton de Genève.



Avant 2001, en Suisse le chancre du platane n'était répandu qu'au Tessin (photo). Depuis lors, cette dangereuse maladie vasculaire a aussi été découverte à Genève

Cependant, les dommages causés par *C. fimbriata* ne s'arrêtent pas là, il a été également identifié comme agent responsable du Chancre du caféier d'Arabie (nommée «Llaga Macana » par les cultivateurs), une maladie très répandue au Brésil et au Venezuela. La relation entre ce champignon baptisé *Ceratocystis fimbriata* sp. *coffea* et cette maladie a été formellement démontrée depuis 1951 par Pontis².

Ceratocystis fimbriata figure sur la liste des organismes de quarantaine dans tout les pays d'Europe. Seul l'abatage des arbres infectés sous la surveillance de spécialistes permet de lutter actuellement contre la propagation de l'infection. Face à une alarme croissante et devant l'état sanitaire de plus en plus dégradé des platanes des villes et des routes, des recherches ont été entreprises pour la mise au point d'une méthode de détection analytique permettant de mieux cerner l'étendue des contaminations et d'éviter d'abattre les platanes non infectés.

Dans ce cadre, au cours de ces dix dernières années, notre groupe de recherche s'est intéressé à la relation hôte-parasite sur différentes maladies causées par des *Ceratocystis fimbriata* sp. *coffea*^{3;4} et sp. *platani*⁵, micro-organismes fongiques respectivement responsables des infections du caféier et du platane. Nous nous sommes aussi intéressés à l'étude d'*Ophiostoma*

ulmi, un micro-organisme fongique responsable de la maladie de l'orme et classé dans la famille des *Ceratocystis*⁶.

Bien que ces micro-organismes fongiques n'aient pas forcément le même vecteur de prolifération et le même mode d'infection de l'arbre, nous avons cherché à mettre en relation pour chacun de ces trois parasites une corrélation toxine-hôte pour chacune de ces maladies.

1.2. Biologie de *Ceratocystis fimbriata* :

Ceratocystis est une vaste famille de micro-organismes fongiques colonisant divers végétaux répartis dans le monde entier. Leur dénomination repose exclusivement sur des considérations morphologiques, le préfixe « *Cerato* » signifiant « cornu », le suffixe « *cystis* » évoquant un « sac ». La raison en revient à la forme particulière de leurs organes de reproduction, les périthèces. Ils comptent une soixantaine d'espèces, parmi lesquelles trente-neuf sont réputées biologiquement actives sur différentes plantes⁷. L'espèce *Ceratocystis fimbriata* qui en fait partie est décrite la première fois en 1890 par Ellis et Halsted⁸, se subdivise à son tour en divers espèces morphologiquement très semblables, mais très spécifiques de la plante-cible qu'elles affectent⁹. Parmi celles-ci, nous citons l'hévéa, la patate douce, le crotalaire, le caféier, le cacaoyer, le platane, le peuplier, le chêne et le cocotier.

D'un point de vue biologique, *Ceratocystis fimbriata* a toutes les caractéristiques d'un champignon, réseau mycélien (hyphes conidies) orné de fructifications (périthèces), à reproduction sporulée¹⁰. Celle-ci peut s'accomplir de deux façons différentes :

- 1- La reproduction asexuée : elle survient par divisions cellulaires simples au niveau des hyphes ou des conidies (bras mycélien issu d'une agrégation cellulaire).
- 2- La reproduction sexuée : elle concerne le périthèce, long fuseau terminé par une masse sphérique couverte d'hyphes. De cette fructification s'échappent les ascospores, cellules mononucléaires issues de division multiples, et finalement d'une fusion nucléaire au sein du périthèce. De cette faculté de produire des spores sexuelles à l'intérieur de sacs appelés asques, *Ceratocystis fimbriata* est classé parmi les ascomycètes.

En 1993, Darbon et al.¹¹ ont mis en évidence à partir de *C. fimbriata* une protéine de PM = 15000 qu'ils ont nommé fimbriatane et qui reproduit la majeure partie des symptômes occasionnés sur l'arbre à l'exception des nécroses et du flétrissement du feuillage. De leur côté, Scala et al.¹², en 1999, ont isolé et établie la séquence d'une seconde protéine (ceratoplatanine) issue de ce même micro-organisme et qui intervient dans le mécanisme d'infection de l'hôte. En parallèle, nous pouvons indiquer qu'un champignon voisin de *Ceratocystis*,

Ophiostoma ulmi responsable de l'infection de l'orme, possède aussi une protéine de faible poids moléculaire, reconnue comme l'agent actif principal de ce champignon¹³.

1.3. Modes de pénétration et symptomatologie :

La pénétration du champignon pour *Ceratocystis fimbriata* sp. *coffea* comme pour sp. *platani* se fait le long de plaies et de blessures accidentelles occasionnées sur l'arbre. Le parasite déposé sur un lambeau d'écorce saine ne peut s'y implanter ni survivre. A la faveur d'une blessure, le champignon colonise longitudinalement l'écorce et le bois, et s'enfonce jusqu'au coeur du cambium en suivant les rayons médullaires dans le cas du platane, alors qu'il ne pénètre quasiment pas dans le caféier (prof. max. 20 mm) dans le cas de l'espèce *coffea*.

Dans les deux cas en revanche, la progression du champignon dans l'arbre est suivie de nécroses colorées virant du brun-rouge au noir.

Cependant, les similitudes symptomatologiques des deux maladies s'arrêtent là. Le feuillage supérieur reste pour ainsi dire intact aussi longtemps que le cambium n'est pas détruit sur toute sa circonférence dans le cas du platane, alors que sur le caféier, c'est l'aspect fané du feuillage et la coloration jaune-verdâtre à jaune des limbes qui révèle le premier symptôme visible de la maladie. Pour le platane, c'est l'accroissement des crevasses le long de l'écorce nécrosée qui indique le signe premier de la maladie. Une forte humidité et une situation ombragée favorisent l'infection du caféier tandis que les dommages les plus importants sur le platane se manifestent en juillet et août. Enfin, des prolongements noirs s'étendent vers les sommets du platane alors qu'ils se dirigent plus nettement vers les racines dans le cas du caféier.

Contrairement à ce qui est observé dans les maladies développées par les *Ceratocystis* de la patate douce ou de l'hévéa, les insectes semblent ne jouer aucun rôle dans la propagation des espèces *coffea* et *platani*¹⁴. La propagation des spores pour ces deux micro-organismes se faisant par les cours d'eau, le vent ou lors de l'entretien de ces arbres par l'homme, à l'aide d'outils infectés.

En Europe, bien que la bataille de l'information et de la sensibilisation ait été sérieusement engagée et soutenue par des arrêtés européens, on peut craindre, au moins pour certaines zones, de voir les platanes complètement éliminés. Compte tenu du rôle considérable qu'ils jouent dans le cadre de vie et, plus largement, dans l'environnement des régions méridionales (et même nationales), une assurance pour l'avenir de l'espèce a été recherchée dans la quête ou la création d'un type d'arbre résistant à la maladie.

Il reste que, si ces plants donnent l'espoir de profiter encore longtemps de la frondaison des platanes, la conservation des belles plantations existantes doit faire l'objet d'efforts importants, s'appuyant sur une vigilance continue, même dans les régions où la maladie n'existe pas, et une application soignée de la prophylaxie. Ce n'est pas aussi compliqué qu'il n'y paraît mais relève surtout d'une juste estimation du risque... et de son prix.

1.4. But du travail :

Des études approfondies, effectuées dans notre laboratoire, sur l'espèce *Ceratocystis fimbriata* ont permis d'isoler et d'identifier quelques isocoumarines **a-f** suspectées d'être des agents pathogènes responsables des infections du platane et du caféier.

Dans sa quête pour l'identification des métabolites issus de *C. fimbriata* sp. *coffea*, Grémaud³ a isolé et identifié treize métabolites dont quatre isocoumarines **a, c, d, e** et deux composés azotés possédant une activité phytotoxique évidente en tant que toxines non-spécifiques envers la plante hôte, le caféier de la variété arabica.

De même Burki⁵, dans son travail de thèse sur les métabolites issus de *C. fimbriata* sp. *platani*, a isolé treize substances dont six ont été considérées comme faiblement toxiques et deux substances fortement toxiques envers le platane. Parmi les composés isolés présentant une certaine toxicité, trois classes de substances ont été observées : quatre isocoumarines (faiblement toxiques) **a, c, d, e**, et l'acide *p*-amino benzoïque (fortement toxique) et cinq naphtalénones (trois faiblement toxiques et deux fortement toxiques). Ces derniers ont fait l'objet d'une synthèse totale lors du travail de thèse de Couché¹⁵, en 2001.

L'analyse du milieu de culture d'*Ophiostoma ulmi*, un agent pathogène responsable de la maladie de l'orme et classé dans la famille des *Ceratocystis*, a permis à Michel⁶ d'isoler seize métabolites dont quatre isocoumarines **b-e** sans toxicité apparente et un nouveau produit naturel, la 3-méthyl-3,5,8-trihydroxy-3,4-dihydroisocoumarine (**f**), décelé dans l'extrait de bois malade. Qualitativement, ce dernier est présent sous forme de traces. La toxicité de ce métabolite est envisageable, sachant que l'activité n'est pas forcément proportionnelle à la concentration.

Dans la littérature, les isocoumarines sont décrites généralement comme des phytotoxines^{3;5;16;17}. La (+)-orthosporine (**e**) a été décrite comme une substance induisant des nécroses¹⁸ sur le maïs et le soja mais n'induit aucuns symptômes sur le seigle. La cytogénine (**c**) présente une action antitumorale sur le carcinome de Ehrlich¹⁹ et une activité anti-inflammatoire contre certains modèles arthritiques²⁰⁻²². Cependant, La phytotoxicité des

composés **a**, **b**, **d** n'a pas été étudiée, mais il est fort probable que leur phytotoxicité puisse être en relation avec celle de leurs melléines correspondantes²³. D'ailleurs, Michel⁶ dans son travail de thèse, a avancé l'hypothèse que les isocoumarines jouent un rôle de "co-métabolisme" intervenant dans la biosynthèse de composés plus toxiques. En effet, Kam et al.²⁴ ont proposé un mécanisme d'action de ces molécules comme inhibiteur enzymatique agissant par l'ouverture de la lactone (§ 2.4).

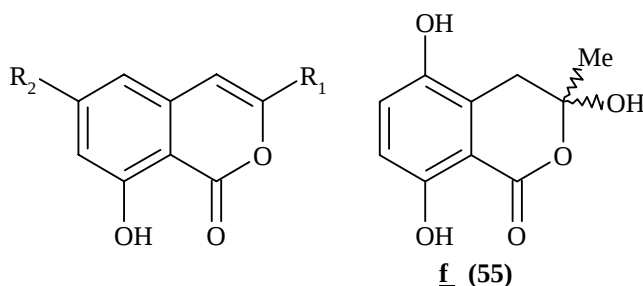
a : R₁ = Me ; R₂ = OMe (**7**)

b : R₁ = Me ; R₂ = OH (**8**)

c : R₁ = CH₂OH ; R₂ = OMe (**24**)

d : R₁ = CH₂OH ; R₂ = OH (**28**)

e : R₁ = CH₂CHOHCH₃ ; R₂ = OH (**38**)



Toutefois, la faible quantité de matière produite par les micro-organismes fongiques *Ceratocystis fimbriata* sp. *coffea* et sp. *platani* n'a pas permis de quantifier précisément la toxicité des métabolites lors des tests biologiques. Dès lors, l'objectif dans ce travail est de développer une stratégie de synthèse efficace des isocoumarines **a-f** qui permettra, dans un premier temps, de confirmer leurs structures moléculaires préalablement déterminées par des méthodes spectroscopiques, puis dans un second temps, de produire ces molécules en quantités suffisantes pour effectuer des études de phytotoxicité et de pathogénecité plus approfondies.

CHAPITRE 2

L'origine naturelle des isocoumarines : Fonction et biosynthèse

2.1. Les métabolismes :

Tous les systèmes vivants possèdent un réseau de réactions chimiques interdépendantes que l'on désigne globalement par le terme "métabolisme primaire". Cet ensemble de réactions permet de répondre à deux exigences vitales : extraire de l'énergie de l'environnement et synthétiser les blocs de base des macromolécules constituant les cellules.

Toutes les réactions intervenant dans le métabolisme primaire sont catalysées par des enzymes et sont globalement les mêmes quelque soit l'organisme vivant considéré. Le métabolisme primaire n'est donc pas spécifique, et les métabolites issus du métabolisme primaire ne le sont pas non plus. Les champignons sont capables de tirer parti des protéines, des graisses et surtout des sucres comme matière première pour leur métabolisme primaire. C'est pourquoi, ils ne sont pas autotrophes mais hétérotrophes, c'est-à-dire qu'ils sont incapables de réaliser la photosynthèse et dépendent donc des formes de vie autotrophes pour leur survie.

Bien que l'on ne connaisse pas de définition définitive du métabolisme secondaire et que la frontière avec le métabolisme primaire reste souvent floue, on peut dire que le métabolisme secondaire est plus caractéristique du groupe biologique concerné (famille, genre). Cette spécificité est d'ailleurs un moyen de classer les organismes suivant leur composition chimique (chimiotaxonomie). La fonction des métabolismes secondaires est encore mal connue, mais elle consisterait principalement à assurer les interactions chimiques qu'un organisme peut avoir avec son environnement³.

2.2. Les métabolites secondaires :

Le métabolisme secondaire englobe plusieurs procédés synthétiques dont les produits finaux, nommés métabolites secondaires. Ils dérivent d'intermédiaires biosynthétiques du métabolisme primaire. Les précurseurs des métabolites secondaires sont peu nombreux (figure 1) : principalement l'acide pyruvique et l'acide acétique dont découle l'acétyl-CoA⁶.

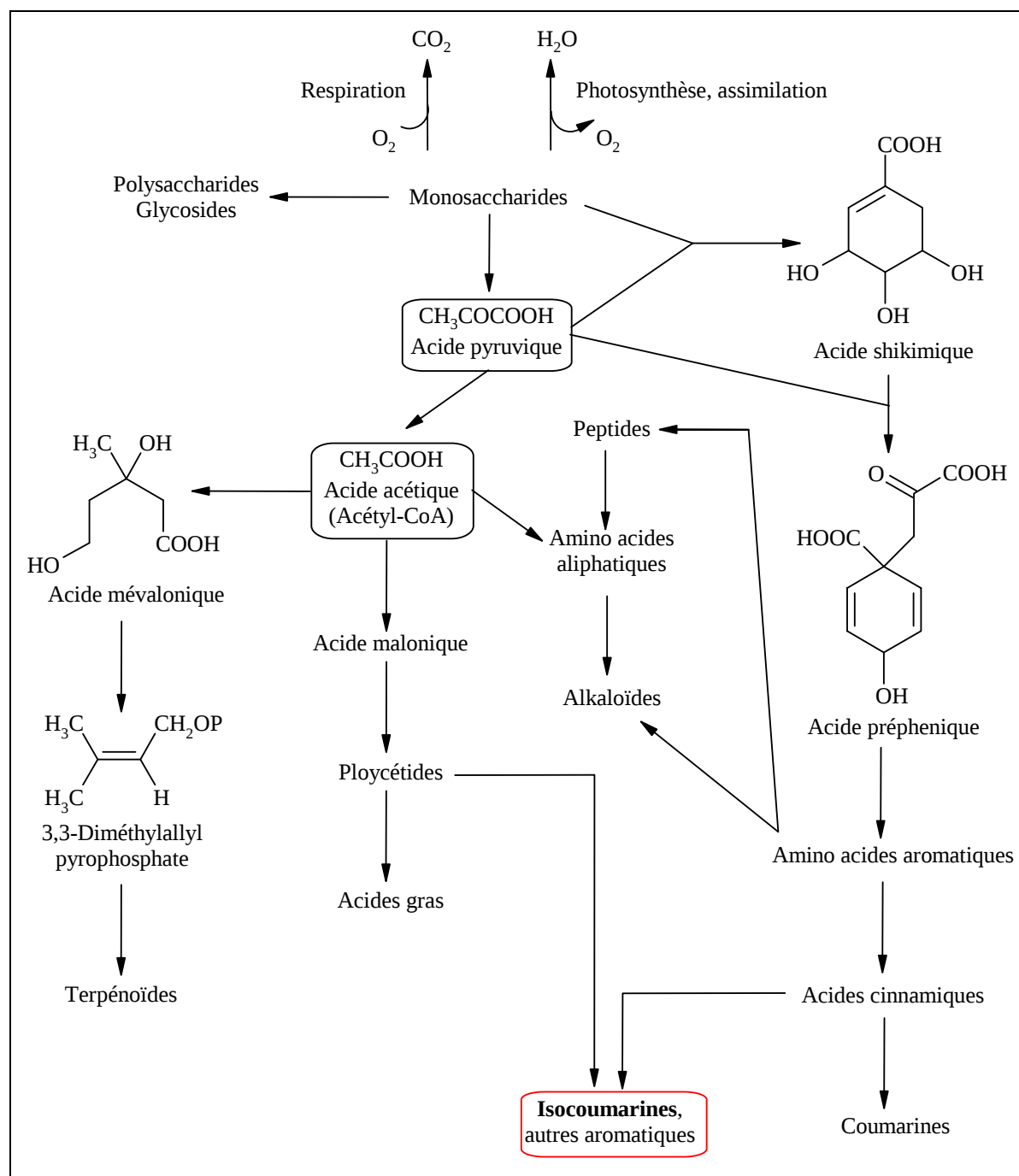


Figure 1. Schéma général de biosynthèse des isocoumarines et d'autres métabolites secondaires²⁵

Les polycétides, les coumarines et les métabolites de l'acide shikimique sont les trois familles de composés dont la recherche en biosynthèse est la plus importante. Elles sont la source de phytotoxines et de phytoalexines dans le métabolisme secondaire fongique.

L'étude de la biosynthèse de composés s'effectue avec trois approches différentes et complémentaires :

- » Utilisation de marquage isotopique.
- » Extraction et purification *in vitro* des enzymes intervenant dans la biosynthèse.
- » Etude des mutations génétiques *in vivo* du champignon en bloquant les processus de biosynthèse déjà établis.

2.3. Origine biogénétique des isocoumarines étudiés :

2.3.1. Isocoumarines a-e :

Les isocoumarines **a** et **b** sont issues de la voie des polycétides, provenant de la condensation de cinq unités acétates (figure 2 ; voie A). La voie des polycétides est caractéristique des métabolites secondaires des champignons imparfaits, des ascomycètes et plus rarement des basidiomycètes.

L'isocoumarine **d** participe à la biosynthèse de la cytogénine (**c**) (figure 2 ; voie B). L'étude de biosynthèse a été faite par marquage isotopique du carbone des groupements acétates (^{14}C)²⁶.

La (+)-orthosporine (**e**) est également issue de la voie des polycétides avec six unités acétates (figure 2 ; voie C).

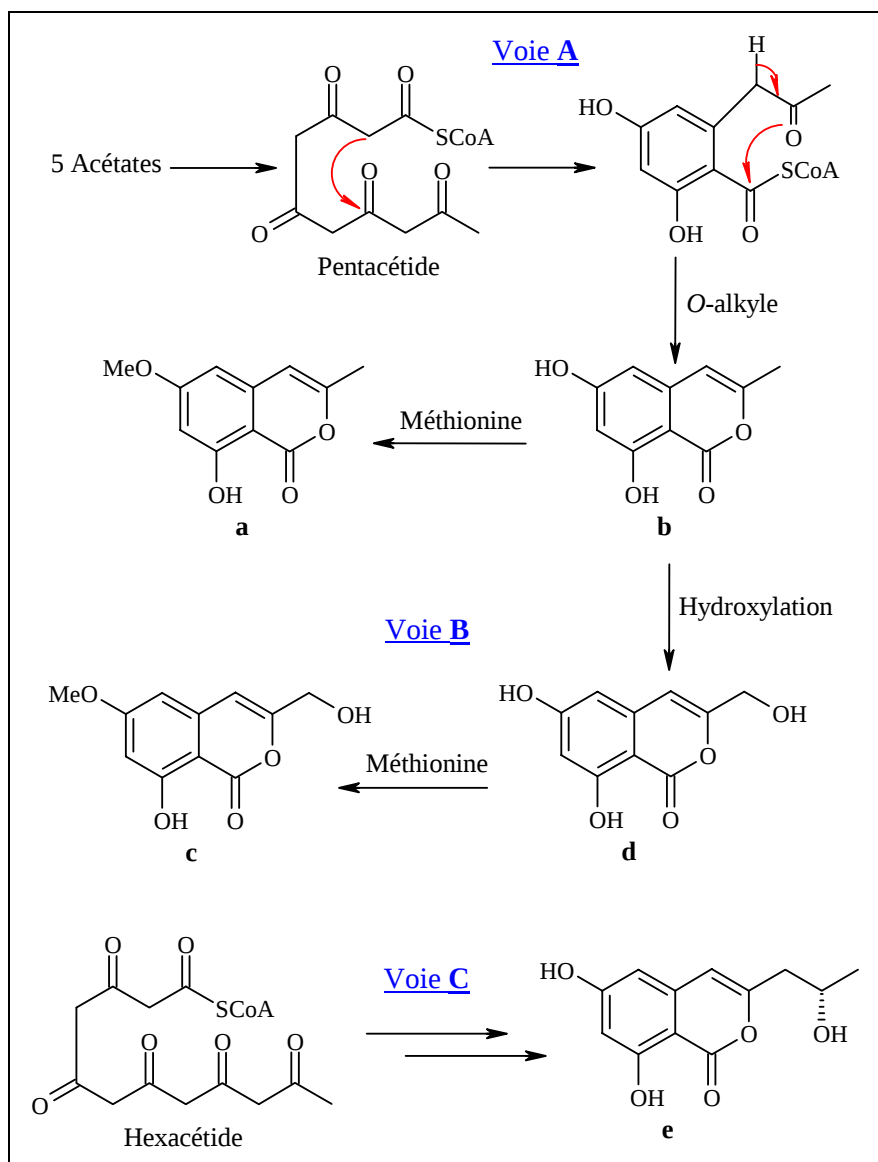


Figure 2. Biosynthèse des métabolites a-e

2.3.2. Dihydroisocoumarine **f** :

L'origine biosynthétique de la 3,4-dihydroisocoumarine **f** (figure 3) n'a pas été étudiée dans la littérature. Sa structure de base étant la melleine, la biosynthèse par la voie des polycétides est envisageable⁶.

La biosynthèse de la 6-hydroxymélléine s'effectue avec un pentacétide formé de quatre unités acétates et une unité acétyl-CoA^{27;28} (figure 3).

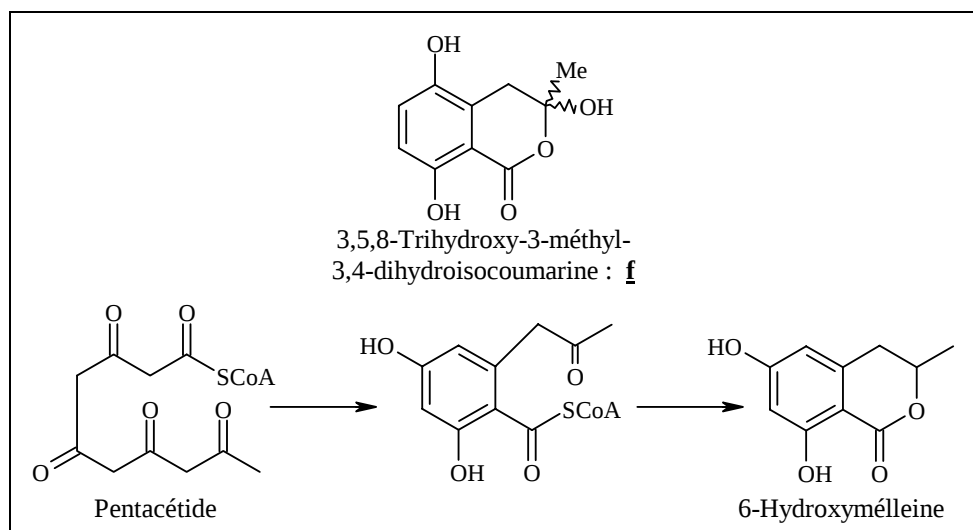


Figure 3. Biosynthèse de la 6-hydroxymélléine

2.4. Mécanisme probable d'action des isocoumarines :

Les isocoumarines ont souvent été reportées comme des substances biologiquement actives¹⁷. Certains auteurs ont mis en relation leur toxicité avec celle de leur produit de métabolisation dans les plantes : les melléines ou 3,4-dihydroisocoumarines^{23;29}. Structuellement parlant, les isocoumarines se présentent comme de puissants inhibiteurs enzymatiques. Des hypothèses^{5;24} suggèrent que l'ouverture de la fonction lactone déboucherait en effet sur un composé très stable (figure 4).

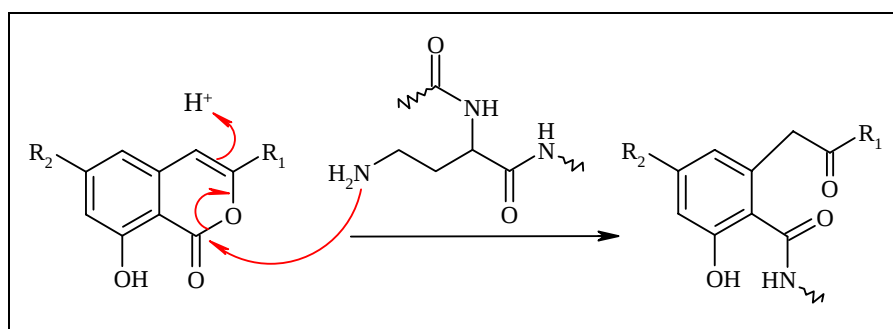


Figure 4. Mécanisme plausible du pouvoir inhibiteur des isocoumarines

CHAPITRE 3

Synthèse des 8-hydroxy-6-méthoxy-3-méthylisocoumarine (7) et 6,8-dihydroxy-3-méthylisocoumarine (8)

3.1. Résultats antérieurs :

Découverts pour la première fois en 1968 par R. F. Curtis d'une culture de *Ceratocystis fimbriata* Ell. & Halst²³, les 8-hydroxy-6-méthoxy-3-méthylisocoumarine (7) et 6,8-dihydroxy-3-méthylisocoumarine (8) (figure 5) ont été isolées et caractérisées dans notre laboratoire par Gremaud & Burki^{3;5} respectivement d'une culture de *Ceratocystis fimbriata* sp. *coffea* et sp. *platani*, deux agents pathogènes responsables du chancre du caféier et du platane.

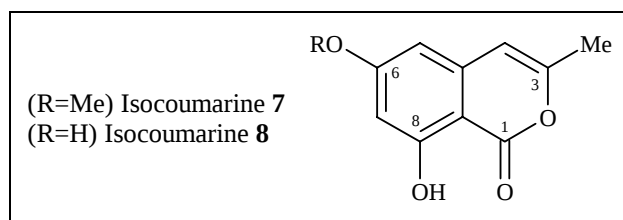


Figure 5. Isocoumarines 7 et 8 isolées de *C. fimbriata* sp. *coffea* et sp. *platani*

Une fois l'activité biologique de ces isocoumarines reconnue, plusieurs voies menant à leur synthèse ont été proposées³⁰⁻⁴⁰. Les synthèses les plus connues ont généralement démarré à partir d'acide orsellinique ou de 3,5-diméthoxybenzaldéhyde et elles ont habituellement impliqué les dérivés d'un ou plusieurs des composés intermédiaires : acide homophtalique, acide phénylpropanoïque, acide C-acétylorsellinique ou indanone.

En 1976, Carter et al.³⁶ se sont inspirés des voies de biosynthèses proposées (schéma 1) pour développer des précurseurs synthétiques qui miment les naturels et permettent par des voies de synthèse suffisamment flexible, l'obtention d'une gamme étendue d'isocoumarines

différemment substitués. Leur approche est basée sur le clivage oxydant *via* le périodate comme étape clef de la conversion de l'indanone en isocoumarine (schéma 2 ; voie A). Cependant, Kendall et *al.*³⁸ dans leurs recherches entreprises pour déterminer le rôle joué par les isocoumarines **7** et **8** dans la maladie Hollandaise de l'Orme, ont rapporté une version modifiée de l'approche de Carter. Ils ont proposé à la fois une synthèse plus simple et avec deux étapes en moins et confirmé aussi l'efficacité du clivage oxydant (schéma 2 ; voie B).

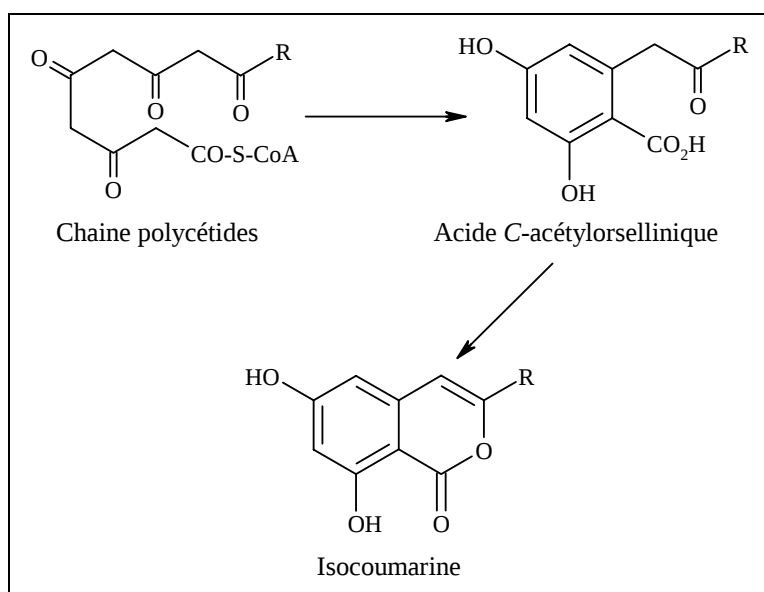
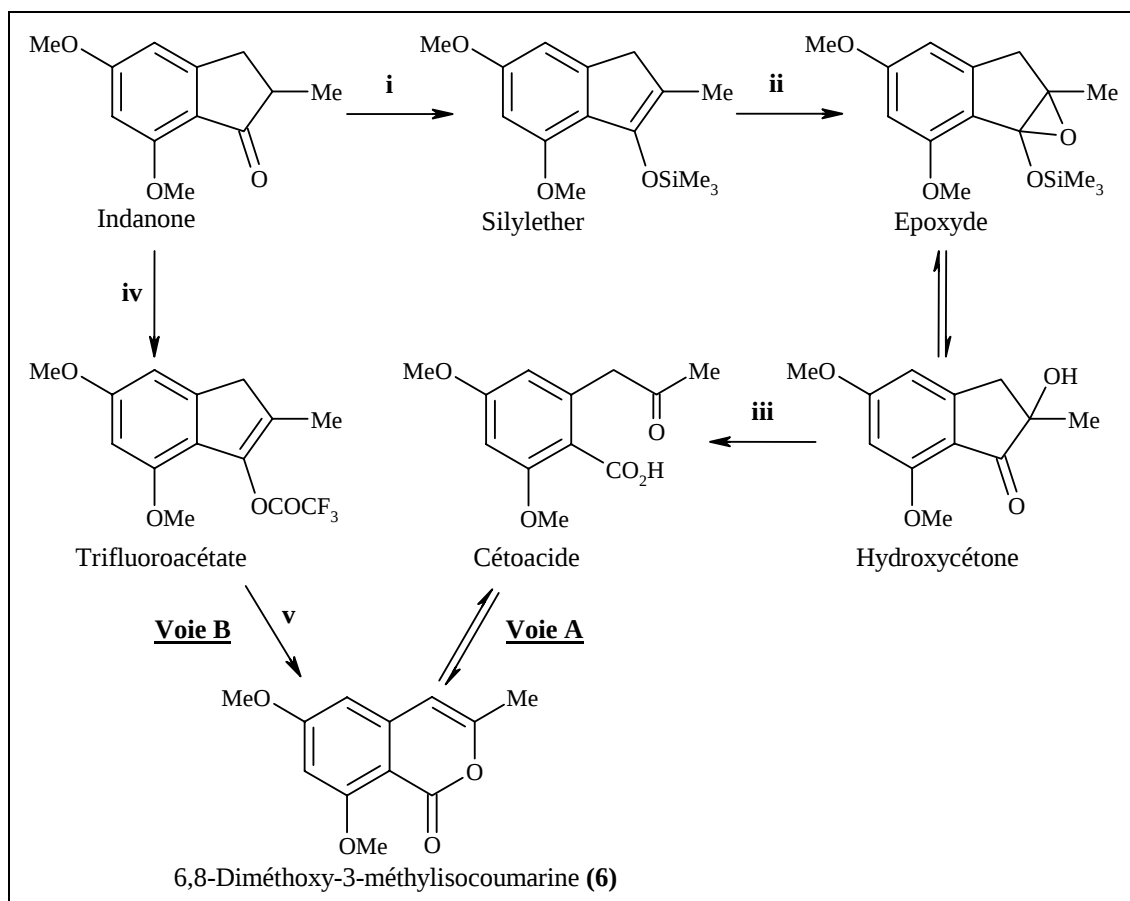


Schéma 1. Biosynthèse des isocoumarines vue par Turner et *al.*⁴¹

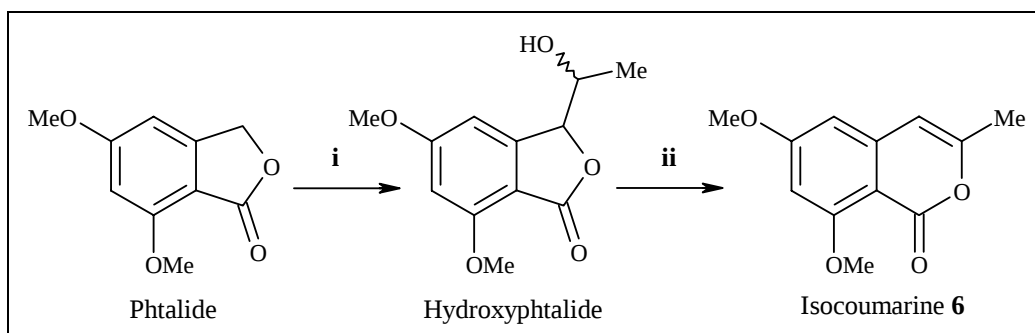


Voie A : **i)** LDA *in situ*, THF, Me₃SiCl, -78°C (65%) ; **ii)** O₃, AcOEt, -70°C (45%) ou *m*-CPBA, CH₂Cl₂ (25%) ; **iii)** Dioxane, H₂SO₄ (2N), INaO₄ (54%).

Voie B : **iv)** (CF₃CO)₂O (85%) ; **v)** O₃, AcOEt, -70°C (90%).

Schéma 2. Synthèse des isocoumarines proposée par Carter et al.³⁶

En 1998, Mali et al.⁴⁰ dans leurs investigations sur des alkylidènephthalides, métabolites isolés du rhizome sec de *Ligusticum wallichii* et leur synthèse, ont proposé une nouvelle méthode de catalyse-acide qui permet la synthèse des 3-alkyl-8-hydroxyisocoumarines avec une large possibilité de variation du modèle de fonctionnalisation autant sur le noyau aromatique que sur le carbone en position (3). La condensation de l'anion-phthalique, généré *in situ* par la LDA, sur l'acétaldéhyde donne l'hydroxyphthalide équivalent qui conduit après réarrangement par catalyse-acide à la 6,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (**6**), le précurseur direct des isocoumarines **7** et **8** (schéma 3).



i) LDA, THF, MeCHO, -78°C (78%) ; **ii)** *p*-TsOH, Toluène, rx (72%).

Schéma 3. Synthèse des isocoumarines proposée par Mali et al.⁴⁰

Par ailleurs, Lewis et al.³¹ ont développé des synthèses plus simples et efficaces, qui permettent la préparation en deux étapes des 3-substitués-8-méthoxy- et 6,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarines (schéma 4). Leur approche est basée sur une cyclo-condensation des céto-(acide ou ester) résultants de la condensation des anions de l'ortho-toluate (acide ou ester) correspondant, avec des groupements électrophiles convenables. Ils rapportent aussi que les anions dérivés de l'ortho-toluate ester porteurs d'un groupement méthoxyle en α de la fonction ester, ne subissent pas d'auto-condensation⁴² et sont suffisamment stables pour leur usage en tant qu'intermédiaires synthétiques⁴³⁻⁴⁵ réagissant le plus souvent avec succès en présence d'électrophiles tel des agents d'alkylation, des cétones ou des aldéhydes. Cependant des acylations directes ont été tentées par de multiples agents commun d'acylation sans efficacité, voire parfois, sans succès^{43;45}.

La synthèse de la 6,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine employée par Lewis a donc été réalisée par une condensation de l'anion de 2,4-diméthoxy-6-méthylbenzoate (ester orsellinique) généré par la LDA, avec le *N*-méthoxy-*N*-méthylacétamide (amide de Weinreb)⁴⁶ pour donner le céto-ester correspondant qui conduit après cyclo-condensation à l'isocoumarine **6**, le précurseur des isocoumarines **7** et **8** (schéma 5).

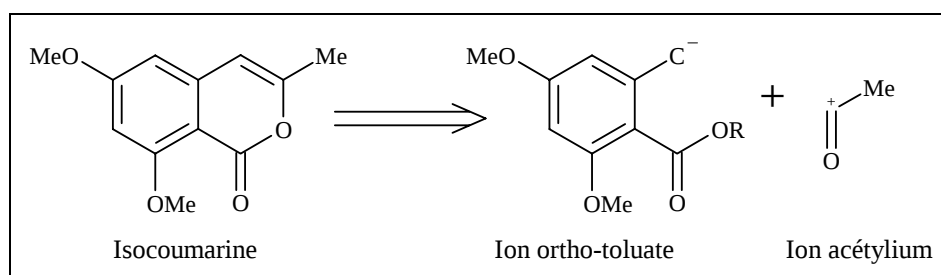
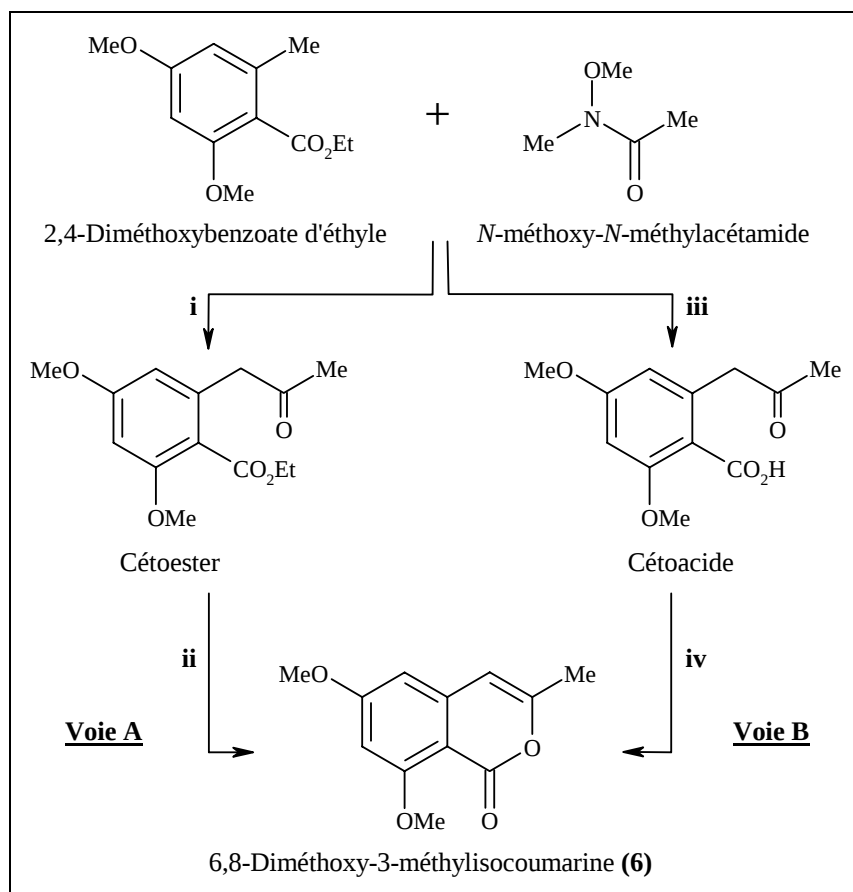


Schéma 4. Rétrosynthèse des isocoumarines proposée par Lewis et al.³¹



Voie A : **i**) (a) LDA *in situ*, THF, -78°C ; (b) HCl, H_2O , $-78^{\circ}\text{C} \rightarrow \text{t}^{\circ}\text{a}$ (82%) ;
ii) NaH(1éq.), *t*-Butanol(cat.), Toluène, 80°C (73%).
Voie B³⁷ : **iii**) (a) LDA *in situ*, THF, -78°C ; (b) HCl, H_2O , t°a ;
iv) HClO_4 , Ac_2O , AcOEt .

Schéma 5. Synthèse de 6,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarines proposée par Lewis et *al.*³¹

3.2. Schéma rétrosynthétique :

Pour élaborer ces isocoumarines, nous avons opté pour l'approche décrite par Lewis et *al.*³¹ qui nous semble plus prometteuse et assez simple. Dans cette optique, nous nous sommes aussi intéressés aux modifications qu'ils ont publiées³⁹ à la suite de leur première communication. Par synthèse, nous avons essayé d'innover en développant une nouvelle voie pour la préparation de l'acide orsellinique (§ 3.4.1) précurseur clef des acides homophtalique et C-acétylorsellinique (cétoacide), des intermédiaires cruciaux dans la synthèse des isocoumarines 7 et 8 (schéma 6). Nous avons aussi été confronté à des surprises par rapport à la structure réelle de l'acide C-acétylorsellinique (§ 3.5) dont la structure a été confirmée par analyse rayons X.

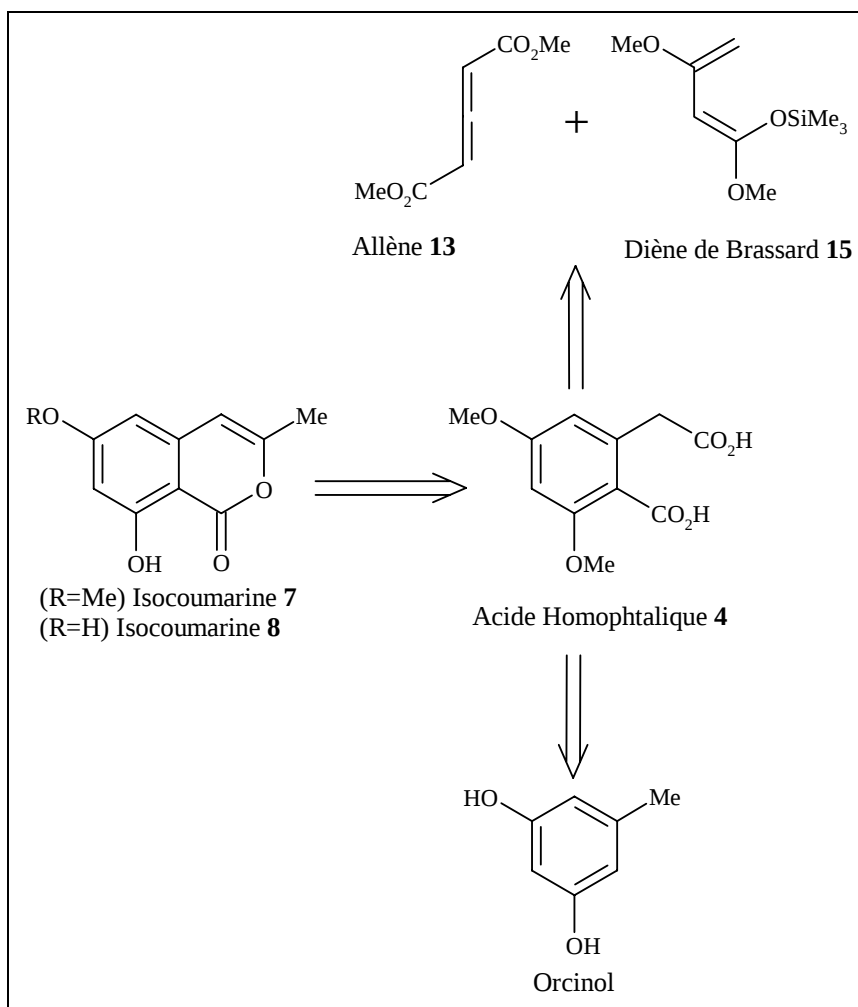


Schéma 6. Rétrosynthèse des isocoumarines 7 et 8

3.3. Synthèse de l'acide homophtalique 4 selon la voie A :

Dans l'optique d'utiliser les voies de synthèses les plus confirmées et citées, nous avons été séduit dans un premier temps par l'approche employée par Caliskan et *al.*⁴⁷ (schéma 7 ; voie A) pour la synthèse de la viocristine et ses analogues⁴⁸ (figure 6)⁴⁹ connus pour leur activité antibactérienne assez particulière. Tout récemment, Krohn et *al.*⁵⁰ ont repris ce même itinéraire pour la synthèse de la premithramycinone et ses dérivés (figure 6), célèbres pour leurs remarquables activités antitumorales⁵¹. Cette stratégie leur a été d'une grande utilité dans la construction de noyaux carbocycliques employés comme structures fondamentales dans leurs molécules.

En conclusion, cette approche est décrite comme étant potentiellement une des plus simple pour la conception des systèmes à base d'homophtalate, elle se résume en une cycloaddition Diels-Alder des di- ou tri-oxy butadiènes sur des diesters allénique (diénophiles).

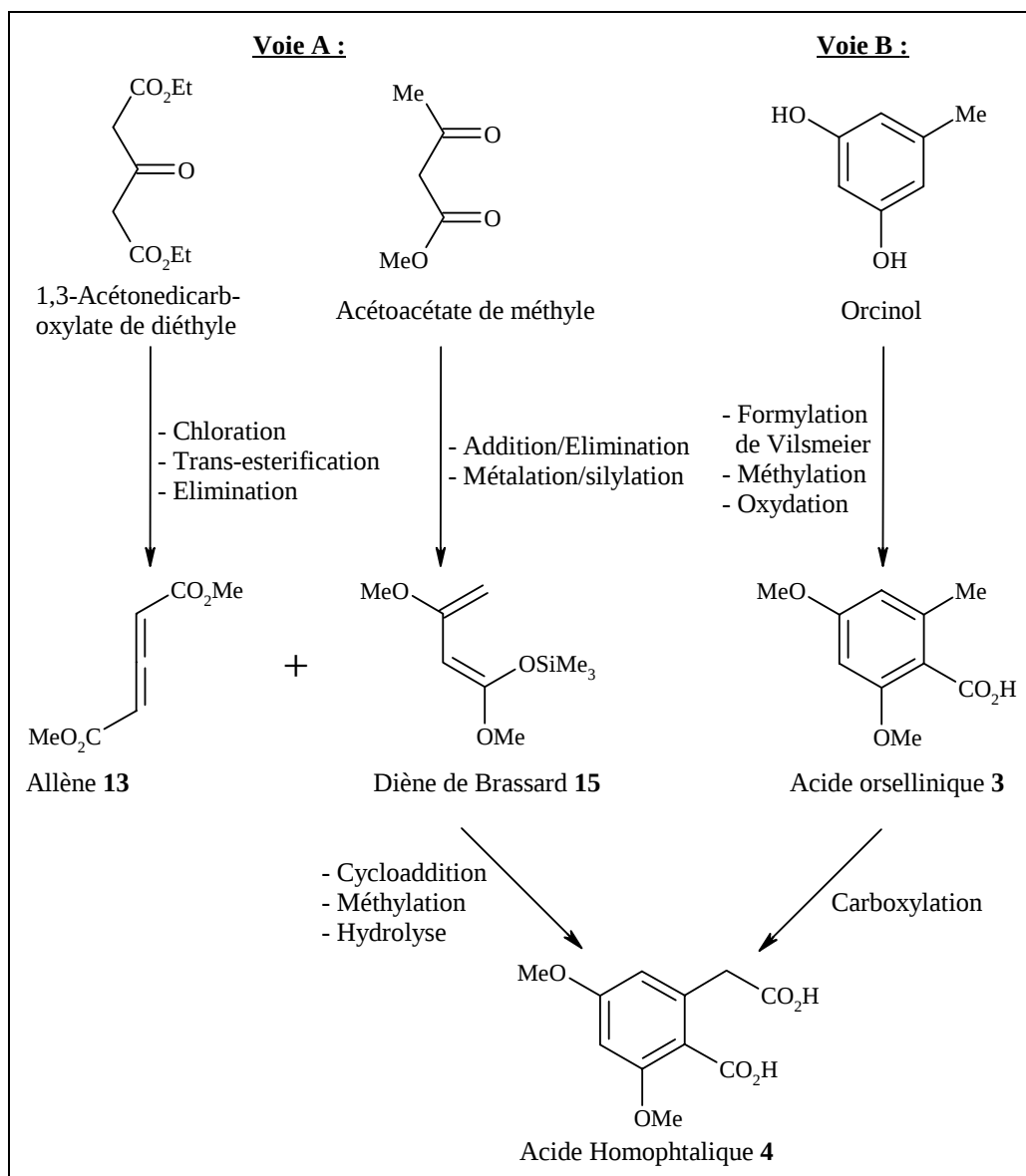


Schéma 7. Voies de synthèse de l'acide homophtalique 4

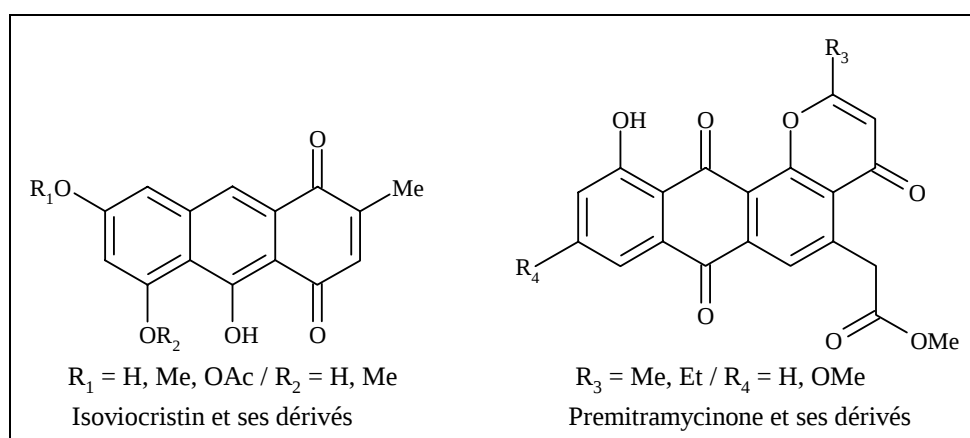


Figure 6. Isoviocristin, Premitracycinone et leurs analogues

3.3.1. Synthèse du penta-2,3-diénedioate de diméthyle (allène) (**13**) :

3.3.1.1. Résultats antérieurs :

L'allène **13** et le diène **15** n'étant pas des précurseurs commerciaux, nous avons dû, dans un premier temps, étudier leurs synthèses avant d'envisager la formation de l'intermédiaire clef **4**.

La véritable histoire de l'allène **13** a commencé en 1954, depuis que Jones et *al.*⁵² ont rapporté que la structure réelle de l'acide glutinique, préparé par une oxydation de l'acide 5-hydroxyenta-2-ynoïque, n'est pas acétylénique⁵³ mais plutôt allénique (schéma 8). Interrogés sur la structure originale du diacide qui était loin d'être connue à l'époque, ils n'ont pas tardé à être convaincus devant la répétition des travaux d'Ingold⁵⁴ et Van der Zanden⁵⁵. Ces derniers mettaient plutôt en l'évidence la structure allénique de l'acide glutinique, préparé par l'action de l'hydroxyde de potassium sur l'acide chloroglutaconique, supportée par la prédominance cinétique de l'attaque de l'anion hydroxyle sur les protons doublement activés du groupement méthylène et par la stabilité thermodynamique de l'isomère allénique. De plus, l'apport des données spectroscopiques de l'ultraviolet et l'infrarouge du diacide, ainsi que celles du diester équivalent (allène **13**) obtenu après méthylation avec le diazométhane, ont légitimé cette structure. Cependant pour marier les deux propositions, Jones et *al.*⁵² ont mis en évidence l'existence d'un réarrangement prototropique qui explique la transition par la structure acétylénique avant l'obtention de l'isomère allénique.

Sur la base de ces réflexions, Craig et *al.*⁵⁶ ont publié une des premières synthèses de l'allène **13** (schéma 9). A partir de 1,3-acétonedicarboxylate de diméthyle, les auteurs ont tout d'abord préparé l'énolate à travers une déprotonation du méthylène doublement activé par les carbonyles en alpha, avec de l'éthanolate de sodium préparé *in situ*, suivie d'une addition électrophile sur le chlorophosphate de diéthyle qui conduit au dérivé trans-énolphosphate avec un rendement de 40%. Ce dernier ensuite converti en allène **13** par une élimination régiosélective réalisée par l'action de l'anion hydroxyle sur un proton du second groupement méthylène, plus acide que celui porté par la double liaison. Le rendement est aussi de 40%. La même élimination est assurée avec un rendement plus intéressant (70%), à l'aide du carbonate de sodium à 10% en réaction durant 90 minutes à température ambiante mais qui chute spectaculairement à 12% quand la réaction est prolongée pendant 4 heures dans les mêmes conditions.

Cette approche est d'un rendement global relativement médiocre. La fragilité de la réaction pourrait être expliquée par une compétition avec la substitution nucléophile du groupement

phosphate par l'ion hydroxyle confirmée par la récupération de l'adduit équivalent. Cette substitution nucléophile est favorisée par le caractère fortement nucléophile de la base et un environnement stérique favorable.

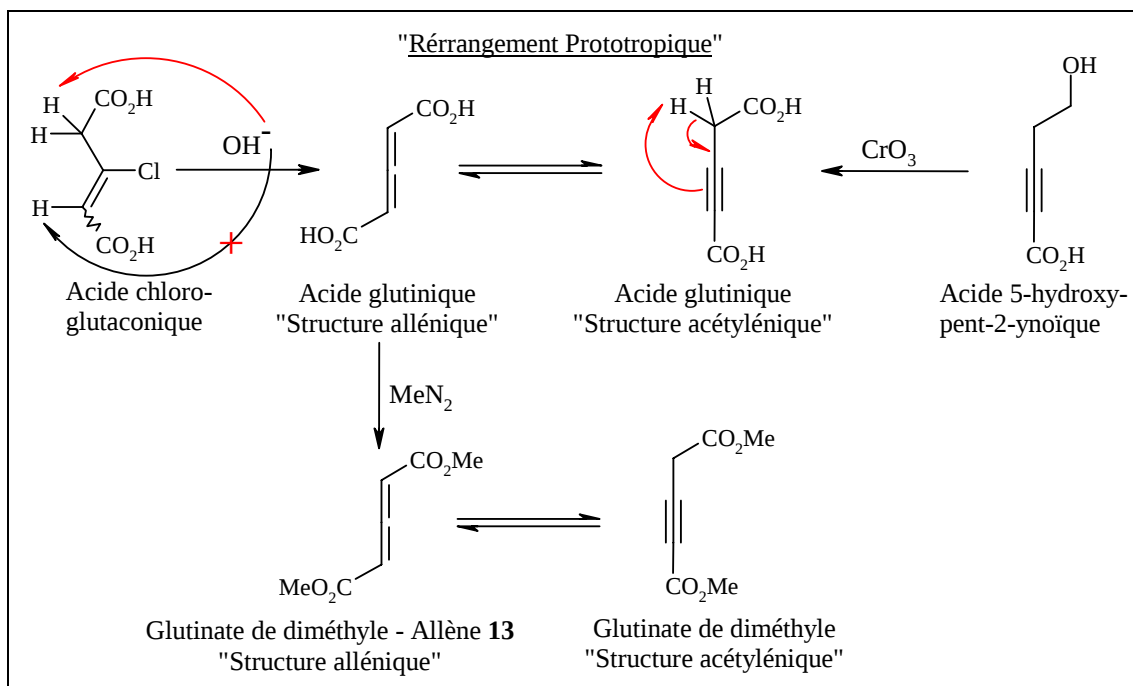
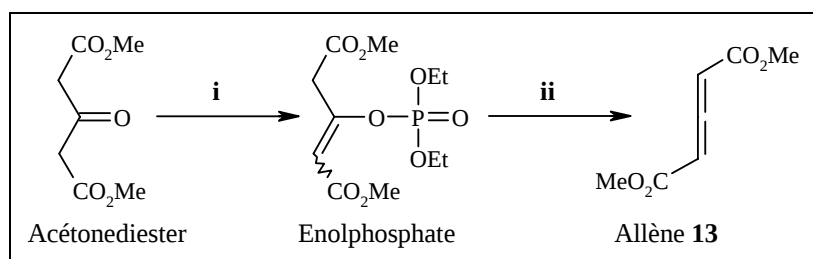


Schéma 8. Structure allénique de l'acide glutinique et ses dérivés vue par Jones et *al.*⁵²

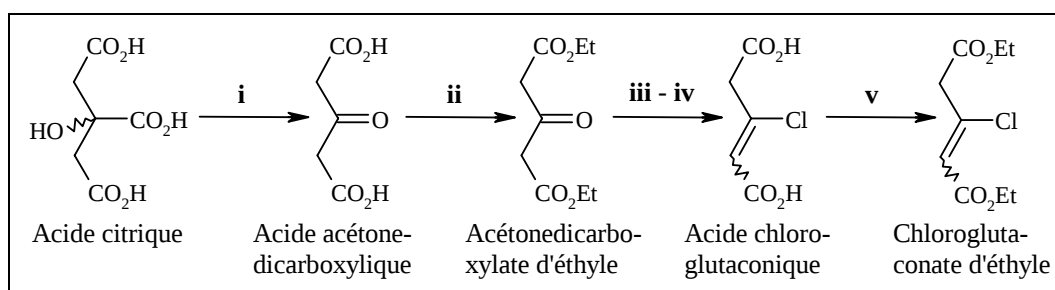


i) $\text{POCl}(\text{OEt})_2$, Na/EtOH , 0°C (40%) ; **ii)** (a) NaOH 4%, Et_2O , 0°C (40%) ; (b) Na_2CO_3 10%, Et_2O , 25°C (70%).

Schéma 9. Synthèse de l'allène 13 proposée par Craig et *al.*⁵⁶

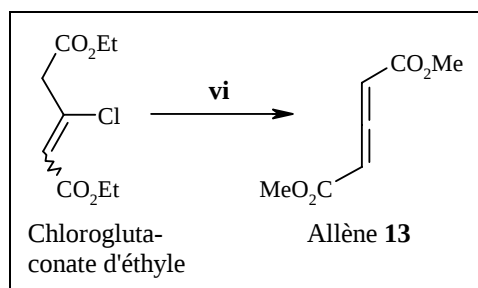
Toutefois, en 1969 Buchi et *al.*⁵⁷ ont repris le même itinéraire que celui utilisé en 1922 par Ingold et *al.*⁵⁴ pour la synthèse du β -chloroglutaconate de diméthyle précurseur direct de l'allène 13 (schéma 10). L'acide citrique a été converti en acide acétonedicarboxylique via une décarboxylation en milieu acide associée à un clivage oxydant, le rendement est de 80%. L'estérification de l'acétonediester équivalent est effectuée dans l'éthanol avec 60% de rendement. La suite de la synthèse, est une chloration au pentachlorure de phosphore, associée

à une étonnante hydrolyse acide à 70% qui est à notre avis involontaire et surtout inutile, vu que l'étape d'après n'est qu'une régénération des groupements esters par estérification à l'éthanol (90%). Le β -chloroglutaconate d'éthyle est récupéré avec un rendement global de 30%, à prendre avec beaucoup de réserve par rapport aux éléments de purification et d'analyse de l'époque, chose qui n'a pas été confirmée par Buchi ainsi que la stéréochimie du diester chloré isolé. L'étape finale qui permet d'obtenir l'allène **13** est accomplie suite à une élimination régiosélective produite par l'action de la triéthyle amine (schéma 11). Le choix d'une base aussi encombrante est crucial pour éviter le risque d'une substitution nucléophile, souvent en compétition dans ce type de réaction. Le rendement de cette étape est de 63%.



i) H_2SO_4 (80%) **ii)** HCl , EtOH , 25°C (60%) **iii)** PCl_5 , 50°C et **iv)** HCl 20% (70%) **v)** HCl , EtOH , 25°C (90%).

Schéma 10. Synthèse du β -chloroglutaconate d'éthyle proposée par Ingold et *al.*⁵⁴

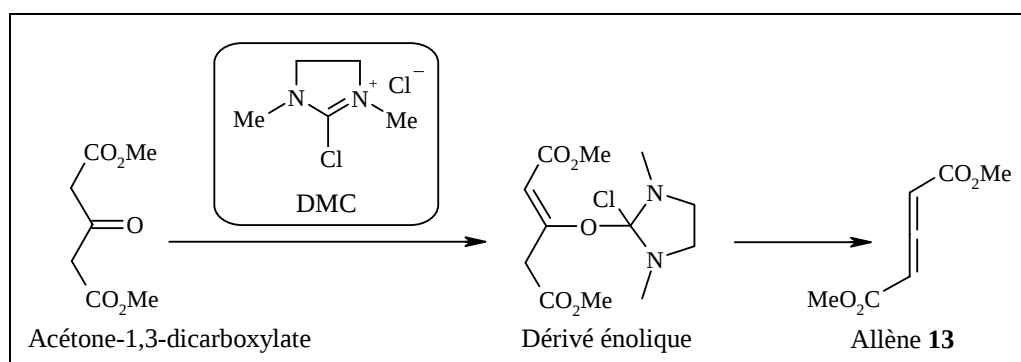


vi) Et_3N , THF, $0-5^\circ\text{C}$ (63%).

Schéma 11. Suite de synthèse de l'allène **13 par Buchi et *al.*⁵⁷**

Node et *al.*⁵⁸, ont développé une synthèse efficace de l'allène **13** et en une seule étape à partir de l'acétone-1,3-dicarboxylate par l'utilisation de leur réactif vedette, le DMC comme agent de déshydratation (schéma 12). Dans les multiples utilisations⁵⁹ en synthèse organique, c'est essentiellement celle pour la préparation des chlorures de vinyle à partir des 1,3-dicétones⁶⁰ qui a inspiré le plus Node et *al.*⁵⁸. La réaction de l'acétone-1,3-dicarboxylate avec le DMC (1.2éq.) et la triéthylamine (1éq.) dans le dichlorométhane à température ambiante donnait

plutôt le chlorure de vinyle équivalent, suite à une addition de Michaël actionnée par l'attaque de l'anion chlorure sur le dérivé énolique intermédiaire. Alors que, le traitement avec 3 équivalents de triéthylamine engendrait une nette amélioration aussi bien du rendement de l'allène **13** (90%), qu'une diminution du temps de la réaction de 24 heures à 1 heure. Cette réussite est due certainement à la déprotonation par la triéthylamine du proton suffisamment acide du groupement méthylène du dérivé énolique préformé *in situ*, donnant directement l'allène **13** et le 1,3-diméthyl-2-imidazolidinone comme produit d'élimination.



Chlorure de 2-chloro-1,3-diméthylimidazolinium (DMC), Et₃N (3éq.), THF, 25°C (90%).

Schéma 12. Synthèse de l'allène 13 proposée par Node et al.⁵⁸

3.3.1.2. Préparation de l'allène 13 :

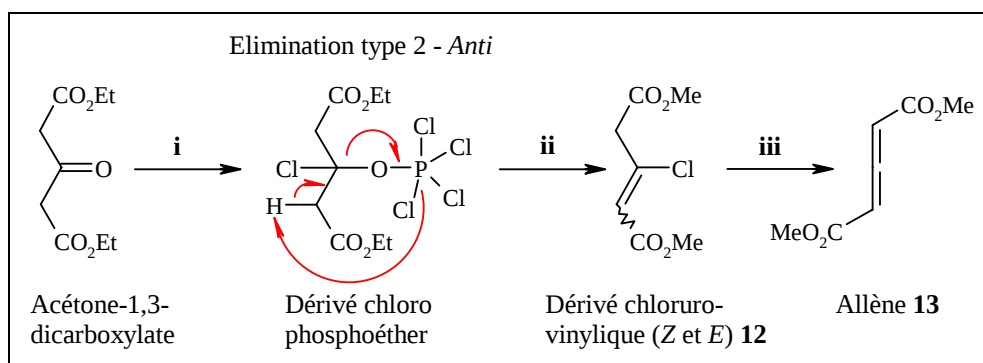
Pour la synthèse de l'allène **13** notre choix a porté sur l'approche adoptée par Caliskan⁴⁷ et Krohn⁵⁰, reprise sur Bryson et al.⁶¹, en raison de sa simplicité (deux étapes), de son rendement assez correct et surtout pour la disponibilité des réactifs de départ qu'on avait en stock, chose qui nous a dissuadé de pencher vers l'approche de Node et al.⁵⁸ qui paraissait plus directe mais coûteuse.

La première étape (schéma 13) est la chloration de l'acétone-1,3-dicarboxylate en présence du pentachlorure de phosphore suivie d'une élimination concertée de type 2 - *Anti* de l'intermédiaire chlorophosphoéther qui donne un mélange de diastéréoisomères *Z* et *E* (schéma 14). La suite consiste en une trans-estérification dans le méthanol qui donne le dérivé **12**. La deuxième étape est une élimination de HCl due à une déprotonation par la triéthylamine du proton suffisamment acide du groupement méthylène qui fournit l'allène **13**.

Au cours de cette réaction, nous avons réussi à améliorer les rendements des deux étapes à savoir la chloration/trans-estérification et l'élimination que nous avons réalisé respectivement à 65% et 85% ce qui nous donne un rendement global satisfaisant de 55%.

En RMN ^1H du dérivé **12**, nous constatons la présence des deux singulets : $2\times(\text{OCH}_3)$ à δ 3.72 et 3.74, du singlet de (CH_2) à δ 4.11, confirmé aussi par le DEPT, et de deux singulets : $2(\text{CH}=\text{C})$ à δ 6.19 pour le diastéréoisomère *Z* et à δ 6.26 pour le diastéréoisomère *E* avec un rapport diastéréoisomérique de *E/Z* : **8/1**, qui explique la tendance de la molécule à éviter la gêne stérique provoqué par la présence des deux groupements $(-\text{CO}_2\text{Et})$ et $(-\text{OPCl}_4)$ dans le même plan. L'identification des déplacements chimiques des deux diastéréoisomères et de leur rapport diastéréoisomérique a été également confirmée par les méthodes de calcul théorique selon Pascual et *al.*⁶² : $[\delta_{\text{théorique}}(\text{Z}) 5.89 < \delta_{\text{théorique}}(\text{E}) 6.02]$.

Dans la RMN de l'allène **13**, nous enregistrons l'existence d'un seul singlet pour $2\times(\text{OCH}_3)$ à δ 3.79 et d'un autre singlet pour $2\times(\text{CH}=\text{C})$ à δ 6.06, qui prouvent l'obtention de la bonne molécule.



i) PCl_5 , $t^\circ\text{a}$ et **ii)** H_2SO_4 , MeOH , rx (60%) ; **iii)** Et_3N , THF, $0-5^\circ\text{C}$ (64%).

Schéma 13. Synthèse de l'allène 13

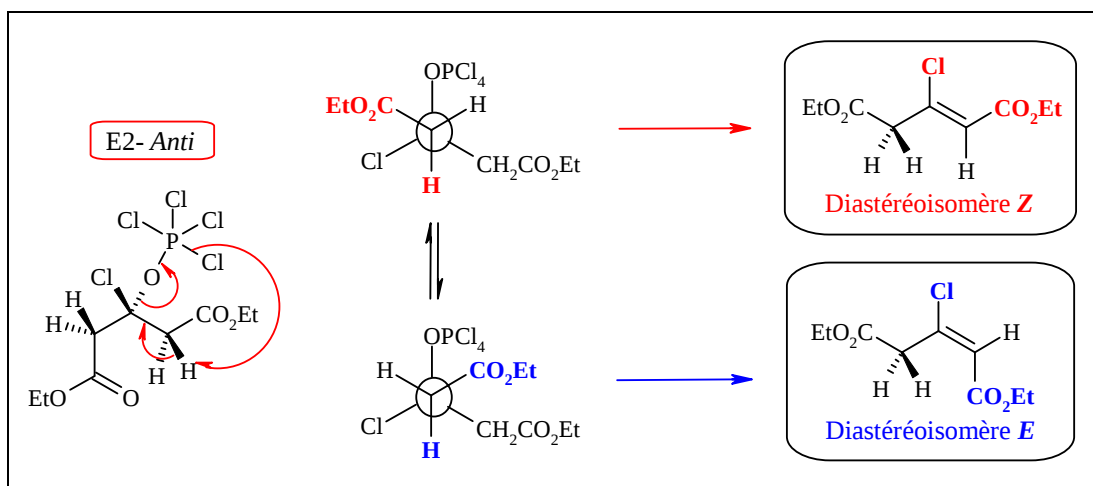


Schéma 14. Mécanisme réactionnel plausible de synthèse du dérivé 12

3.3.2. Synthèse du 1,3-diméthoxy-1-[(triméthylsilyl)oxy]buta-1,3-diène (diène de Brassard) (15) :

3.3.2.1. Résultats antérieurs :

En 1979, Savard et Brassard⁶³ ont mis au point une nouvelle approche qui a révolutionnée la chimie des systèmes conjugués. Ils ont proposé une synthèse efficace des acétals de vinylcétène obtenus directement des ions énolates⁶⁴⁻⁶⁷ produits par l'action de bases fortes sur des esters α,β -insaturés. Cette découverte vient faire face à la complexité et la diversité des méthodes habituellement requises⁶⁸⁻⁷³ pour la préparation des diènes appropriés pour chaque modèle de substitution désiré. Elle est capable à la fois de produire une grande variété de ces synthons, et d'assurer un maximum de flexibilité dans l'arrangement des différents substituants souvent observés dans les produits naturels en occurrence des quinones. La procédure la plus prestigieuse consistait à traiter l'ester α,β -insaturé dans le THF sec à une température de -78°C avec de la diisopropylamide de lithium (LDA) pour générer l'énolate équivalent, qui réagit par la suite avec le chlorotriméthylsilane pour donner le 1-méthoxy-1-trialkylsiloxybutadiène correspondant avec des rendements variant de 40 à 85% (schéma 15), des produits qui étaient jusque là dans l'ombre soit parce qu'ils étaient inconnus ou brièvement cités^{67;74}.

Par la suite, le choix de la base forte et de meilleures conditions réactionnelles ont été largement étudiés dans l'objectif d'optimiser au maximum ce type de réaction. Dans ce cadre, des bases telles la lithium cyclohexylisopropylamide⁷⁵, la 2,2,6,6-tetraméthylpiperidide⁷⁶ et la sodium ou lithium bistriméthylsilylamide⁷⁷ ont été de bonnes candidates. Néanmoins la

procédure assez basique de Ainsworth et *al.*⁶⁴ conçue pour des systèmes plus simples en utilisant la lithium diisopropylamide, a été de loin la combinaison la plus satisfaisante. Egalement, la bistriméthylsilylamide de sodium avait donné des rendements comparables mais malheureusement dans très peu de cas examinés, cependant, elle s'est avérée beaucoup moins commode en pratique.

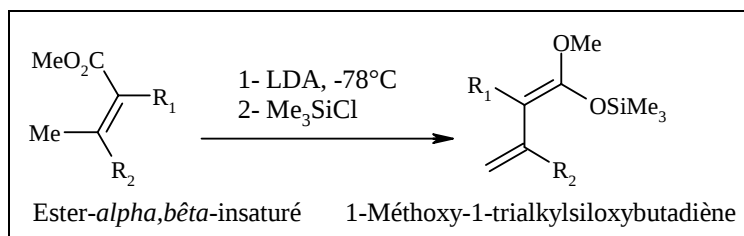


Schéma 15. Synthèse des 1-méthoxy-1-trialkylsiloxybutadiènes proposée en 1979 par Savard et Brassard⁶³

Tableau 1. Effet de divers paramètres sur le rendement du diène 15 cité en 1984 par Savard et Brassard⁷⁸

Nature de la base et nombre d'équivalents/substrat	Temps de réaction (minutes)	Temps d'addition (minutes)	Pression de distillation (mmHg)	Rendement (%)
LDA (1:1)	10	5	15	50
LDA (2:1)	30	6	15	49
LDA (2:1)	30	3	15	44
LDA (1:1) ⁱ	40	15 ⁱⁱ	0.5	71
LDA (1:1)	30	75 ⁱⁱ	0.4	71
LDA (1:1)	60	180 ⁱⁱ	17	54
LICA (1:1)	15	15	23	50
LICA (1:1)	30	5	15	50
LTMP (1:1)	30	5	7	48

i) Addition inverse ; ii) CITMS dilué dans un volume égal de THF.

De multiples essais ont été effectués dans le but d'établir de meilleures conditions réactionnelles comme le montre le tableau 1⁷⁸. Ces essais ont montré clairement que la distillation sous pression de plus en plus basse est l'unique facteur important affectant directement le rendement. Cela a aussi mis en évidence la facilité avec laquelle ces composés subissent le réarrangement thermique^{79;80}. Egalement, il est important d'indiquer qu'une addition assez lente du chlorosilane à -78°C, préférablement dilué dans le THF, suivie d'un retour graduel à température ambiante, contribue positivement à améliorer le processus global.

Parmi les diènes les plus simples, figurent les dérivés tri-méthylés ou tri-méthoxylés. Ils ont été obtenus directement à partir des méthylesters α,β -insaturés correspondants, isolés généralement avec de bons rendements. Ils sont les plus stables de toute la série et peuvent être conservés pendant plusieurs semaines sans détérioration apparente.

La stéréochimie de ces diènes était mal connue pendant des années jusqu'à 1985, quand Bell et *al.*⁸¹ ont démontré par des analyses spectroscopiques que le diène **15** possédait une stéréochimie *Z*. Auparavant, les 1,1,3-trioxy-diènes dérivés principalement de l'acétoacétate de méthyle, avaient un intérêt particulier dans la préparation des composés aromatiques par cycloaddition, dès qu'ils sont sous forme de 1,3-dioxy-polycétides. Cependant, d'autres travaux^{79;82;83} ont plutôt montrés que tels diènes surchauffés au delà de 80°C peuvent aisément subir une migration intramoléculaire du silicium pour donner exclusivement des esters de stéréochimie *E* (schéma 16). Toutefois, la formation des diènes elle-même est remarquablement stéréosélective vu que le précurseur sous forme de mélange diastéréoisomérique a conduit sélectivement à un seul isomère géométrique de diènes. Il est aussi à noter dans leurs précédents travaux⁸², que la facilité et la faisabilité du réarrangement thermique [1,5] nécessitaient une stéréochimie *Z* des diènes.

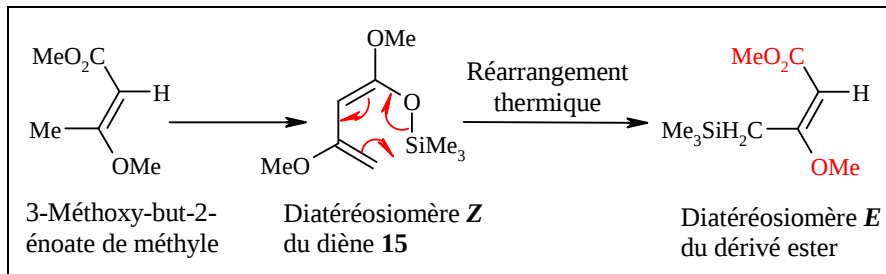


Schéma 16. Stéréochimie du diène 15 démontrée par Bell et *al.*⁸¹

3.3.2.2. Préparation du diène 15 :

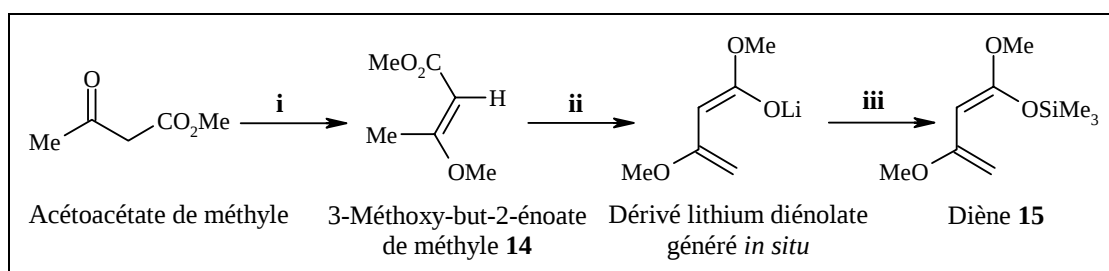
Les travaux de synthèse du diène **15** effectués par Savard et Brassard⁶³ ont largement intéressé un nombre considérable de chercheurs. Nous citons à titre d'exemple Midland et *al.*⁸⁴, Coleman et *al.*⁸⁵ ou tout récemment Krohn et *al.*⁵⁰ et Van et *al.*⁸⁶. Pour notre synthèse, nous nous sommes inspirés de celle rapportée par Midland et *al.*⁸⁴.

Pour la préparation du diène **15** (schéma 17), nous avons converti l'acétoacétate de méthyle en méthyle éno-éther équivalent **14** (ester α,β -insaturé) par une addition nucléophile du triméthyle orthoformate catalysée par l'acide sulfurique, suivie d'une élimination du diméthoxyméthanol. Le rendement de cette étape est de 77%.

La métallation du méthylester α,β -insaturé **14** est effectuée en présence de la diisopropylamide de lithium (LDA) à -78°C pour obtenir le lithium diénolate correspondant qui est par la suite piégé *in situ* avec le chlorotriméthylsilane pour produire le diène **15** avec un rendement de 52%. Ce dernier reste quand même assez correct en comparaison avec les résultats cités précédemment (tableau 1), sachant que la pression la plus basse que nous avons pu obtenir au cours de la distillation est de 12 mmHg. Notre rendement global est de 41%.

La RMN ^1H du dérivé **14** confirme la présence d'un nouveau singulet de ($=\text{C}-\text{OCH}_3$) à δ 3.61 et du singulet de ($=\text{CH}$) à δ 5.01, et la disparition du (CH_2) du produit de départ confirmée par le DEPT.

Dans le spectre RMN ^1H du diène **15** nous constatons la présence du singulet de (SiMe_3) à δ 0.26, du doublet de doublet d'un proton ($\text{HCH}=\text{}$) à δ 3.99 qui couple à la fois avec le proton géminale et avec celui en β . Le deuxième proton méthylénique est présent en doublet à δ 4.03 ainsi que le ($=\text{CH}$) à δ 4.34. Les $2\times(\text{OCH}_3)$ donnent deux singulets à δ 3.56 et 3.57, ce qui vérifie la structure du diène **15**.



i) $(\text{MeO})_3\text{CH}$, H_2SO_4 (77%) **ii)** LDA, THF, -78°C et **iii)** Me_3SiCl , THF, -78°C (52%).

Schéma 17. Synthèse du diène **15**

3.3.3. Synthèse de l'acide homophthalique 4 par cycloaddition Diels-Alder :

3.3.3.1. Cycloaddition Diels-Alder :

L'aboutissement logique de la synthèse de l'allène **13** et du diène **15** est la construction d'un système à base d'homophthalate suivant une cycloaddition Diels-Alder.

Du point de vue synthèse, la cycloaddition la plus importante et la plus courante est la *réaction de Diels-Alder**. Cette réaction a fait l'objet d'un grand nombre d'études théoriques et mécanistiques⁸⁷ et est utilisée dans de nombreuses synthèses. La réaction de Diels-Alder est une réaction d'addition d'un alcène sur un diène pour donner un cyclohexène^{88;89}. Elle est dite cycloaddition [4+2] parce que 4 électrons π venant du diène et 2 électrons π de l'alcène appelé diénophile sont directement engagés dans la formation de liaisons (figure 7).

Toutes les données disponibles sont compatibles avec la description d'un processus concerté⁹⁰. De plus, la réaction montre une grande régio- et stéréospécificité^{87;91;92} et est une addition suprafaciale par rapport à l'alcène et au diène.

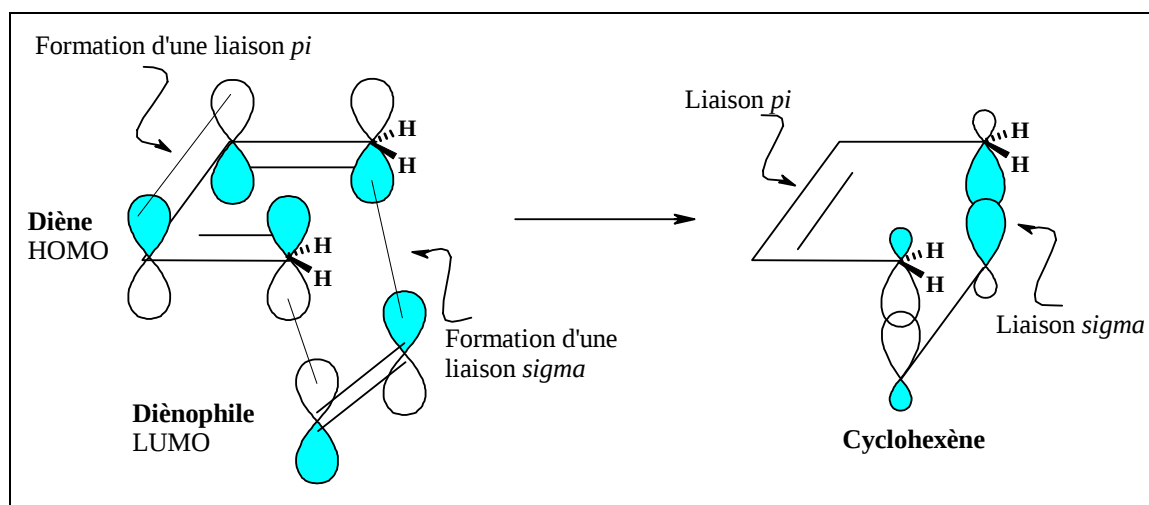


Figure 7. Représentation orbitaire de la réaction de Diels-Alder⁹³

* Prof. Otto P.H. Diels (1876-1954) et Prof. Kurt Alder (1902-1958), prix Nobel de Chimie 1950

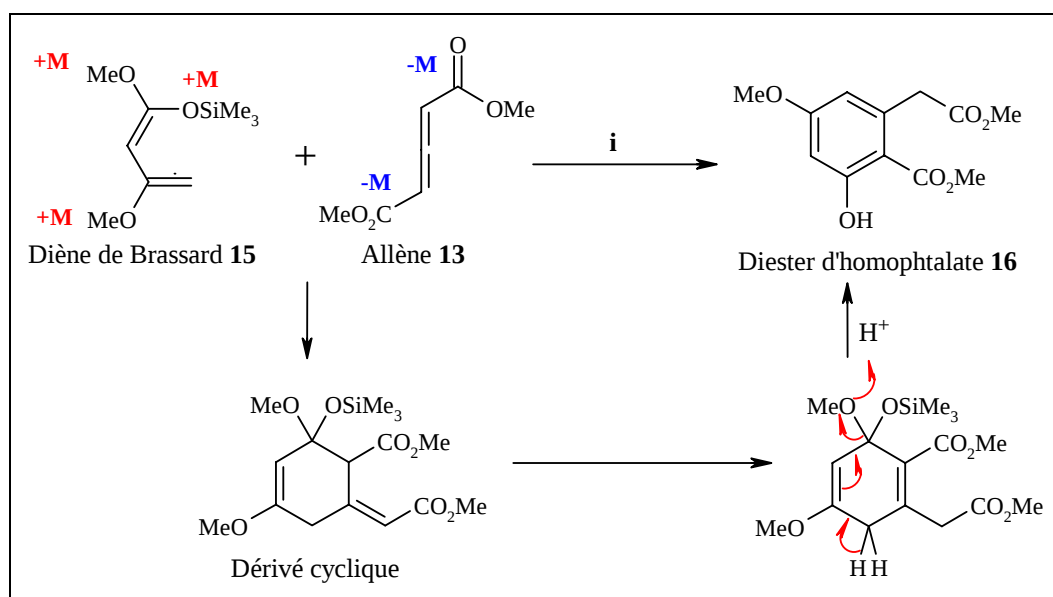
L'adaptation de la cycloaddition Diels-Alder à nos modèles respectifs de diène et d'allène a été initiée en 1979 par Danishefsky et *al.*⁹⁴ puis largement citée par la suite dans plusieurs travaux, dont récemment et à titre d'exemple, Caliskan et *al.*⁴⁷ et Krohn et *al.*⁵⁰. La structure et la fonctionnalisation du diène **15** et de l'allène **13** ont été dessinées dans le but de faire réagir respectivement un puissant énophile avec un diénophile en déficience d'électrons pour produire plus de cibles aromatiques oxygénées et de cycles multi substitués contenant des fonctions β -dicarbylole ou équivalent.

L'existence d'un trioxy- sur le diène **15** lui permet à la fois d'être riche en électrons par un effet (+M) (schéma 18) et d'assurer la di-oxygénation en α et γ dans la structure du diester **16**. Alors que pour le diénophile **13**, la présence symétrique d'un diméthylester lui garanti plutôt la pauvreté électronique mais aussi la β -diestérification.

3.3.3.2. Préparation de l'acide homophtalique **4** (voie A) :

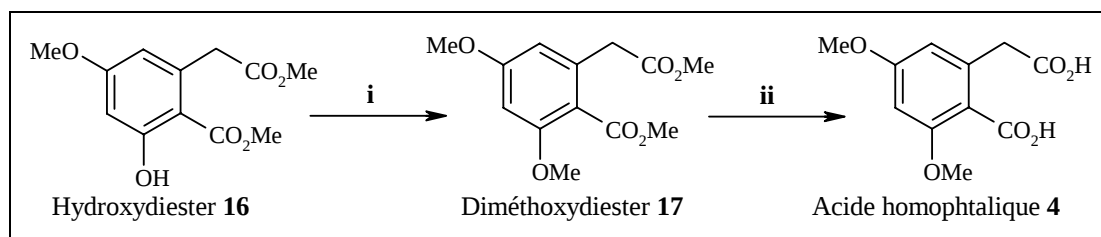
Pour la synthèse de l'homophtalate de diméthyle **16**, nous avons effectué une cycloaddition Diels-Alder de l'allène **13** avec le diène **15** par traitement à reflux dans le benzène qui conduit à un hypothétique dérivé cyclique non isolé (schéma 18). Ce dernier s'aromatise rapidement suite à la perte du méthanol due au contact avec l'acide.

Le diester **16** est obtenu avec un rendement modeste de 45%, qui reste quand même acceptable par rapport aux contraintes de la réaction. La méthylation de ce dernier suivie d'une hydrolyse basique aboutissent finalement à l'acide homophtalique **4** (schéma 19).



i) Benzène, rx 20h, H_3O^+ (45%).

Schéma 18. Synthèse du diester **16**



i) MeI, Ag_2O , CH_2Cl_2 , $t^\circ\text{a}$ (98%) **ii)** NaOH 10%, 80°C (86%).

Schéma 19. Synthèse de l'acide homophthalique **4**

En RMN ^1H , nous constatons la présence du singulet de (CH_2) à δ 3.79 confirmée par le DEPT, des deux singulets : $2 \times (\text{OCH}_3)$ à δ 3.86 et 3.90 et des deux doublets : $2 \times (\text{H}_{\text{aromatique}})$ à δ 6.58 et 6.61, ce qui confirme notre structure.

En conclusion, la préparation de l'acide homophthalique **4**, selon la voie A, n'est pas convaincante. En effet, l'acide **4** est obtenu avec un rendement global faible (15%), après sept longues étapes de synthèse.

Au cours de cette synthèse, nous avons rencontré beaucoup de difficultés lors de la préparation et la conservation du diène **15**, une molécule à la fois petite, fragile et lourdement chargée. Nous avons aussi constaté que la cycloaddition Diels-Alder n'a pas été aussi efficace que ce que nous avons espéré.

Devant toutes ces contraintes, nous étions dans l'obligation de trouver une meilleure approche avec moins d'étapes, de bons rendements, des intermédiaires stables et se construit sur un produit de départ offrant une structure aromatique stable et rigide.

3.4. Synthèse de l'acide homophtalique 4 selon la voie B :

Dans cette voie de synthèse, notre choix de produit de départ s'est porté sur l'orcinol. Un produit disposant d'un noyau aromatique stable et porteur d'une partie des fonctions recherchées, à savoir les deux hydroxyles et le méthyle qui sont respectivement tous en position *méto* offrant ainsi une structure très proche de celle du produit cible : l'acide orsellinique 3. L'idée est de réaliser une formylation en *ortho* du méthyle qui nous permettra par la suite d'effectuer une oxydation pour obtenir l'acide 3 puis le convertir en acide homophtalique 4 (schéma 20).

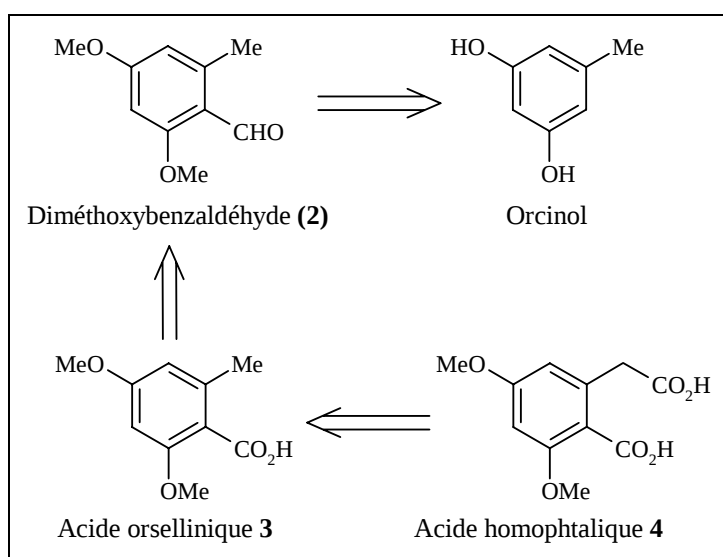


Schéma 20. Rétrosynthèse de l'acide homophtalique 4

3.4.1. Synthèse de l'acide orsellinique 3 :

Pour démarrer cette synthèse nous étions dans un premiers temps inspirés par la méthode employée par Lewis et *al.*³⁹ qui met en valeur le système de formylation introduit par Gattermann^{95;96} simplifié ensuite par Adams⁹⁷, composé de $\text{Zn}(\text{CN})_2/\text{HCl}$ et d' AlCl_3 . Cependant, la complexité de la réaction due à l'utilisation d' HCl gazeux⁹⁸ qui n'est ni facile à manipuler ni à doser en plus de sa forte toxicité, nous a obligé à changer de voie de synthèse mais pas de stratégie.

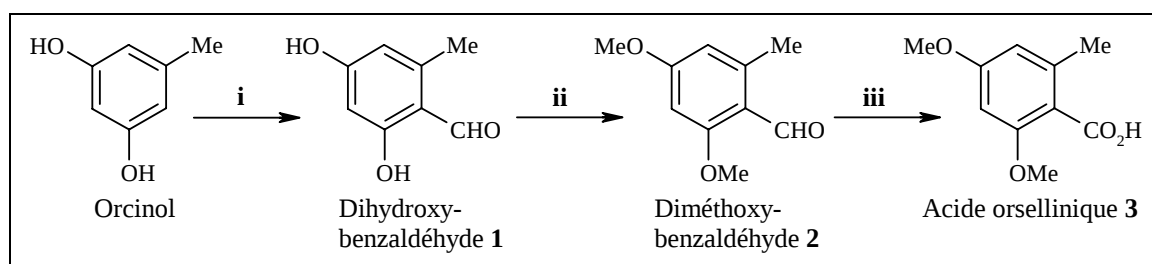
Pour pallier à ce problème, nous avons préféré apporter une nouvelle voie pour la préparation de l'acide orsellinique 3, jusque là, jamais employée dans la synthèse des isocoumarines 7 et 8. Cette une formylation de Vilsmeier et Haack^{99, 100} utilisée avec succès par Xie et *al.*¹⁰¹ dans la synthèse des analogues de Khellactone (DCK).

En effet, Vilsmeier et Haack ont démontré que le *N*-méthylformanilide et l'oxychlorure de phosphore peuvent agir en tant que réactif de formylation pour les composés aromatiques activés^{99;100}. Ce dernier a été ensuite modifié par le remplacement du *N*-méthylformanilide par le *N,N*-diméthylformamide et de l'oxychlorure de phosphore par le phosgène, le chlorure d'oxalyle, le chlorure de thionyle, le pentachlorure de phosphore et des halogénures de sulfonyle etc. Récemment, le réactif composé de DMF et de l'anhydride de dichlorophosphore a montré une excellente réactivité^{102;103}.

3.4.1.1. Oxydation de l'orcinol par formylation de Vilsmeier-Haack :

La préparation de l'acide orsellinique **3** passe tout d'abord par une formylation de l'orcinol (schéma 21). En effet, nous avons traité l'orcinol avec le réactif de Vilsmeier-Haack, préparé par l'action de l'oxychlorure de phosphore (POCl_3) sur le DMF générant *in situ* un bromoiminium hautement électrophile (schéma 22). Celui-ci réagit régiosélectivement comme agent de substitution électrophile en position *ortho* du méthyle, qui est à la fois : 1) triplement activée par les effets (+M) des trois groupements voisins, et 2) la moins encombrée sur le noyau aromatique de l'orcinol. Le dérivé α -chloroamine résultant est ensuite rapidement hydrolysé (hydrolyse basique) pour donner le dihydroxybenzaldéhyde **1** avec un rendement de 76%.

La RMN ^1H du produit obtenu confirme cette formylation par la nette présence du singulet de la fonction CHO à δ 10.10.



i) 1) POCl_3/DMF , 2) NaOH 10% (76%) ii) CH_3I , K_2CO_3 , Acétone, rx (99.8%).
iii) NaClO_2 , NaH_2PO_4 , DMSO , H_2O (80%).

Schéma 21. Synthèse de l'acide orsellinique **3**

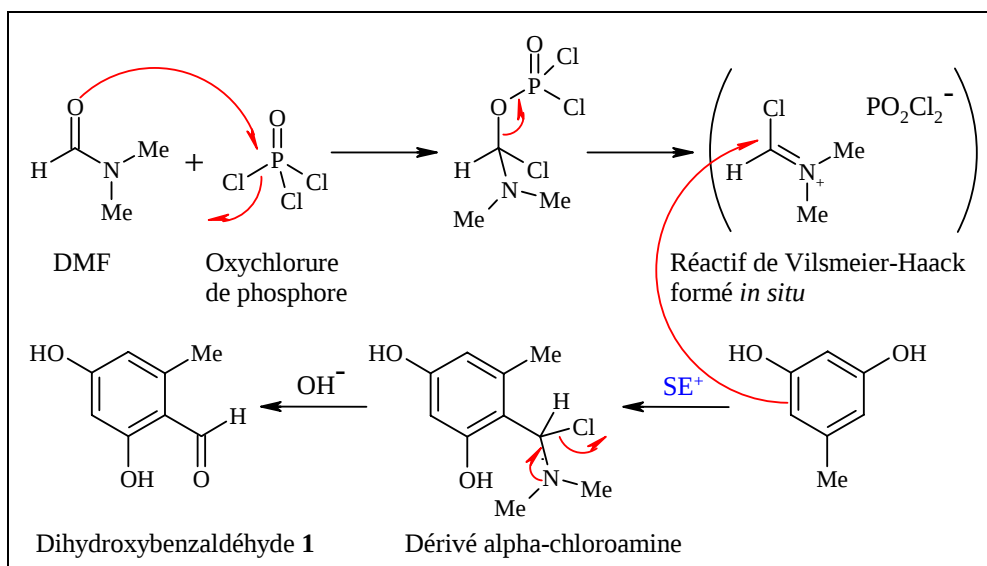


Schéma 22. Mécanisme réactionnel plausible de synthèse du composé 1

La suite de la synthèse est une protection des deux groupements hydroxyles libres par méthylation avec de l'iodométhane qui fournit le diméthoxybenzaldéhyde 2 avec un rendement de 99.8%.

3.4.1.2. Préparation de l'acide orsellinique 3 :

Pour l'oxydation de l'aldéhyde 2 en acide carboxylique, nous nous sommes focalisé sur l'usage du chlorite de sodium (NaClO_2)¹⁰⁴⁻¹¹⁰ comme agent d'oxydation adéquat (schéma 23 ; éq/1) dans des conditions douces.

Cependant, la réussite de cette oxydation dépendant de deux facteurs très importants : l'acide hypochloreux (HOCl) préformé, devrait être capté et détruit *in situ* par un puissant « *scavenger* » dans le but de prévenir l'enchaînement de réactions secondaires, en raison de l'effet potentiel oxydant du couple redox HOCl/Cl^- qui est plus puissant que celui du couple $\text{ClO}_2^-/\text{HOCl}$ ¹¹¹. Un autre facteur aussi important que le premier, est celui de l'oxydation de l'ion chlorite ClO_2^- en ClO_2 (schéma 23 ; éq/2¹¹⁰) qui risque de compromettre la réaction.

Dans la littérature¹⁰⁴⁻¹¹⁰, plusieurs réactifs ont été identifiés comme agents « *scavenger* » de l'acide hypochloreux (HOCl), à savoir : l'acide sulfamique, le résorcinol, le 2-méthyl-2-butène, le peroxyde d'hydrogène, le sulfure de diméthyle et le sulfoxyde de diméthyle (DMSO). Toutefois, le chlorite de sodium associé au DMSO est le plus connu pour oxyder les aldéhydes aromatiques non hydroxylés¹¹².

En effet, Les meilleures conditions réactionnelles sont celles accomplies dans un milieu faiblement acide¹⁰⁷ en présence d'une solution tampon ($\text{pH} \sim 4.3$) avec de l'orthophosphate de

sodium (NaH_2PO_4). Ce dernier, favorise une oxydation rapide et annule toute réduction compétitive de l'acide chloreux HClO_2 en acide hypochloreux HOCl .

Pour réaliser une oxydation efficace de l'aldéhyde **2** en acide orsellinique **3**, nous avons opéré en présence de NaClO_2 (2 équivalents molaires) et NaH_2PO_4 (2 équivalents molaires) dans un solvant constitué de DMSO/ H_2O à température ambiante^{98;113}.

Nous avons obtenu l'acide orsellinique **3** avec un rendement de 80% (schéma 21). Le rendement global des trois étapes est assez bon, il est de 61%.

En RMN ^1H , nous constatons la présence du singulet (CH_3) à δ 2.53, deux singulets $2\times(\text{OCH}_3)$ à δ 3.84 et 3.92, deux doublets $2\times(\text{H}_{\text{aromatique}})$ à δ 6.38 et 6.42 et d'un large singulet qui confirme la fonction acide (CO_2H) à δ 10.06. La structure de l'acide orsellinique **3** est confirmée aussi par les analyses en rayon X (figures 8, 9 et 10 ; tableau 2a).

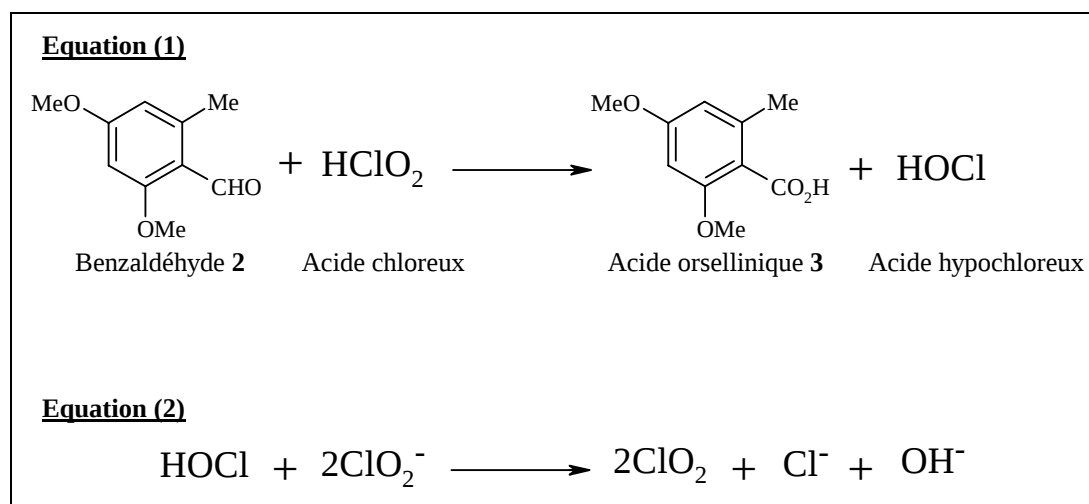


Schéma 23. Oxydation du benzaldéhyde **2** en acide orsellinique **3**

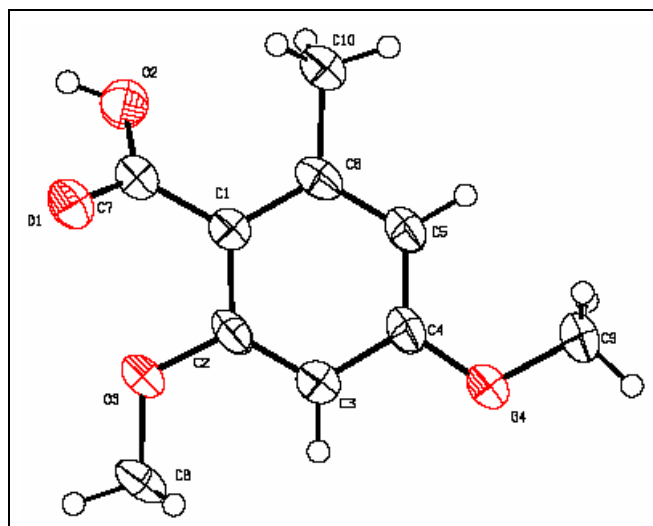


Figure 8. Structure Rayon X de l'acide orsellinique 3

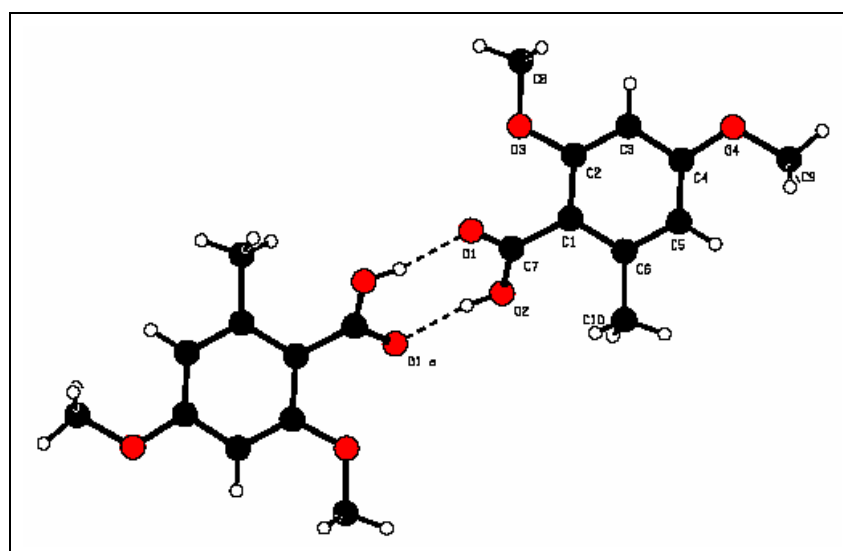


Figure 9. Structure Rayon X montrant la formation d'un dimère *via* deux liaisons hydrogène centrosymétrique

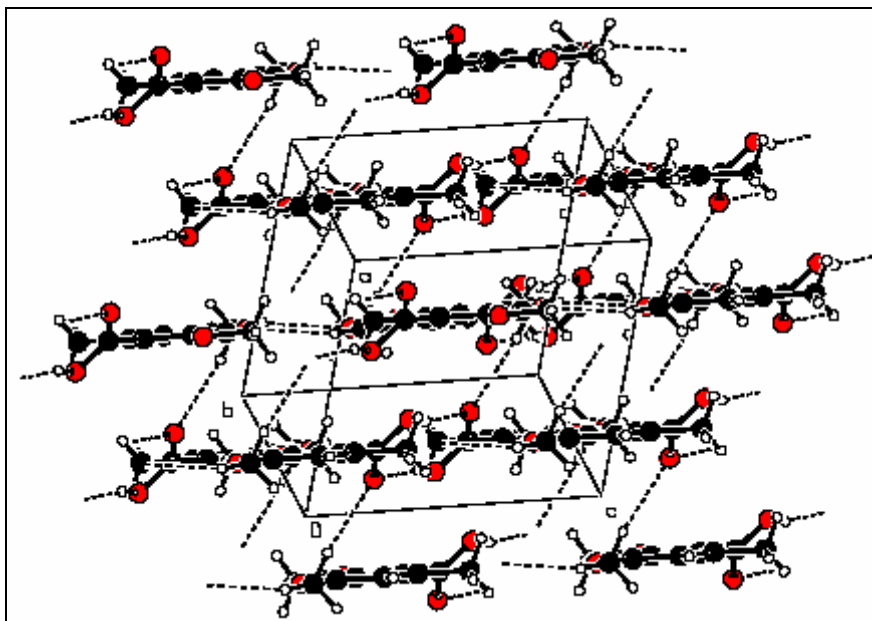


Figure 10. Structure *layer-like* montrant les liaisons hydrogènes intermoléculaires

L'étude de la structure aux rayons X du composé **3** montre que l'arrangement du sel organique moléculaire dans la structure de la couche cristalline est dirigé par des liaisons hydrogène centrosymétrique $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}=\text{C}$ entre l'hydroxyle (O2) de la fonction acide et l'oxygène (O1) du carbonyle et des liaisons hydrogène intermoléculaires $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$ entre le méthyle (C9) et les oxygènes (O4 ; O1) (figures 9 et 10). Ces liaisons hydrogène permettent d'unir les unités liées par les opérations de symétrie et conduire à la formation d'une structure stable (tableau 2b).

Tableau 2b. Liaisons hydrogène de l'acide orsellinique **3**

Liaison Hydrogène	D-H (Å)	H $\cdots$ A (Å)	D $\cdots$ A (Å)	D-H $\cdots$ A (Å)	Opération de symétrie
O2-H2 $\cdots$ O1 ⁱ	0.8400	1.8100	2.636(5)	166.00	ⁱ) -x,1-y,1-z
C9-H9 $\cdots$ O4 ⁱⁱ	0.9800	2.4900	3.358(6)	148.00	ⁱⁱ) 1-x,-1-y,2-z
C9-H9 $\cdots$ O1 ⁱⁱⁱ	0.9800	2.5800	3.550(7)	171.00	ⁱⁱⁱ) x,-1+y,z

Tableau 2a. Paramètres cristallographiques l'acide orsellinique 3

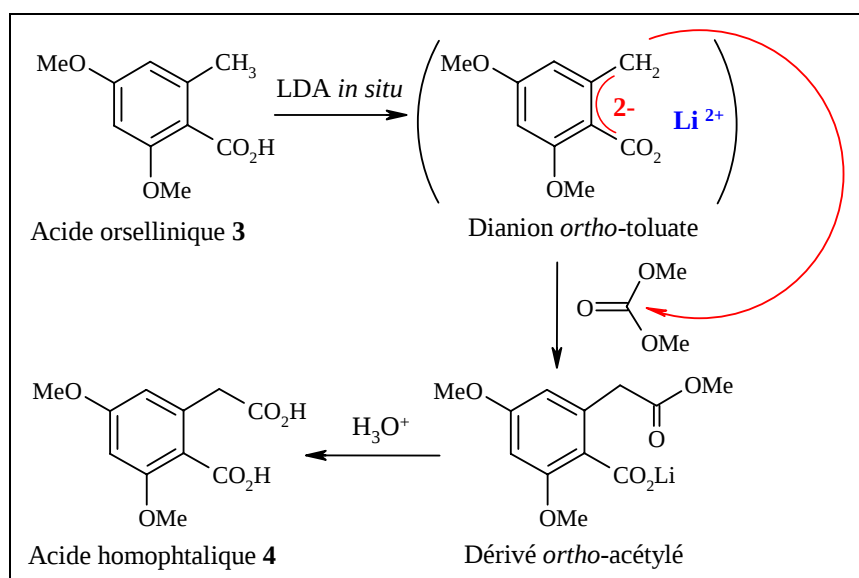
Formule empirique	C ₁₀ H ₁₂ O ₄
Masse molaire	196.20
Forme du cristal	Bloc
Couleur du cristal	Incolore
Dimensions du cristal [mm]	0.40 x 0.40 x 0.40
Système cristallin	Triclinique
Taille de la maille	
<i>a, b, c</i> [Å]	7.357(2), 8.354(3), 8.585(2)
α, β, γ [°]	88.78(3), 75.68(3), 70.21(4)
<i>V</i> [Å ³]	479.9(2)
Groupe spatial	P -1
<i>Z</i>	2
<i>D</i> _{calc} [g.cm ⁻³]	1.358
Radiation utilisée	Mok\alpha
Longueur d'onde [Å]	0.71073
Coefficient d'absorption molaire [mm ⁻¹]	0.105
Température [K]	173(2)
Paramètres affinage cellule	
Réflexions	1453
Angle moyen	2.45 < θ < 25.55
Solvant de recristallisation	Chloroforme

3.4.2. Préparation de l'acide homophthalique 4 par carboxylation :

La conversion de l'acide orsellinique **3** en acide homophthalique **4** passe par une carboxylation ortho-toluique^{32;114} accomplie par la génération de l'anion di-lithium de l'acide *ortho*-toluique³⁵ en présence de la lithiumdiisopropylamide (LDA) en excès, préparée *in situ* par action de la *n*-butyllithium sur la diisopropylamine dans du THF sec à 0°C. La suite est une acylation à -78°C en présence du carbonate de diméthyle, un équivalent masqué de l'anhydride carbonique. Une température aussi basse, est une condition nécessaire permettant

de prolonger le temps de demi vie du dianion généré aussi longtemps que l'addition n'est pas finie. Le dérivé acétylé résultant est par la suite hydrolysé puis acidifié pour produire finalement l'acide homophtalique **4** (schéma 24). Le rendement de cette étape est de 52%, il est à rappeler que la délocalisation des charges entre le carboxylate et le carbanion en *ortho*, affaiblie considérablement le pouvoir nucléophile du carbanion.

En RMN ^1H , la présence du singulet de (CH_2) à δ 3.79, vérifiée aussi par le DEPT, de deux singulets $2\times(\text{OCH}_3)$ à δ 3.86 et 3.90 et des deux doublets $2\times(\text{H}_{\text{aromatique}})$ à δ 6.58 et 6.61 confirme l'obtention de l'acide homophtalique **4**. La position des substituants est aussi confirmée par les données de la structure en rayon X (11 et 12 ; tableau 3a).



1) LDA *in situ*, THF, 0°C 2) $\text{CO}(\text{OMe})_2$, -78°C (52%).

Schéma 24. Synthèse de l'acide homophtalique 4 par carboxylation

L'étude de la structure aux rayons X du composé **4** montre que l'arrangement du sel organique moléculaire dans la structure de la couche cristalline est dirigé par des liaisons hydrogène centrosymétriques $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}=\text{C}$ entre les hydroxyles ($\text{O}2$; $\text{O}4$) des deux fonctions acide et les oxygènes ($\text{O}1$; $\text{O}3$) des carbonyles et des liaisons hydrogène intermoléculaires $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$ entre les méthyles ($\text{C}10$; $\text{C}11$) et les oxygènes ($\text{O}1$; $\text{O}4$) (figure 12). Ces liaisons hydrogène permettent d'unir les unités liées par les opérations de symétrie et conduire à la formation d'une structure stable (tableau 3b).

Tableau 3b. Liaisons hydrogène de l'acide homophthalique 4

Liaison Hydrogène	D-H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	D-H...A (Å)	Opération de symétrie
O2-H2...O1 ⁱ	0.93(2)	1.71(2)	2.6443(15)	178(2)	ⁱ) -x,2-y,-z
O4-H4...O3 ⁱⁱ	0.93(3)	1.73(3)	2.6502(16)	175(2)	ⁱⁱ) 1-x,1-y,-z
C10-H10...O1 ⁱⁱⁱ	0.973(17)	2.505(16)	3.368(2)	147.6(13)	ⁱⁱⁱ) 1-x,2-y,1-z
C11-H11...O4 ^{iv}	0.989(17)	2.574(17)	3.560(2)	174.4(12)	^{iv}) 1-x,1-y,1-z

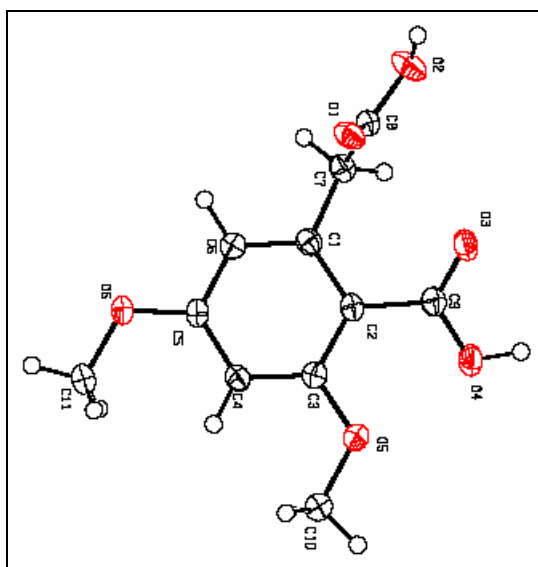


Figure 11. Structure Rayon X de l'acide homophthalique 4

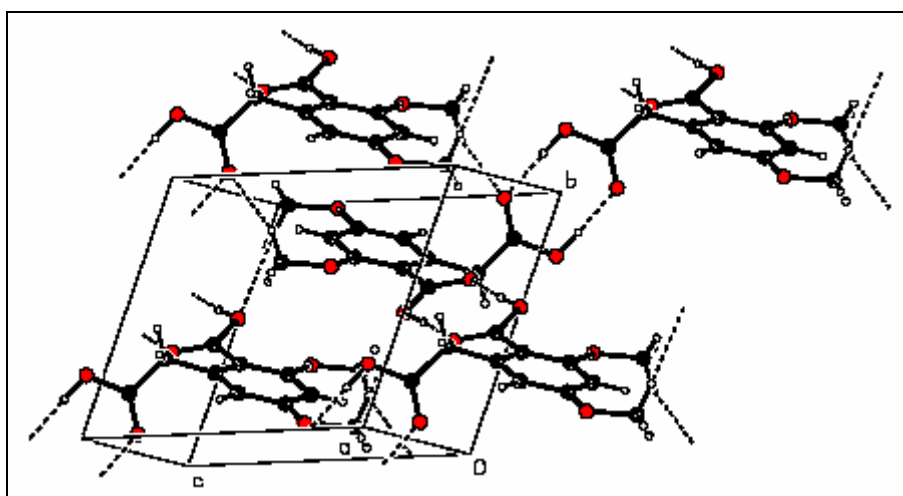
Figure 12. Structure *layer-like* montrant les liaisons hydrogènes intermoléculaires

Tableau 3a. Paramètres cristallographiques l'acide homophtalique 4

Formule empirique	C ₁₁ H ₁₂ O ₆
Masse molaire	240.21
Forme du cristal	Bloc
Couleur du cristal	Incolore
Dimensions du cristal [mm]	0.42 x 0.38 x 0.27
Système cristallin	Triclinique
Taille de la maille	
<i>a, b, c</i> [Å]	7.2197(11), 7.8948(11), 10.3066(14)
<i>α, β, γ</i> [°]	106.137(16), 103.789(17), 92.879(18)
<i>V</i> [Å ³]	543.76(13)
Groupe spatial	P -1
<i>Z</i>	2
<i>D</i> _{calc} [g.cm ⁻³]	1.467
Radiation utilisée	Mok\α
Longueur d'onde [Å]	0.71073
Coefficient d'absorption molaire [mm ⁻¹]	0.121
Température [K]	173(2)
Paramètres affinage cellule	
Réflexions	3287
Angle moyen	2.05 < θ < 25.95
Solvant de recristallisation	Acétone

3.5. Synthèse de l'acide 2,4-diméthoxy-6-(2-oxopropyl)benzoïque ou 6,8-diméthoxy-3-hydroxy-3-méthyl-3,4-dihydroisocoumarine (5) :

En 1967, Slaters et *al.*³⁷ rapportaient dans leur synthèse de certaines isocoumarines, que le traitement de l'acide homophtalique 4 avec de l'anhydride acétique à 50°C conduisait à l'anhydride équivalent qui est par la suite converti, en présence de la pyridine, en diacétylisocoumarine. L'hydrolyse basique de ce dernier à 80°C conduisait au cétoacide 5 (schéma 25). Une étude approfondie par RMN, nécessaire pour confirmer les structures

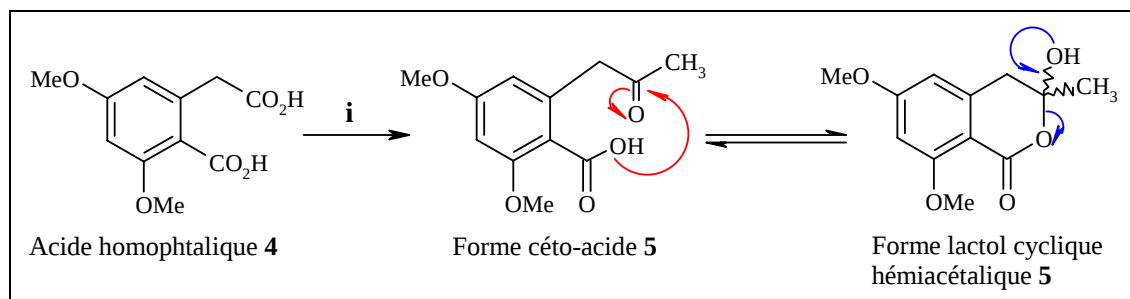
avancées des produits isolés n'a malheureusement pas été effectuée à l'époque. Toutefois, cette approche est restée plausible et même rapportée dans plusieurs travaux par la suite^{39;115}. Dans l'objectif de reproduire le même itinéraire qui conduit au cétoacide **5**, nous nous sommes référé aux travaux de Lewis et *al.*³⁹, puis récemment de Kim et *al.*¹¹⁵, qui ont confirmé que le dérivé **5** est bel et bien un cétoacide. Ceci ne nous a pas convaincu durant notre synthèse. En RMN, nous avons observé un dédoublement des signaux qui nous a laissé perplexe par rapport à la nature du produit, malgré des purifications répétées par chromatographie sur colonne de silice. Ce dédoublement, indiquait la présence de deux molécules. Les données apportées par la cristallographie ont confirmé la forme cyclique du dérivé **5** à l'état solide (figures 13 et 14 ; tableau 4a), information qui n'a jamais été citée auparavant dans la littérature. Ce fait nous a aidé à comprendre la nature de ce dérivé et à trouver une explication du spectre RMN (en phase liquide), autres cas semblables sont cités dans la littérature¹¹⁶.

Le dérivé **5** existe en phase liquide sous deux formes tautoméries : une forme aliphatique cétoacide et une forme lactol cyclique hémiacétalique (schéma 25). Ce comportement est également observé dans d'autres 3-hydroxy-3-alkyl-3,4-dihydroxyisocoumarines tel l'acide ustique¹¹⁷, la sclerotinin A et B¹¹⁸, la 3-hydroxymellein, la 3,4,6-trihydroxymellein¹¹⁹, la 3,6-dihydroxymellein²⁹ et les lactols des précurseurs biogénitiques des cochlioquinones et la stemphone¹²⁰. Il s'agit vraisemblablement d'une interconversion tautomérique au centre prochiral du dérivé **5** qui donne lieu à un racémate (schéma 26), à la différence des autres dihydroisocoumarines substituées en position (3), dont la majorité sont des énantiomères-*(R)*^{121;122}.

Cet équilibre partiel entre la forme céto-acide et la forme tautomérique de la 6,8-diméthoxy-3-hydroxy-3-méthyl-3,4-dihydroisocoumarine (**5**) est mis en évidence en RMN ¹H par la diastéréotopie des protons benzyliques prochiraux. Ainsi, en plus du singulet de (CH₂ / forme ouverte) à δ 4.08 et en RMN ¹³C à δ 51.28, nous retrouvons deux fois un doublet AB de chacun des deux protons de (CH₂ / forme lactol) respectivement à δ 3.07 et 3.20 avec une constante de couplage identique de $J_{AB} = 16$ Hz (figure 15) et en RMN ¹³C à δ 40.45. L'existence des deux formes est aussi confirmée par le DEPT et le spectre de masse (schéma 27). L'infrarouge des cristaux du dérivé **5** révèle uniquement la présence des absorptions du carbonyle et l'hydroxyle lactolique respectivement à 1687 et 3362 cm⁻¹.

L'hypothèse d'une tendance de la molécule à s'ouvrir dans le CDCl₃ a été vérifiée dans le méthanol et l'acétone deutérés qui ont donnés le même résultat.

La configuration du carbone asymétrique de la forme lactole n'a été malheureusement pas résolue par les rayons X à cause de la nature du solvant de recristallisation.



i) 1) Ac_2O , Pyr, Et_2O , t° a) 2) NaOH aq 10%, H_2O , 60°C (62%).

Schéma 25. Synthèse (a) du dérivé 5

L'étude de la structure aux rayons X du composé 5 montre que l'arrangement du sel organique moléculaire dans la structure de la couche cristalline est dirigé par des liaisons hydrogène $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}=\text{C}$ entre l'hydroxyle libre ($\text{O}3$) et l'oxygène ($\text{O}1$) du carbonyle de la lactone, par des liaisons hydrogène $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}-\text{C}$ entre l'hydroxyle libre ($\text{O}3$) et l'oxygène ($\text{O}4$) du méthoxy et des liaisons hydrogène intermoléculaires $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$ entre les carbones ($\text{C}6$; $\text{C}12$) et les oxygènes ($\text{O}3$; $\text{O}1$) (figure 14). Ces liaisons hydrogène permettent d'unir les unités liées par les opérations de symétrie et conduire à la formation d'une structure stable (tableau 4b).

Tableau 4b. Liaisons hydrogène du dérivé 5

Liaison Hydrogène	D-H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	D-H...A (Å)	Opération de symétrie
$\text{O}3-\text{H}3\cdots\text{O}1^{\text{i}}$	0.87(2)	1.95(2)	2.8068(18)	167(2)	$^{\text{i})} x, -y+1/2, z+1/2$
$\text{O}3-\text{H}3\cdots\text{O}4^{\text{i}}$	0.87(3)	2.33(2)	2.8281(17)	116.3(17)	$^{\text{i})} x, -y+1/2, z+1/2$
$\text{C}6-\text{H}6\cdots\text{O}3^{\text{ii}}$	0.968(19)	2.442(18)	3.388(2)	165.8(14)	$^{\text{ii})} 1-x, -y, 2-z$
$\text{C}12-\text{H}12\cdots\text{O}1^{\text{i}}$	0.9800	2.5600	3.297(2)	132.00	$^{\text{i})} x, -y+1/2, z+1/2$

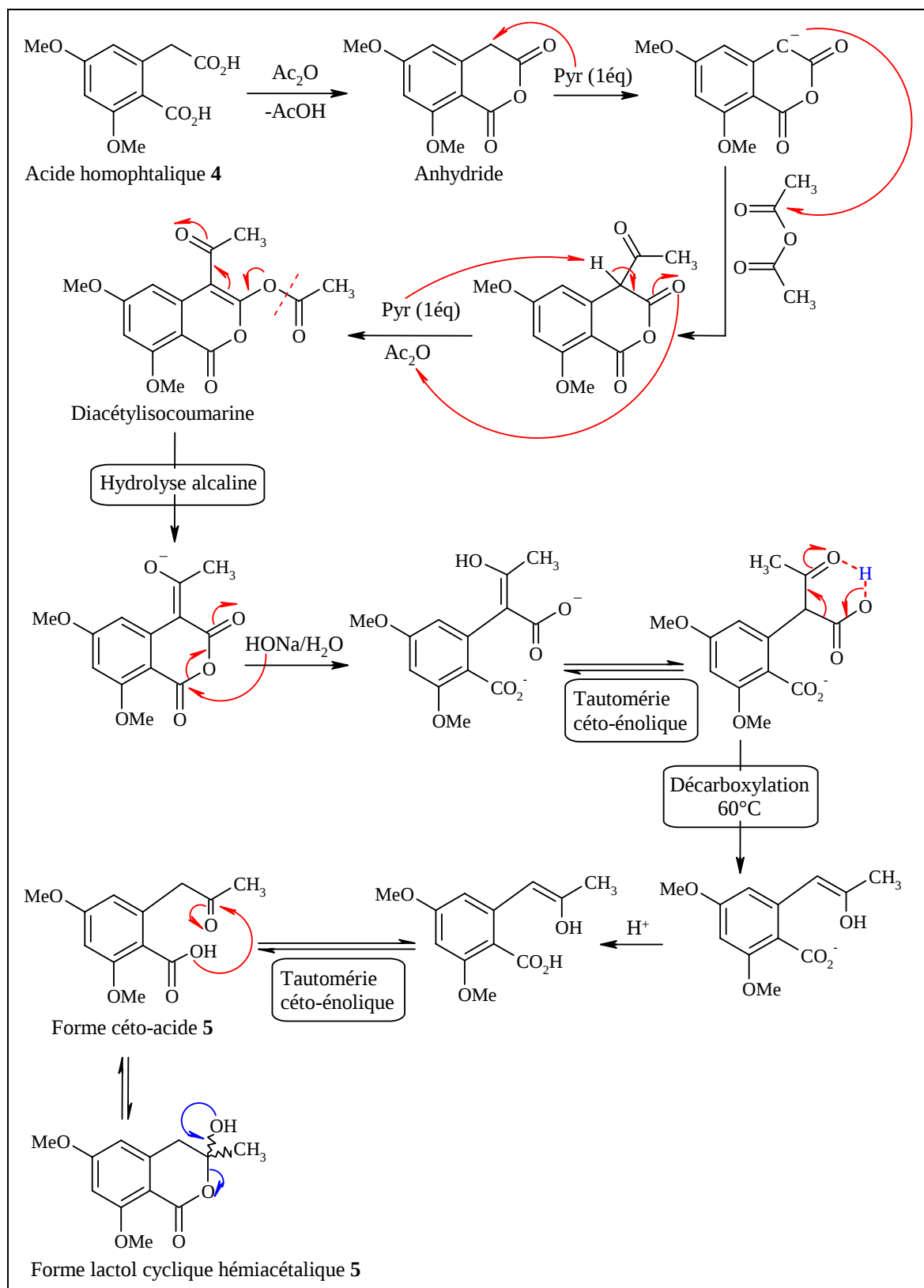


Schéma 26. Mécanisme réactionnel plausible de synthèse du dérivé 5 basé sur les travaux de Slates et *al.*³⁷

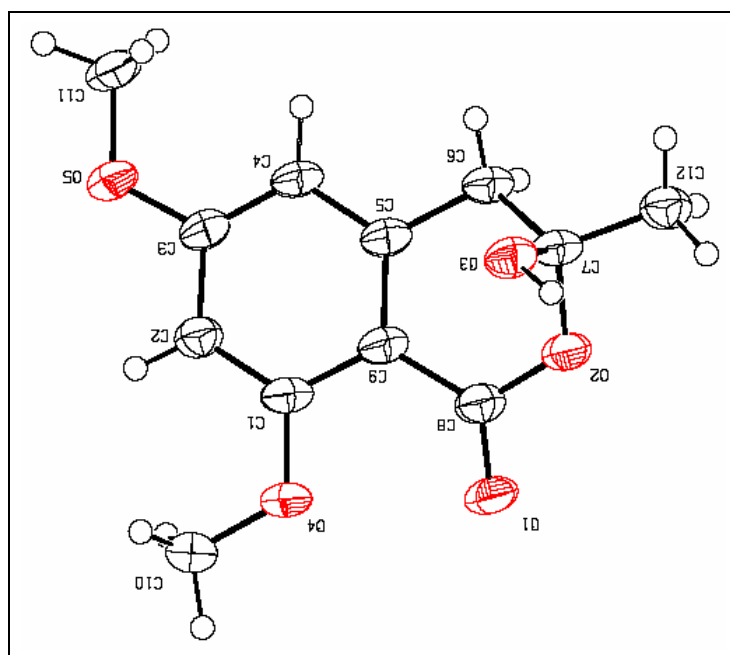


Figure 13. Structure Rayon X du dérivé 5

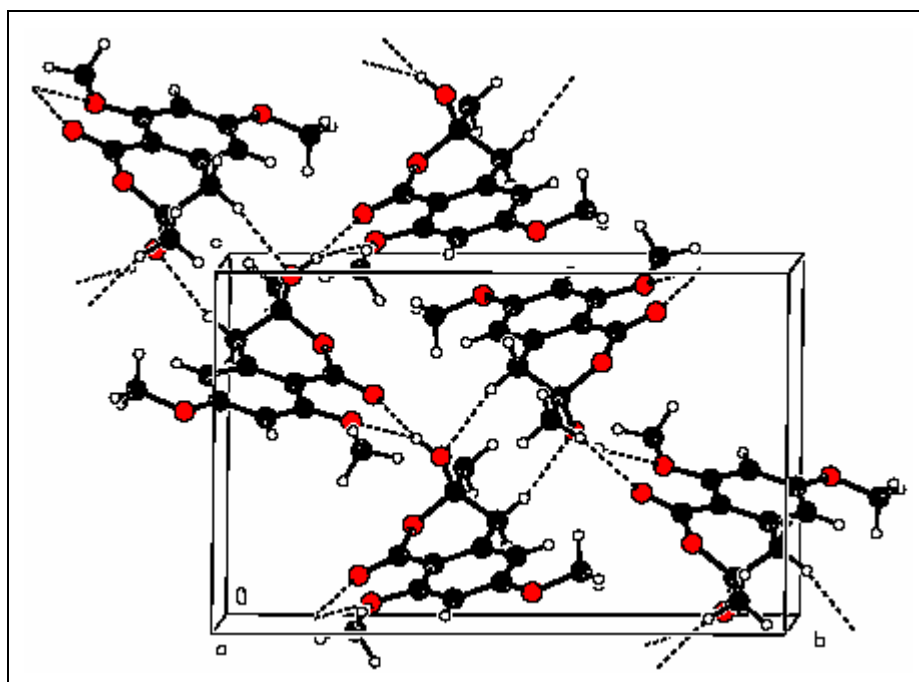


Figure 14. Structure Rayon X *packing* du dérivé 5

Tableau 4a. Paramètres cristallographiques du composé 5

Formule empirique	C ₁₂ H ₁₄ O ₅
Masse molaire	238.23
Forme du cristal	Plate
Couleur du cristal	Incolore
Dimensions du cristal [mm]	0.40 x 0.37 x 0.27
Système cristallin	Monoclinique
Taille de la maille	
<i>a, b, c</i> [Å]	7.5659(8), 15.5112(18), 9.9860(9)
<i>α, β, γ</i> [°]	90, 105.944(8), 90
<i>V</i> [Å ³]	1126.8(2)
Groupe spatial	P 2 ₁ /c
<i>Z</i>	4
<i>D</i> _{calc} [g.cm ⁻³]	1.404
Radiation utilisée	Mok α
Longueur d'onde [Å]	0.71073
Coefficient d'absorption molaire [mm ⁻¹]	0.110
Température [K]	173(2)
Paramètres affinage cellule	
Réflexions	14624
Angle moyen	2.50 < θ < 29.53
Solvant de recristallisation	Acétone

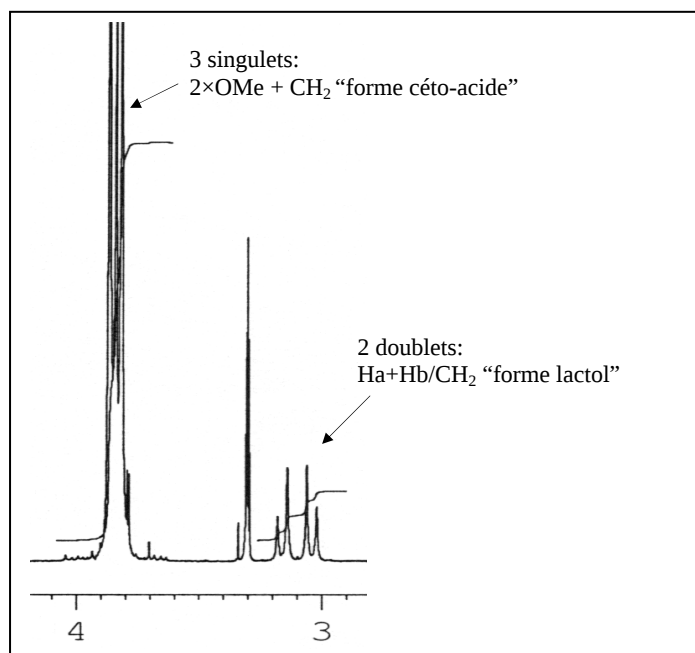


Figure 15. Protons du méthylène (forme lactol et céto-acide) du composé 5 dans le méthanol deutéré (RMN $^1\text{H}/400\text{MHz}$)

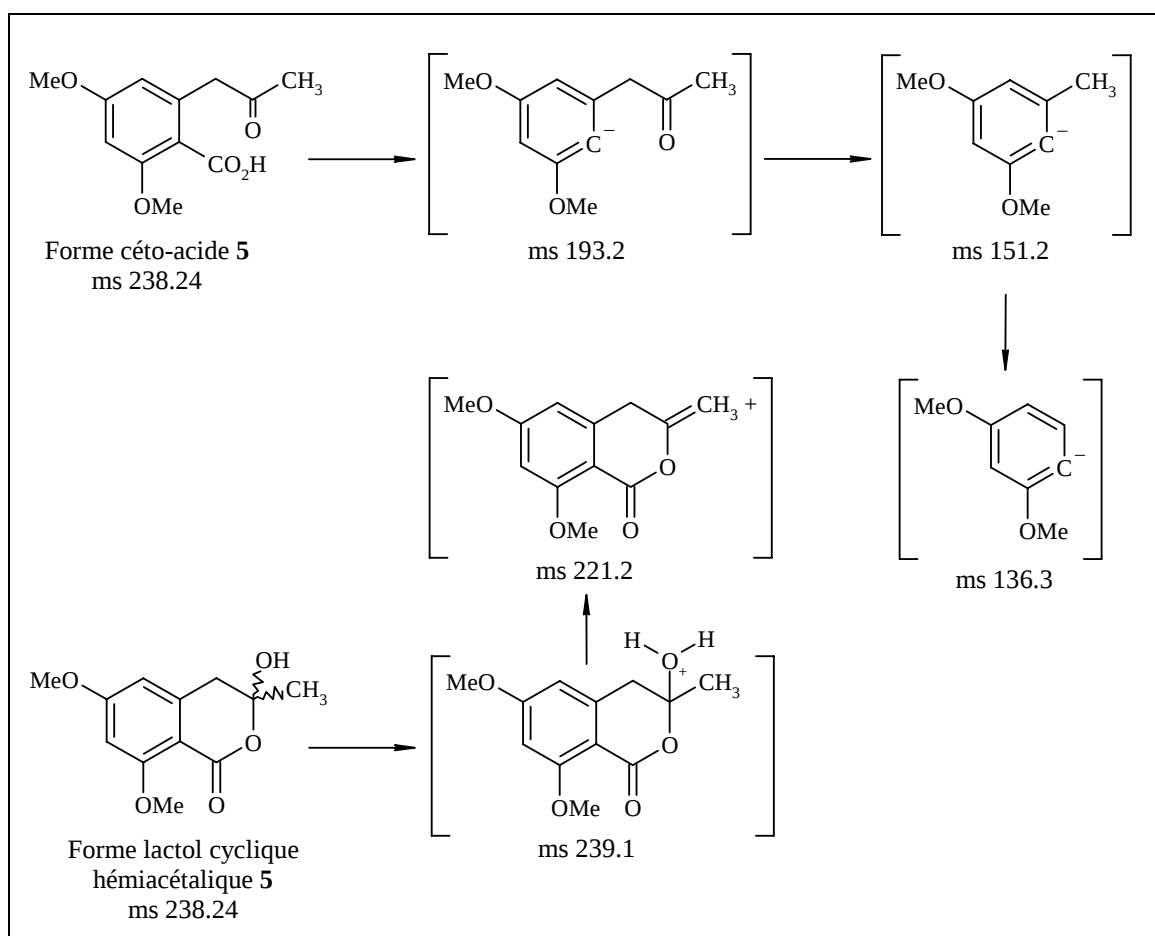
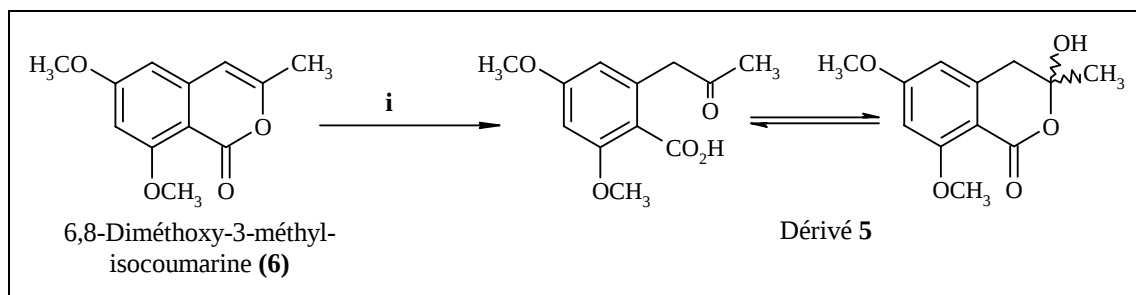


Schéma 27. Spectroscopie de masse par ESI $^{(+)}$ /forme lactol et ESI $^{(-)}$ /forme céto-acide

L'hydrolyse alcaline de la 6,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (**6**) à reflux dans du KOH (5%) et l'éthanol nous a permis de récupérer autrement le composé **5** et de confirmer sa structure (schéma 28).



i) NaOH aq 5%, EtOH, rx (55%).

Schéma 28. Synthèse (b) du dérivé (5)

3.6. Synthèse des 8-hydroxy-6-méthoxy-3-méthylisocoumarine (7) et 6,8-dihydroxy-3-méthylisocoumarine (8) :

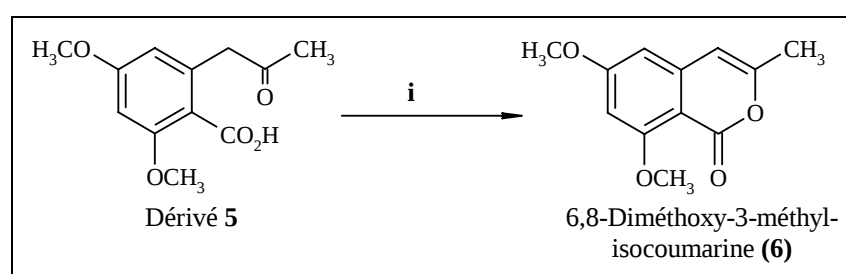
3.6.1. Préparation de la 6,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (6) :

La synthèse de l'isocoumarine **6** est effectuée par à une éno-lactonisation du céto-acide **5** (schéma 29) en présence d'anhydride acétique et d'acide perchlorique en quantité catalytique selon la méthode décrite par Edwards et Rao¹²³.

Auparavant, l'utilisation de l'acide perchlorique comme catalyseur pour l'éno-lactonisation avait été initié par Barton et *al.*¹²⁴. Par la suite, d'autres travaux^{125;126} ont utilisé ce système pour l'éno-lactonisation des 3-céto-stéroïdes et leurs dérivés. Schenk et Fritz¹²⁷ l'ont utilisé comme catalyseur d'acétylation par l'anhydride acétique dans l'acétate d'éthyle, dans leur méthode de détermination quantitative des alcools, phénols, thiols et les amines. De leur côté, Whitman et Schwenk¹²⁸ l'ont employé avec l'anhydride acétique et l'acide acétique pour l'acétylation des hydroxy-stéroïdes.

Cependant, Edwards et Rao¹²³ ont été les premiers à l'appliquer dans la conversion des δ -céto-acides en éno-lactones, une étape essentielle dans la synthèse des stéroïdes¹²⁹. Après plusieurs expériences, ils ont établis que la composition optimale de 1 Molaire d'anhydride acétique et 10^{-3} Molaire d'acide perchlorique dans l'acétate d'éthyle semble être le solvant idéal capable de solubiliser la majorité des céto-acides, est la procédure la plus efficace pour réussir une éno-lactonisation rapide et complète.

Notre rendement de synthèse dans cette étape est de 95% (schéma 29). En RMN ^1H , nous constatons la présence du doublet de ($=\text{C}-\text{CH}_3$) à δ 2.16 et le quadruplet de ($=\text{CH}-$) à δ 6.03 avec une constante de couplage identique de $^4J = 1.0$ Hz qui conforte leur position ($\text{H}-\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3$), puis les deux singulets des $2\times(\text{OCH}_3)$ à δ 3.84 et 3.90 et finalement les deux doublets des $2\times(\text{H}_{\text{aromatique}})$ à δ 6.24 et 6.36 avec une constante de couplage identique de $J_m = 2.3$ Hz qui vérifie leur position réciproque en *mé*ta. La structure en rayon X (figures 16 et 17 ; tableau 5a) confirme l'obtention de l'isocoumarine **6**.



i) (1M Ac_2O ; 10^{-3}M HClO_4), AcOEt , $t^\circ\text{a}$ (95%).

Schéma 29. Synthèse de la 6,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (6) selon la procédure d'Edwards et Rao¹²³

L'étude de la structure aux rayon X de l'isocoumarine **6** montre que l'arrangement du sel organique moléculaire dans la structure de la couche cristalline est dirigé par des liaisons hydrogène intermoléculaires $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}=\text{C}$ entre les carbones ($\text{C}1$; $\text{C}7$) et l'oxygène ($\text{O}1$) (figure 17). Ces liaisons hydrogène permettent d'unir les unités liées par les opérations de symétrie et conduire à la formation d'une structure stable (tableau 5b).

Tableau 5b. Liaisons hydrogène de l'isocoumarine 6

Liaison Hydrogène	D-H (Å)	H $\cdots$ A (Å)	D $\cdots$ A (Å)	D-H $\cdots$ A (Å)	Opération de symétrie
C1-H1 $\cdots$ O1 ¹	0.939(19)	2.535(18)	3.366(2)	147.7(15)	¹) x,1/2-y,z-1/2
C7-H7 $\cdots$ O1 ¹	0.968(19)	2.495(19)	3.3267(19)	143.9(14)	¹) x,1/2-y,z-1/2

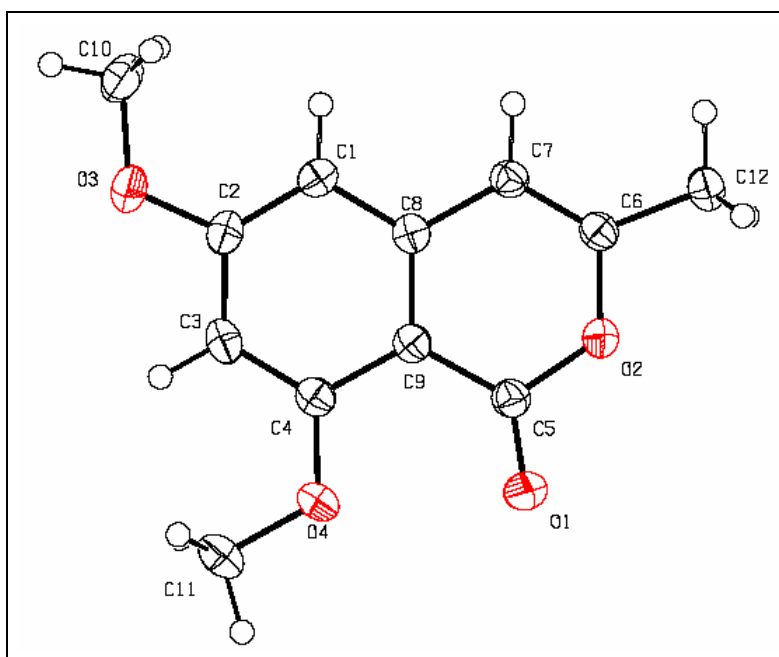


Figure 16. Structure Rayon X de la 6,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (6)

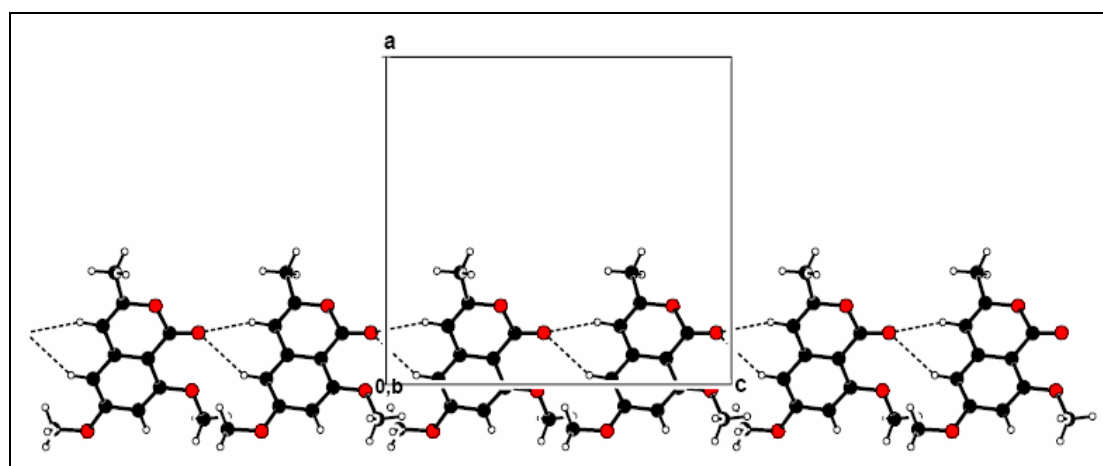


Figure 17. Structure Rayon X *packing* de la 6,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (6)

Tableau 5a. Paramètres cristallographiques de l'isocoumarine 6

Formule empirique	C ₁₂ H ₁₂ O ₄
Masse molaire	220.22
Forme du cristal	Bloc
Couleur du cristal	Incolore
Dimensions du cristal [mm]	0.36 x 0.28 x 0.26
Système cristallin	Orthorhombique
Taille de la maille	
<i>a, b, c</i> [Å]	12.7875(9), 11.3732(12), 14.3637(12)
α, β, γ [°]	90, 90, 90
<i>V</i> [Å ³]	2089.0(3)
Groupe spatial	P b c a
<i>Z</i>	8
<i>D</i> _{calc} [g.cm ⁻³]	1.400
Radiation utilisée	Mok\alpha
Longueur d'onde [Å]	0.71073
Coefficient d'absorption molaire [mm ⁻¹]	0.106
Température [K]	173(2)
Paramètres affinage cellule	
Réflexions	10689
Angle moyen	1.79 < θ < 29.62
Solvant de recristallisation	Chloroforme

3.6.2. Préparation de la 8-hydroxy-6-méthoxy-3-méthylisocoumarine (7) :

La synthèse de l'isocoumarine **7** passe par un clivage sélectif du méthyléther en position (8) (schéma 30). Elle se passe très lentement (40 heures) dans des conditions douces (chloroforme, 50°C). La présence du carbonyle en β du méthyléther permet sans doute une stabilisation par résonance de l'intermédiaire silylé qui donne, après hydrolyse, le phénol équivalent (schéma 30). Ceci pourrait éventuellement expliquer la passivité à l'encontre du méthyléther en position (6) même en excès d'iodotriméthylsilane.

Auparavant, cette approche était plutôt utilisée pour la déalkylation simple et quantitative des esters d'alkyle carboxyliques par traitement avec de l'iodotriméthylsilane pour donner les carboxylates de triméthylsilyle, qui par hydrolyse, fournissent des acides carboxyliques¹³⁰. Puis, elle a été employée aussi pour les alkyles méthyléther qui réagissent également avec l'iodotriméthylsilane pour donner des triméthylsilyléthers¹³¹.

Jung et *al.*¹³¹ ont suggéré un mécanisme pour ce processus: l'alkyléther réagit avec l'iodotriméthylsilane dans une étape rapide et réversible pour produire l'iodure d'oxonium silylé équivalent qui continu ensuite dans un processus lent et irréversible suivant un mécanisme SN2.

Le rendement de la déprotection est de 92% (schéma 30). La présence en RMN ^1H d'un seul singulet de OH(8) à δ 11.08 fortement déblindé à cause de sa liaison d'hydrogène avec le carbonyle de la lactone, et d'un seul singulet de OCH₃(6) à δ 3.84, confirme le clivage sélectif du méthyléther en position (8) (figure 18).

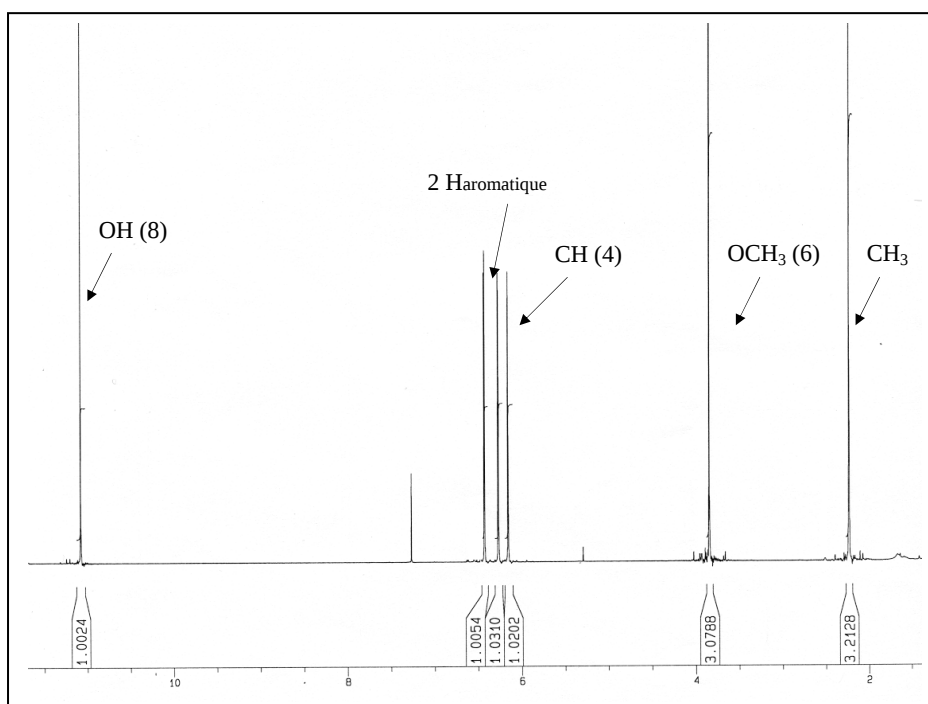
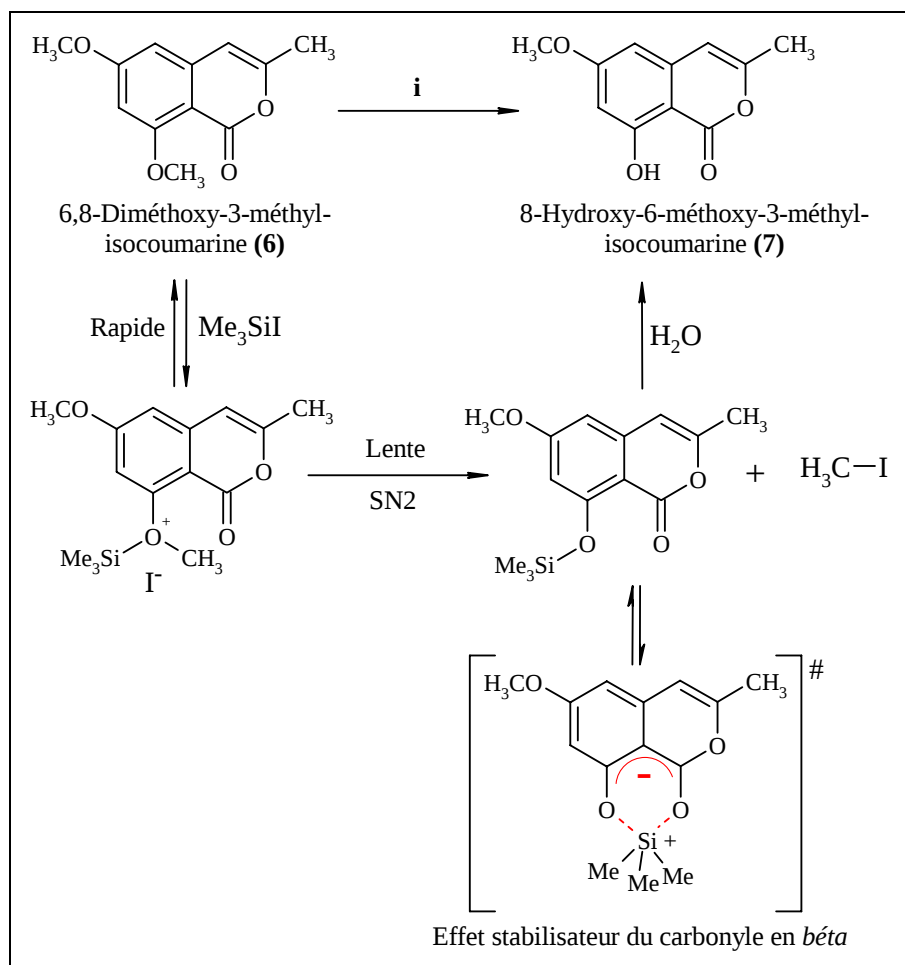


Figure 18. Spectre RMN ^1H (400MHz/ CDCl_3) de l'isocoumarine 7



i) ISiMe_3 , CHCl_3 , 50°C (92%).

Schéma 30. Synthèse de la 8-hydroxy-6-méthoxy-3-méthylisocoumarine (7)

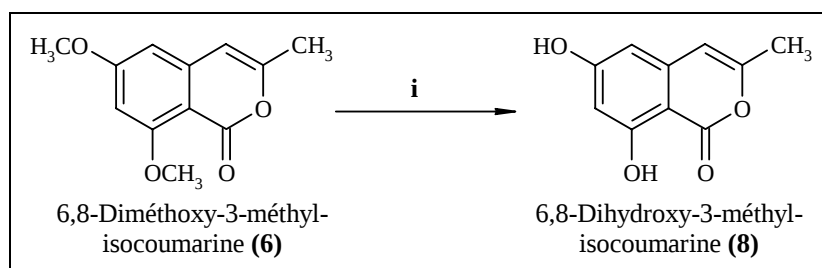
3.6.3. Préparation de la 6,8-dihydroxy-3-méthylisocoumarine (8) :

La double déméthylation de l'isocoumarine **6** est effectuée par l'utilisation du tribromoborane à -78°C (schéma 31), une condition nécessaire pour la formation de l'intermédiaire bromure d'oxonium boré. Ce dernier est ensuite agité à température ambiante dans une étape lente (70 heures) avant de donner par hydrolyse l'isocoumarine **8**.

Le tribromoborane est le réactif de choix pour le clivage complet des *O*-méthyléthers des produits naturels, il est aussi utilisé dans le clivage du groupe méthylènedioxy dans des conditions variables¹³². Dans la littérature¹³³, il est connu pour être plus efficace que l'iodotriméthylsilane pour le clivage des méthyléthers d'aryle.

Notre rendement dans cette étape est de 85% (schéma 31). L'apparition en RMN ^1H des deux singulets de OH(6) à δ 9.67 et OH(8) à 11.14 fortement déblindé à cause de sa liaison

d'hydrogène avec le carbonyle de la lactone, et la disparition des deux singulets des $2\times(\text{OCH}_3)$ à δ 3.84 et 3.90, confirme la double déméthylation (figure 19).



i) BBr_3 , CH_2Cl_2 , $-78^\circ\text{C} \rightarrow \text{t}^\circ\text{a}$ (85%).

Schéma 31. Synthèse de la 6,8-dihydroxy-3-méthylisocoumarine (**8**)

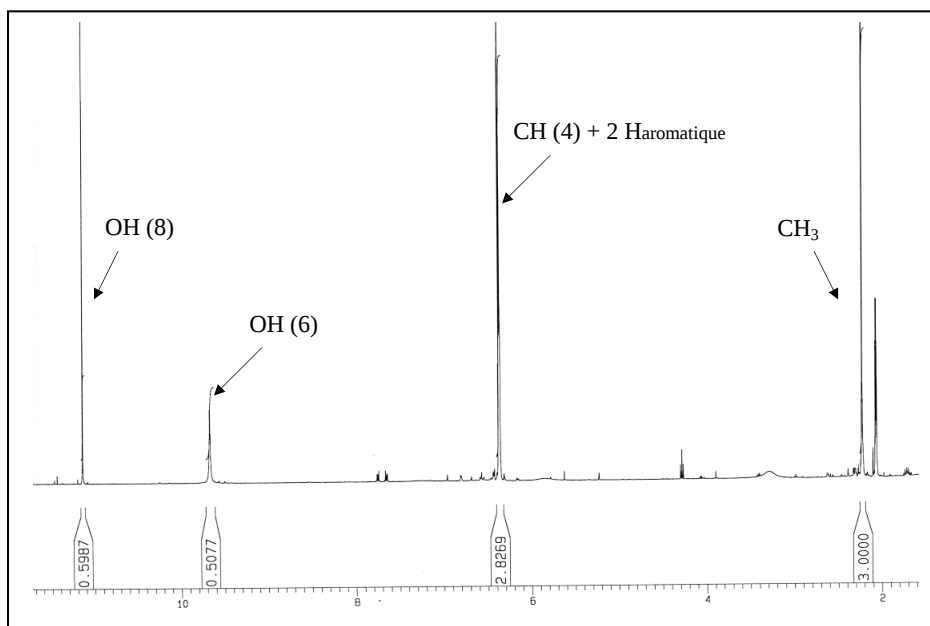


Figure 19. Spectre RMN ^1H (400MHz/Acétone- d_6) de l'isocoumarine 8

3.7. Conclusion :

A la fin de ce chapitre, nous avons préparé l'acide homophtalique **4**, précurseur des isocoumarines **7** et **8**, par deux voies de synthèse différentes : la première (schéma 32 ; voie A), par cycloaddition Diels-Alder de l'allène **13** et du diène **15**. Cette méthode n'a pas été convaincante, l'acide **4** est obtenu avec un rendement global faible (15%) après sept longues étapes de synthèse.

La deuxième (schéma 32 ; voie B), est réalisée par une formylation directe de l'orcinol qui conduit après oxydation à l'acide orsellinique **3**, converti par la suite en acide homophtalique **4**. Le rendement global des quatre étapes de synthèse est satisfaisant (32%).

Par la suite, nous avons adopté cette deuxième voie, comme méthode de choix pour la synthèse des isocoumarines.

L'acylation/décarboxylation de l'acide homophtalique **4**, suivie d'énol-lactonisation puis de déméthylations, conduit aux isocoumarines **7** et **8** avec un rendement global respectif de 17% et 16% (schéma 32).

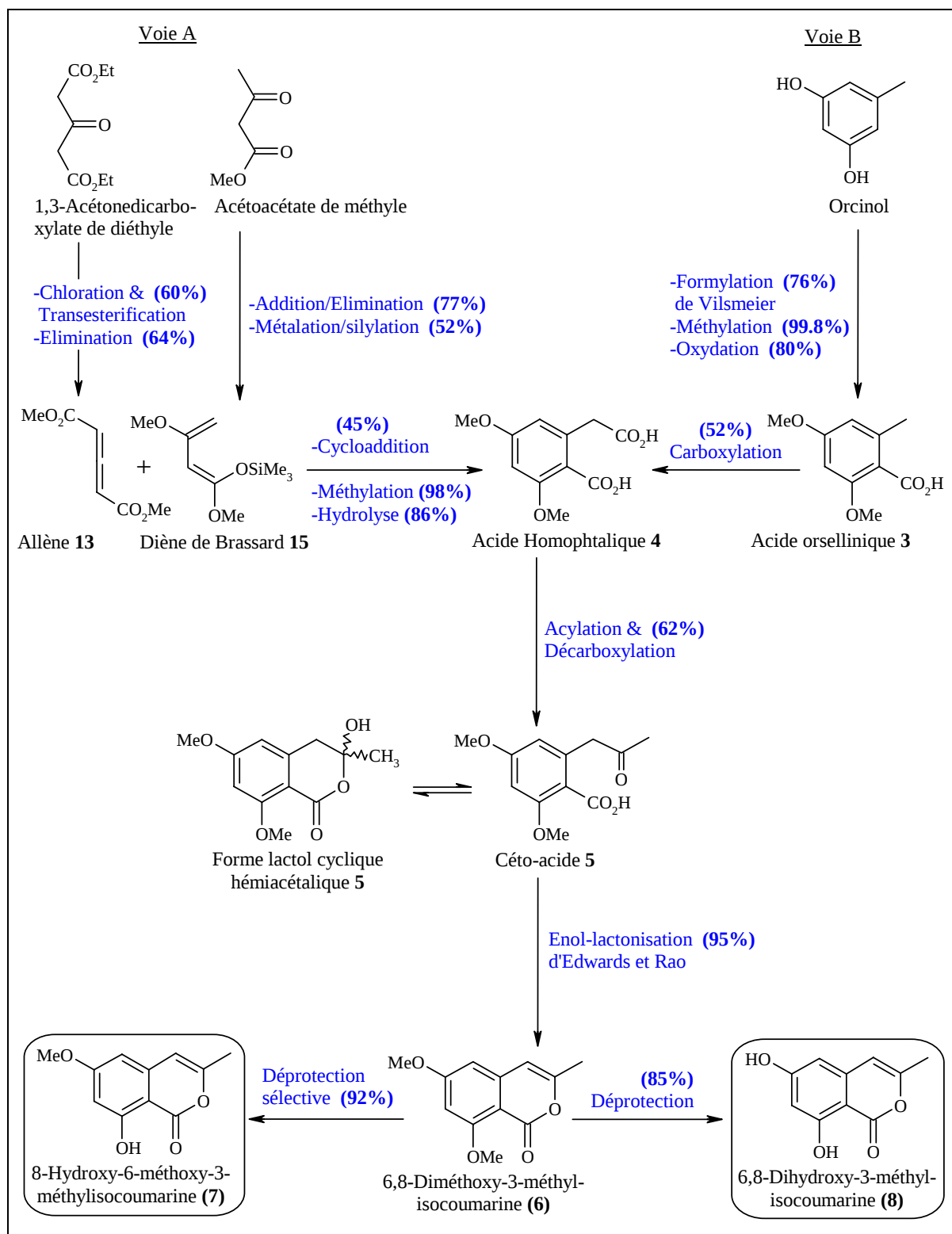


Schéma 32. Synthèse totale des isocoumarines 7 et 8

CHAPITRE 4

Synthèse des 8-hydroxy-3-hydroxyméthyl-6-méthoxyisocoumarine (cytogénine) (24) et 6,8-dihydroxy-3-hydroxyméthylisocoumarine (28)

4.1. Résultats antérieurs :

La 6,8-dihydroxy-3-hydroxyméthylisocoumarine (**28**) est un produit naturel découvert bien avant la cytogénine (**24**) (figure 20). Il a été isolé pour la première fois en 1977 de *Ceratocystis minor* par Hemingway et al.^{134;135}. Il a été par la suite identifié dans les cultures des trois autres champignons responsables de la maladie des taches bleues des pins : *Ceratocystis clavigera*, *C. ips* et *C. huntii*¹³⁶. Puis également obtenu en 1994 d'une souche de *Streptovericillium eurocidicum*²⁶, en 1996 de *Ceratocystis fimbriata* sp. *coffea* et *C. fimbriata* sp. *platani*^{4;5}. En 1999, il a été réisolé d'une souche *Stagonospora*, agent pathogène du liseron des haies¹³⁷. Alors que, la cytogénine (**24**) a été isolée en 1994 à partir d'une souche de *Streptovericillium eurocidicum*²⁶, puis en 1996 de *C. fimbriata* sp. *coffea* et *C. fimbriata* sp. *platani*^{4;5}. Plus tard, on a constaté que la cytogénine possédait une activité anti-inflammatoire contre le modèle arthritique collagène-induit chez les souris²⁰⁻²².

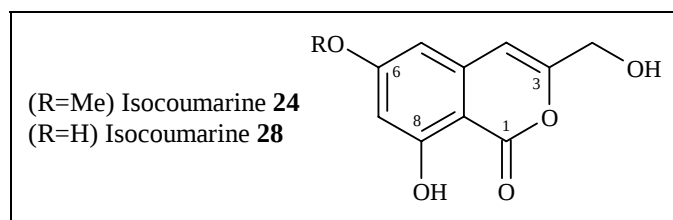


Figure 20. Isocoumarines 24 et 28 isolées de *C. fimbriata* sp. *coffea* et sp. *platani*

Dans notre laboratoire, nous avons isolé et observé¹³⁸ l'activité toxique des ces deux isocoumarines produites par le *Ceratocystis fimbriata* sp. *coffea* et *C. fimbriata* sp. *platani*

deux agents pathogènes responsables du chancre du caféier et du platane. Récemment, l'analyse du milieu de culture de *Ophiostoma ulmi*, agent pathogène de l'orme, a permis aussi l'isolement de ces isocoumarines⁶.

Au moment où nous avons entrepris la synthèse des isocoumarines **24** et **28** une seule patente¹³⁹ a été publiée en 1993, avait cité leur synthèse. Cependant, elle n'a désormais jamais été reproduite depuis. Par conséquent, nous avons souhaité développer une synthèse facile, efficace et courte.

4.2. Schéma rétrosynthétique :

Dans un premier temps, nous nous sommes référés à la synthèse employée par Rama et *al.*^{140;141} qui ont publié plusieurs articles sur une voie de synthèse d'isocoumarines substituées en position (3) : 3-méthyl-, 3-pentadécyl-, 3-phényl- et 3-(phényléthényl)-isocoumarine. Leur méthode est inspirée de l'approche développée par Nakajima et *al.*¹⁴² basée sur la condensation directe de chlorure d'alkanoyles avec l'acide homophthalique pour donner des 3-alkyl-isocoumarines (schéma 33).

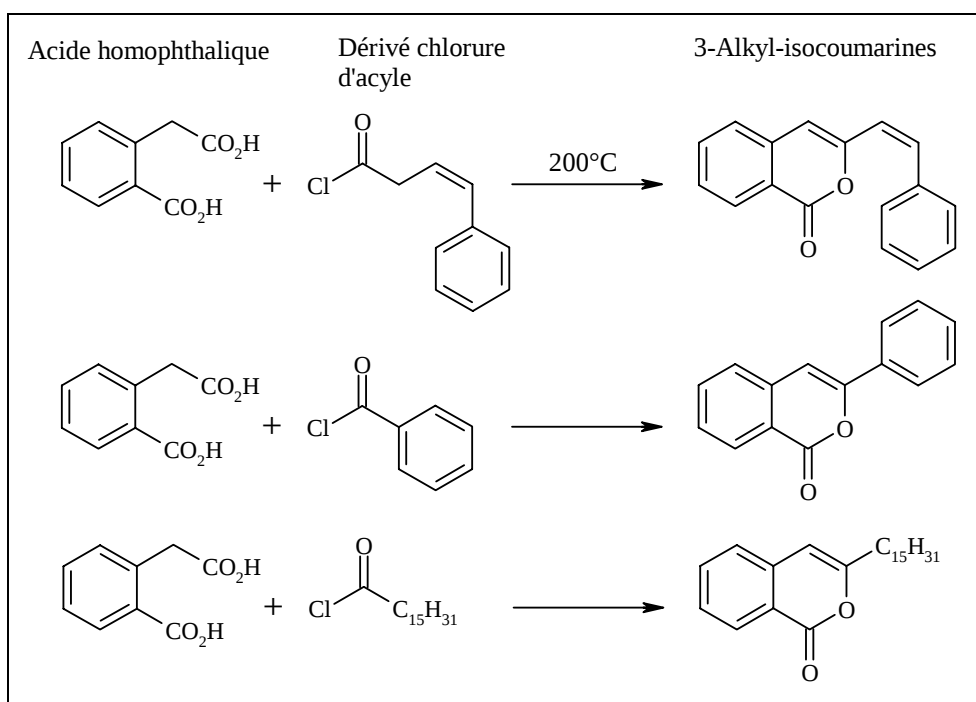


Schéma 33. Synthèse des 3-alkyl-isocoumarines rapportée par Rama et *al.*^{140;141}

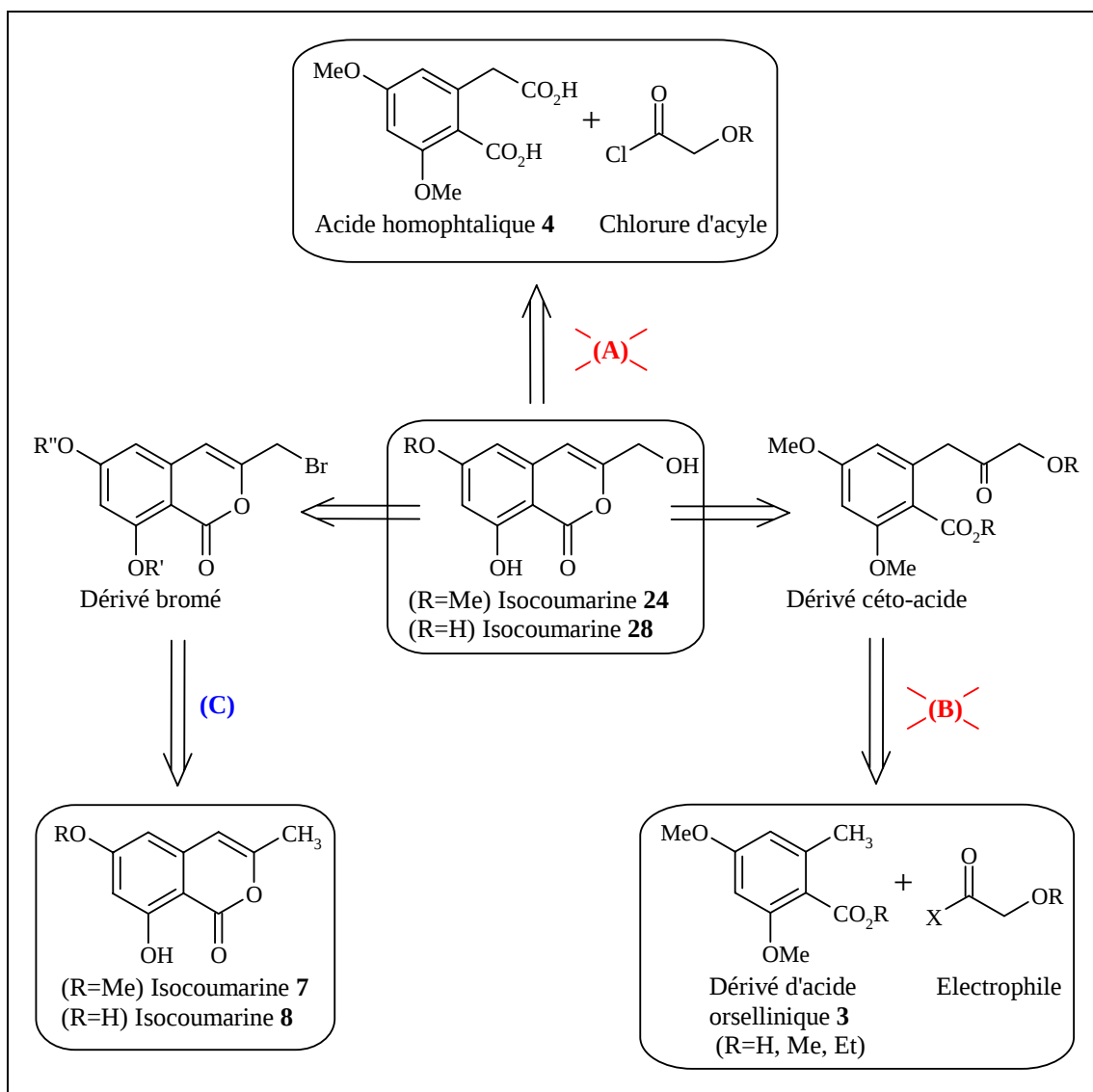
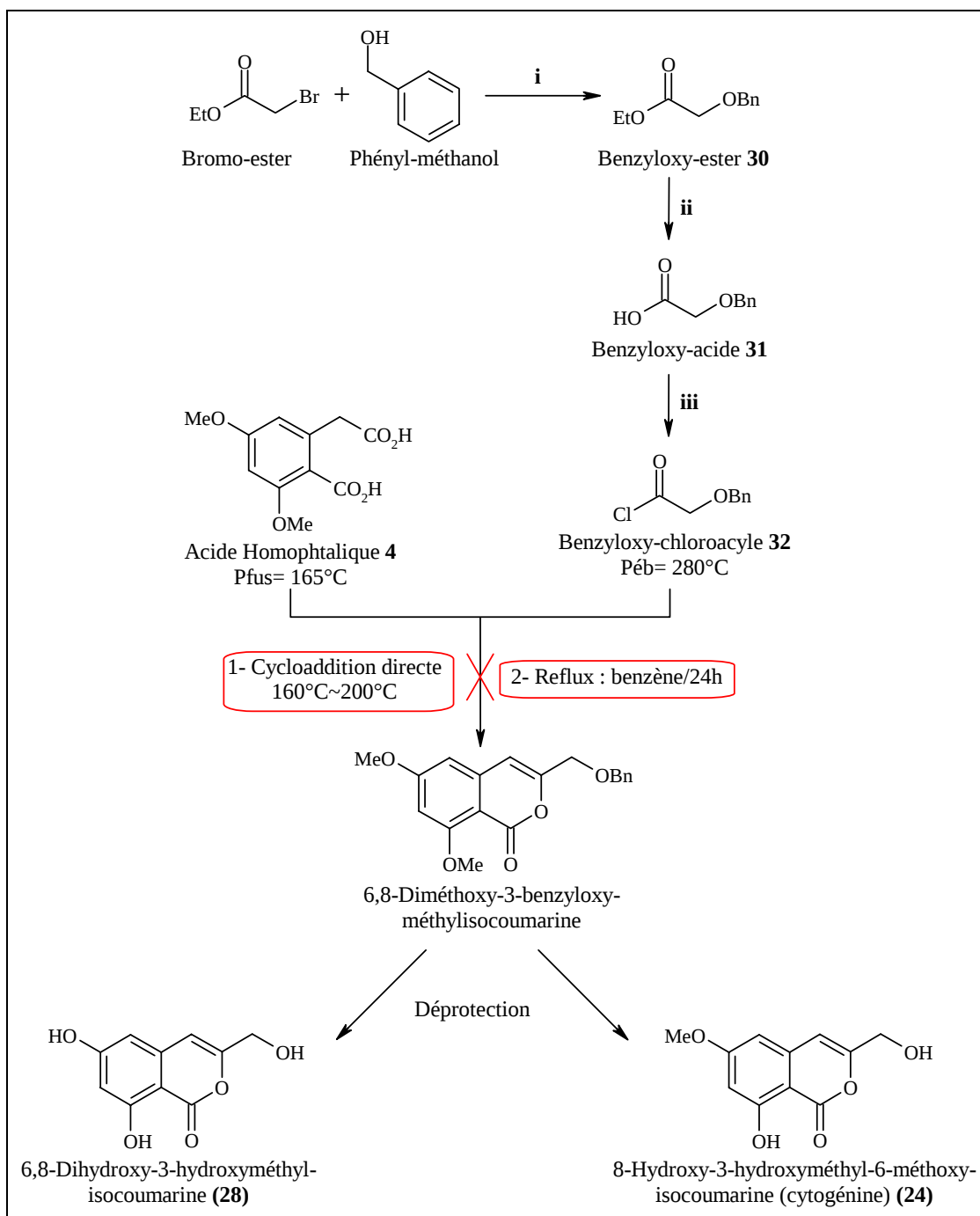


Schéma 34. Rétrosynthèses des isocoumarines 24 et 28

Dans cette optique, nous avons investigué la voie (A) (schéma 34) dans l'objectif de réaliser la même condensation mais sur des réactifs appropriés aux isocoumarines désirées.

Le chlorure d'acyle de choix doit nécessairement résister à la température de condensation à 200°C, puis il doit porter en plus de sa fonction principale chloroacyle, un oxygène en β du carbonyle, que nous avons pensé de protéger avec un groupement protecteur facilement clivable, qui est le benzyle. Sa synthèse est effectuée en trois étapes, la première est la préparation du benzyloxyester **30** via le couplage par substitution nucléophile du brome en β du bromoester (schéma 35) par le benzylalcool déprotoné *in situ* par action de l'hydruire de sodium à 0°C dans le THF sec¹⁴³. Le benzyloxyester résultant est ensuite converti en acide équivalent **31** par hydrolyse alcaline. La chloration de ce dernier est assurée par la présence du chlorure de thionyle à 65°C qui donne le benzyloxychloroacyle **32** qu'il faut immédiatement stocker au congélateur vu son extrême instabilité à température ambiante. Ce dernier est par la suite engagé dans une cycloaddition directe avec l'acide homophthalique **4** préparé préalablement (§ 3.4). Après un chauffage progressif vers la température de condensation à 200°C, le mélange pâteux s'est liquéfié à 95°C puis s'est carbonisé dès 140°C. Devant ce problème, nous avons effectué d'autres essais à des températures plus basses mais malheureusement sans résultat intéressant. L'idée d'utiliser un solvant aprotique apolaire pour éviter la dégradation des réactifs, nous a mené à l'utilisation réussite du benzène dans la cycloaddition Diels-Alder (§ 3.3.3). Pourtant, malgré un chauffage à reflux durant 24 heures, nous n'avons pas détecté la formation de la benzyloxyisocoumarine voulue (schéma 35).

En conclusion, nous pensons que cette méthode exige des conditions très particulières. En effet, les réactifs de départ doivent posséder des points de fusion et d'ébullition assez élevés qui permettent leur réaction à 200°C. Ceci n'était pas le cas pour l'acide homophthalique **4**, son point de fusion de 165°C est sans doute un facteur de cette carbonisation.

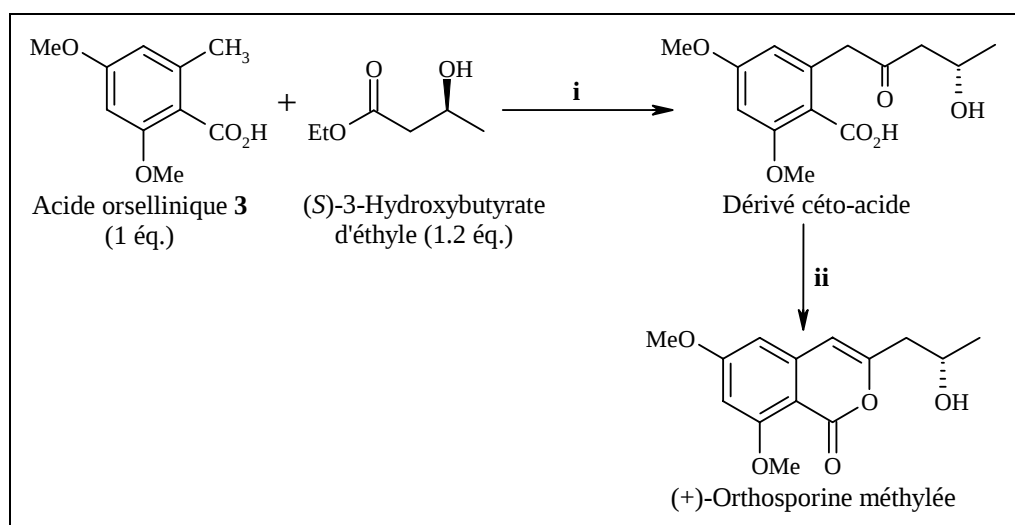


i) NaH, THF, 0°C 20%, **ii)** KOH, MeOH, H₂O, 60°C 80% **iii)** SOCl₂, 65°C 95%.

Schéma 35. Essais de synthèse des isocoumarines 24 et 28 par condensation

Estimant que cette approche n'est pas réaliste, nous nous sommes tournés vers la méthode que nous avons employée avec succès pour la synthèse des isocoumarines **7** et **8** (§ 3.3 : schéma 7, (voie B)). Théoriquement, le dianion de l'acide orsellinique **3** généré par la LDA peut réagir avec un électrophile tel le carbonate de diméthyle (cas précédent), porteur de la fonction hydroxyméthyle, pour donner le dérivé céto-acide correspondant qui est tout simplement le produit clef de cette synthèse (schéma 34, voie (B)).

Pour vérifier cette hypothèse, nous nous sommes appuyés sur les travaux de Deshpande et *al.*¹⁴⁴ qui ont préparé le céto-acide précurseur de l'orthosporine (méthylée) (schéma 36), par simple traitement du dianion^{35;43} de l'acide orsellinique **3** généré par deux équivalents de la LDA dans le THF à -78°C, avec l'électrophile adéquat : (S)-3-hydroxybutyrate d'éthyle® à la même température, suivi d'une hydrolyse acide. En se basant sur cette observation, nous avons appliqué la même procédure sur l'acide orsellinique **3** mais avec un électrophile convenable, le glycolate d'éthyle (schéma 37), qui mime celui de la littérature aussi bien par son groupement partant (OEt) que par l'hydroxyle libre.



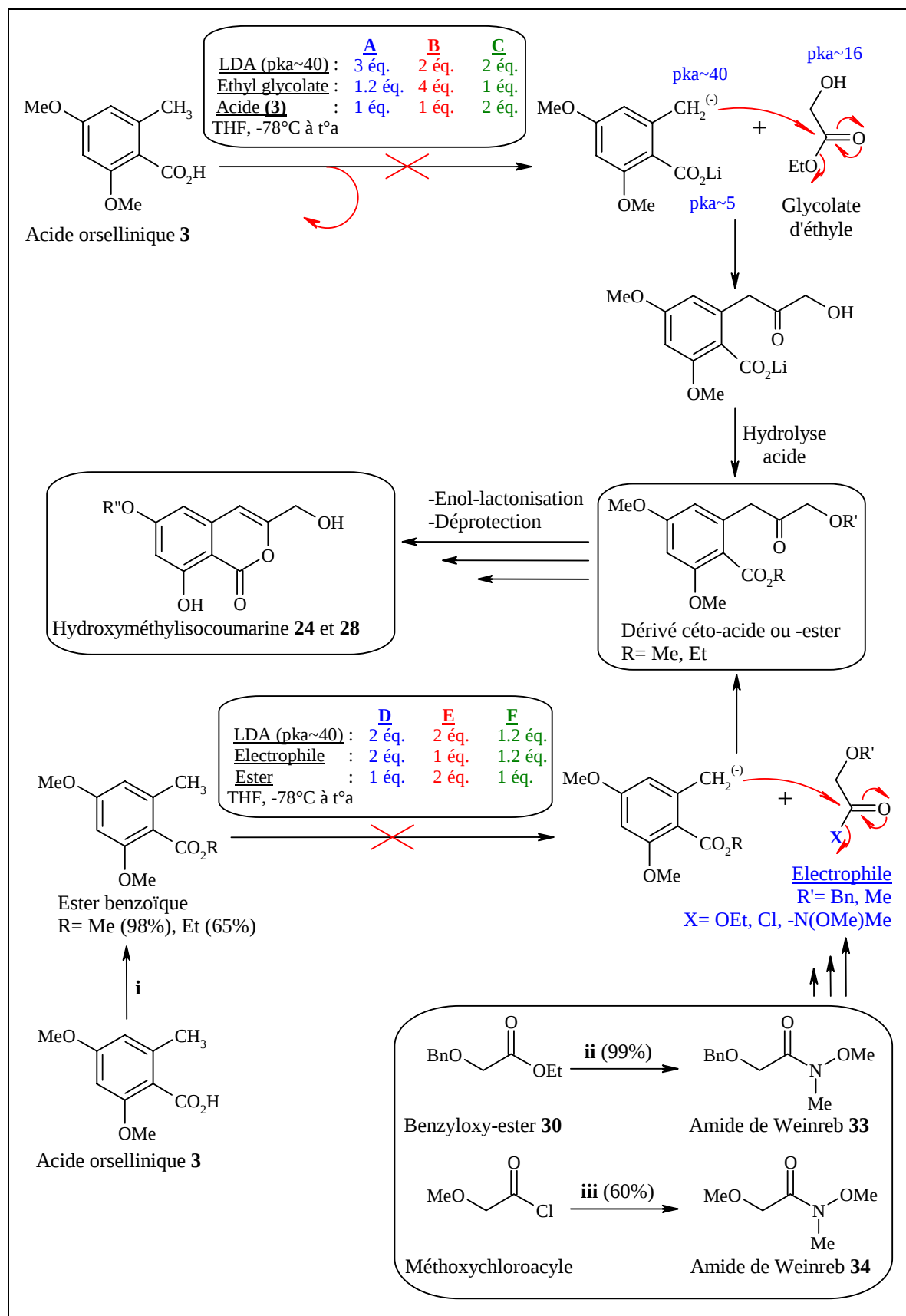
i) LDA (3 équ.), THF, -78°C ii) pTSA, benzène.

Schéma 36. Synthèse de la (+)-orthosporine par Deshpande et *al.*¹⁴⁴

Durant le premier essai (schéma 37), nous avons remarqué que, dès l'addition du glycolate d'éthyle (E^+) dilué dans du THF à la solution jaune du dianion préformé *in situ* à -78°C , la coloration jaune disparaît en annonçant la consommation du dianion. Après un traitement adéquat du mélange réactionnel, nous avons récupéré, presque, la totalité de notre produit. Ceci a éveillé en nous, des doutes sur l'hydroxyle non protégé de notre électrophile. En effet, le proton de cet hydroxyle est certes plus acide que le dianion préformé, causant ainsi, la reprotonation de ce dernier. Nous avons engagé une série de changement commençant par la modification des conditions réactionnelles^{32;98;145} : le nombre d'équivalent des réactifs, le temps d'addition, l'utilisation de HPMA, le traitement acide du mélange réactionnel, puis passant par la benzylation de l'hydroxyle libre¹⁴³, ensuite la variation du groupement partant : -OEt, -Cl¹⁴³, -NMe(OMe)^{146;147} de l'électrophile, et finissant par l'estérification de l'acide orsellinique **3**⁹⁸ (schémas 37 et 38).

Tous ces changements effectués, nous ont coûté énormément de temps et d'énergie, n'ont malheureusement pas abouti au résultat souhaité. Par la suite, nous avons compris à travers la littérature que des acylations directes similaires ont été tentées auparavant par de multiples agents commun d'acylation sans efficacité, voire parfois sans succès^{35;43}.

En conclusion, nous pensons que cette méthode fonctionne correctement avec des électrophiles de petite taille, qui sont doublement-électrophiles tel le carbonate de diméthyle, mais elle présente malheureusement des limites considérables quand il s'agit d'électrophiles volumineux et non symétriques. Toutefois, nous restons septiques vis-à-vis de l'approche de Deshpande, qui est à notre avis naïve. Nous avons aussi tenté de l'appliquer pour la synthèse de l'orthosporine (chapitre 5), mais évidemment sans succès. D'ailleurs, leur synthèse n'a jamais été reproduite dans la littérature.



i) SO₄Me₂, NaOH, H₂O/EtOH, rx ii) (MeNHOMe ; HCl), AlMe₃, THF, 0°C
 iii) (MeNHOMe ; HCl), Pyr, CH₂Cl₂, 0°C.

Schéma 37. Essais de synthèse via l'énol-lactonisation d'un céto-acide/ester

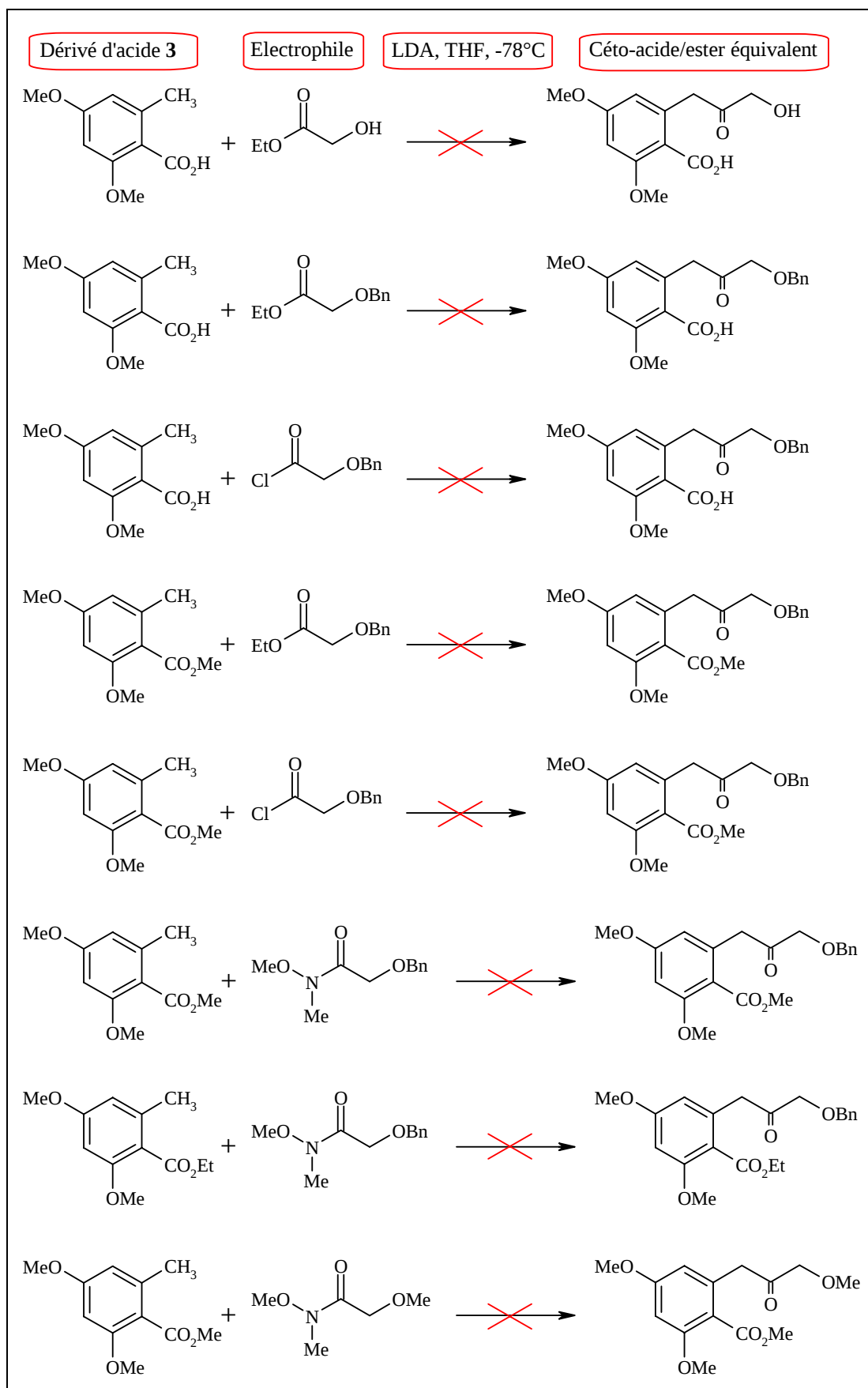


Schéma 38. Récapitulatif des essais de synthèse de l'intermédiaire clef : céto-acide/ester

4.3. Synthèse de la cytogénine (24) et son dérivé 28 :

Une énohydroxylation de l'isocoumarine **6** par une oxydation directe est probablement difficile à réaliser, à cause des conditions drastiques requises¹⁴⁸ qui sont incompatible avec des molécules aussi fragiles que les isocoumarines. Des oxydations similaires se sont avérées incontrôlables et conduisent souvent à des dérivés d'acides carboxyliques ou/et d'aldéhydes¹⁴⁹.

Dans le but d'obtenir des intermédiaires plus stables, nous avons préféré une bromation allylique des dérivés d'isocoumarine **7** et **8**. Comme le montre le schéma rétrosynthétique (schéma 34, voie (C)), cette stratégie nous semble assez convaincante. Elle se construit à travers une bromation allylique radicalaire sur le méthyle en position (3) des deux molécules **7** et **8**, que nous avons préparé précédemment (chapitre 3). Cette bromation représente l'étape cruciale de cette synthèse, elle est par la suite suivie d'une substitution nucléophile SN2 du brome par l'anion formiate, qui après déacétylation, produit par simple hydrolyse acide la cytogénine (**24**) et son dérivé **28** (schéma 39).

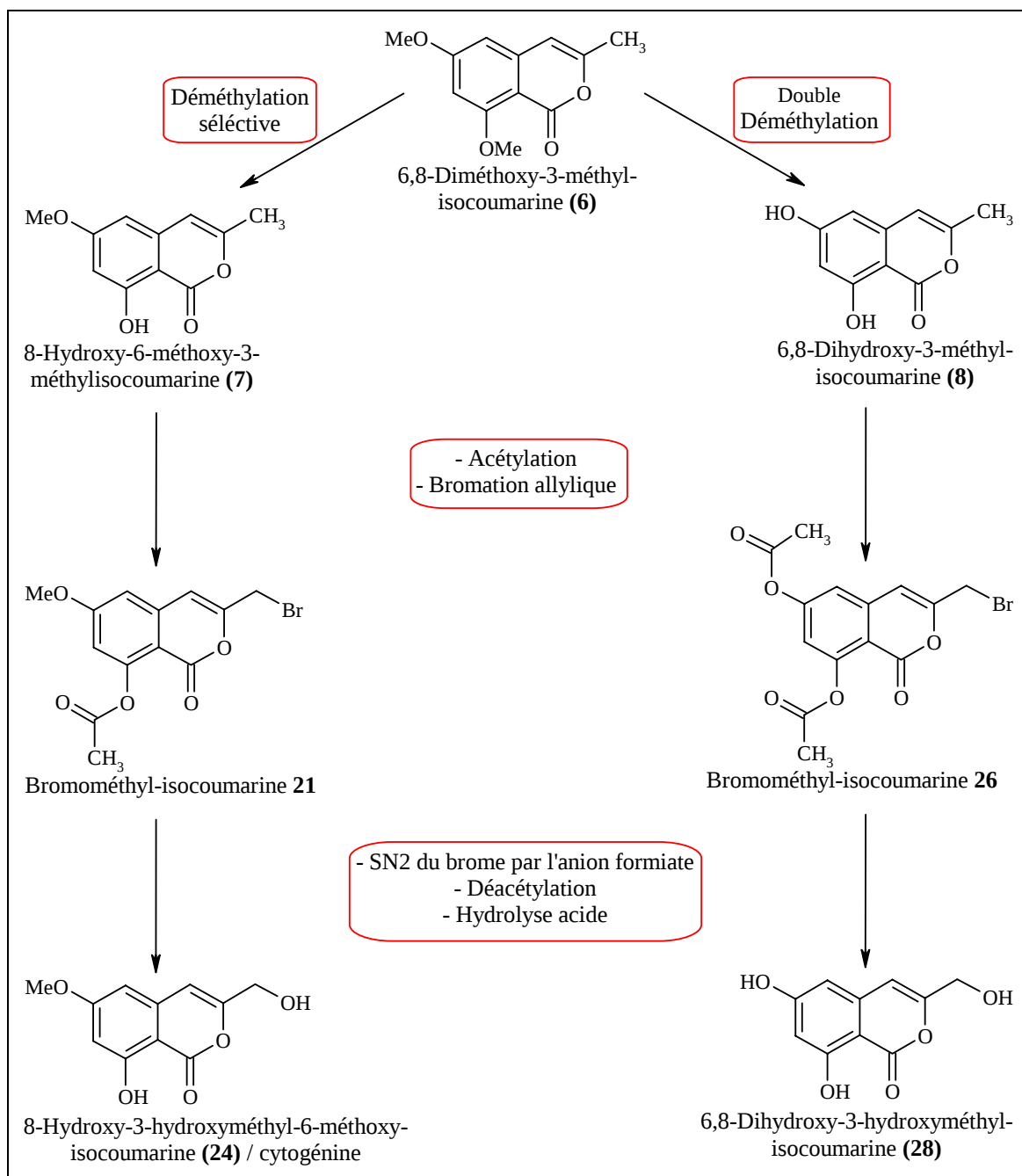
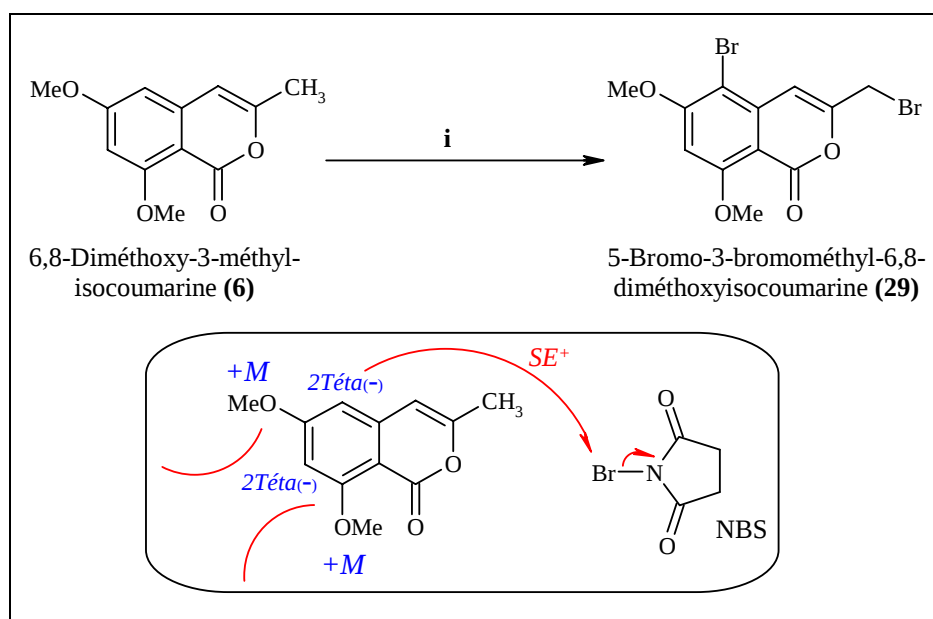


Schéma 39. Voie de synthèse des hydroxyméthyl-isocoumarines 24 et 28

4.3.1. Préparation des bromométhyl-isocoumarines 21 et 26 :

Par référence à la synthèse décrite par Bhakta et *al.*^{150;151}, nous avons tenté d'aller droit au but, en essayant de bromer directement la 6,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (**6**). Nous avons traité à reflux l'isocoumarine **6** avec le *N*-bromosuccinimide en excès (3 équivalents) dans le chloroforme en présence de l'initiateur de radicaux : l'azobisisobutyronitrile (AIBN)¹⁵². Comme le montre le schéma 40, nous étions confrontés à une compétition entre une substitution électrophile sur le noyau aromatique et la bromation allylique sur le méthyle de l'isocoumarine **6**, qui a abouti à un produit commun dibromés : l'isocoumarine **29**. Cette compétition est due certainement, au pouvoir donneur d'électrons (+M) des deux méthoxy-aromatique en position (6) et (8), qui activent doublement les positions (5) et (7) en *ortho* et en *para*. La gêne stérique entre les deux méthoxyles (6) et (8), rend instable la SE^+ en position (7) par un atome aussi volumineux que le brome, ce qui explique l'unique bromation aromatique en position (5) (schéma 40).



i) NBS, AIBN, $CHCl_3$, rx (45%).

Schéma 40. Bromation allylique de l'isocoumarine 6

En RMN 1H , nous constatons la disparition du pic de ($=C-CH_3$) à δ 2.16 et son remplacement par le singulet de ($=C-CH_2-Br$) à δ 4.23, ce changement est confirmé par le DEPT. En plus des $2 \times (OCH_3)$ qui donnent un singulet à δ 4.05 et du ($=CH-$) en singulet à δ 6.97, nous observons la présence d'un seul proton aromatique en singulet à δ 6.56. Les analyses en spectrométrie de masse de l'isocoumarine **29**, montrent la présence des trois pics (1:2:1)

caractéristiques de la présence de deux atomes de brome, correspondant aux poids moléculaires : 399.0 $[M(^{79}\text{Br})+\text{Na}]^+$, 401.0 $[M(^{80}\text{Br})+\text{Na}]^+$ et 403.0 $[M(^{81}\text{Br})+\text{Na}]^+$.

4.3.1.1. Préparation des isocoumarines 20 et 25 par acétylation :

Pour pallier à ce problème, nous avons pensé à désactiver les deux positions aromatiques (5) et (7) en les rendant déficientes en électrons et par conséquent incapable d'accrocher les atomes de brome.

Dans cette logique, nous avons remplacé les deux méthoxyles de l'isocoumarine **6** par deux groupements, électroattracteurs, qui orientent en *méto*. Pour cela, nous avons procédé à une double acétylation¹⁵³ de l'isocoumarine **8** qui conduira par la suite à l'isocoumarine **28**, et à l'acétylation¹⁵³ de l'isocoumarine **7** qui permettra d'obtenir l'isocoumarine **24**.

Le traitement de l'isocoumarine **7** ou **8** à froid avec de la pyridine permet de déprotoner les hydroxyles libres qui réagissent suivant un mécanisme d'addition-élimination sur l'anhydride acétique pour donner respectivement l'acétoxy-isocoumarine correspondant **20** et **25** (schéma 41). Le rendement respectif de leur synthèse est de 96% et 97%.

En RMN ^1H , ces acétylations se traduisent par la présence d'un singulet de $(\text{CH}_3\text{C}=\text{O})$ à δ 2.43 pour l'isocoumarine **20** et par deux singulets des $2\times(\text{CH}_3\text{C}=\text{O})$ à δ 2.34 et 2.43 pour l'isocoumarine **25**.

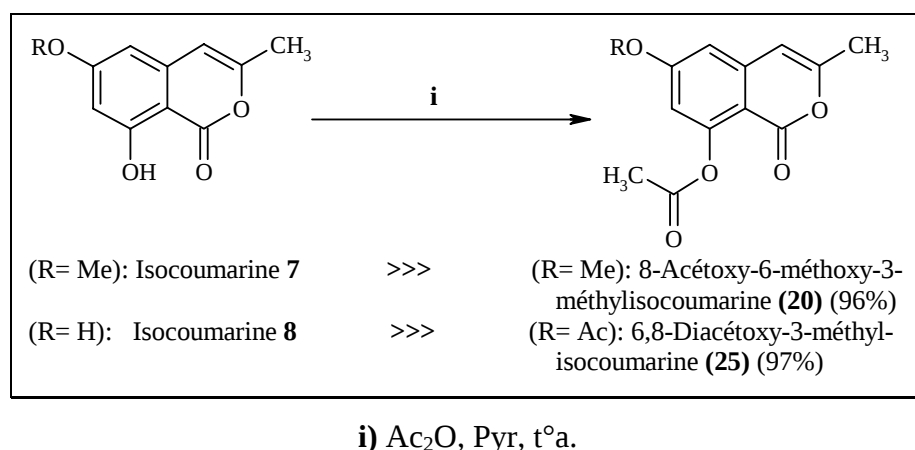


Schéma 41. Synthèse des isocoumarines 20 et 25

Les données cristallographiques de la structure rayon X de l'isocoumarine **20**, viennent confirmer les transformations effectuées (figures 21 et 22 ; tableau 6a).

L'étude de la structure aux rayons X de l'isocoumarine **20** montre que l'arrangement du sel organique moléculaire dans la structure de la couche cristalline est dirigé par des liaisons hydrogène intermoléculaires $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}=\text{C}$ entre le carbone (C27) et l'oxygène (O5) (figure 21). Ces liaisons hydrogène permettent d'unir les unités liées par les opérations de symétrie et conduire à la formation d'une structure stable (tableau 6b).

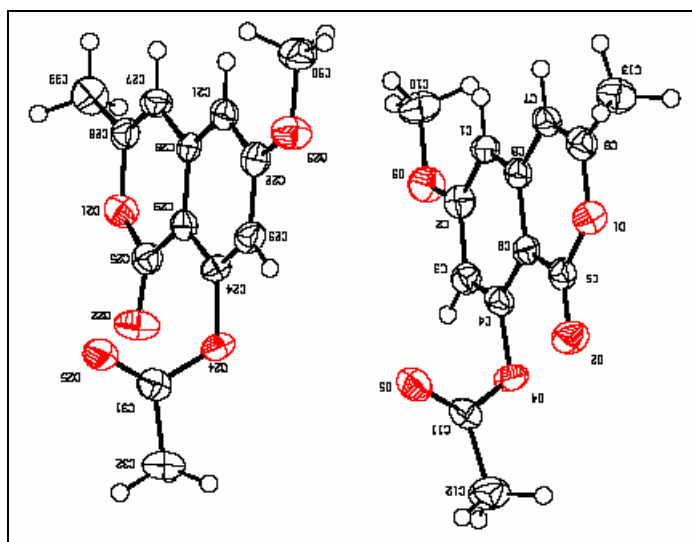


Figure 21. Structure Rayon X de l'isocoumarine **20**

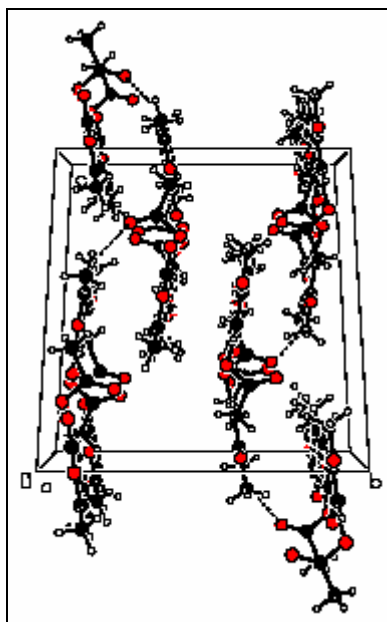


Figure 22. Structure Rayon X *packing* de l'isocoumarine **20**

Tableau 6a. Paramètres cristallographiques de l'isocoumarine 20

Formule empirique	C ₁₃ H ₁₂ O ₅
Masse molaire	248.23
Forme du cristal	Tige
Couleur du cristal	Incolore
Dimensions du cristal [mm]	0.50 x 0.10 x 0.10
Système cristallin	Monoclinique
Taille de la maille	
<i>a, b, c</i> [Å]	12.359(2), 13.4983(18), 18.446(3)
<i>α, β, γ</i> [°]	90, 131.199(10), 90
<i>V</i> [Å ³]	2315.4(6)
Groupe spatial	P 2 ₁ /c
<i>Z</i>	8
<i>D</i> _{calc} [g.cm ⁻³]	1.424
Radiation utilisée	Mok α
Longueur d'onde [Å]	0.71073
Coefficient d'absorption molaire [mm ⁻¹]	0.110
Température [K]	173(2)
Paramètres affinage cellule	
Réflexions	7104
Angle moyen	1.47 < θ < 25.39
Solvant de recristallisation	Chloroforme

Tableau 6b. Liaisons hydrogène de l'isocoumarine 20

Liaison Hydrogène	D–H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	D–H...A (Å)	Opération de symétrie
C27–H27...O5 ⁱ	0.95	2.57	3.384(6)	145	ⁱ) -x, 1-y, -z

4.3.1.2. Synthèse des bromo-isocoumarines 21 et 26 :

4.3.1.2.1. La bromation allylique par le *N*-bromosuccinimide :

Depuis l'étude de Ziegler¹⁵⁴ sur l'utilité synthétique du *N*-bromosuccinimide (NBS) en tant qu'agent de bromation, plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer la bromation allylique et benzylique. Parmi les mécanismes proposés, ceux de Bloomfield¹⁵⁵ et Goldfinger^{156;157} (schéma 42) semblent être les plus plausibles.

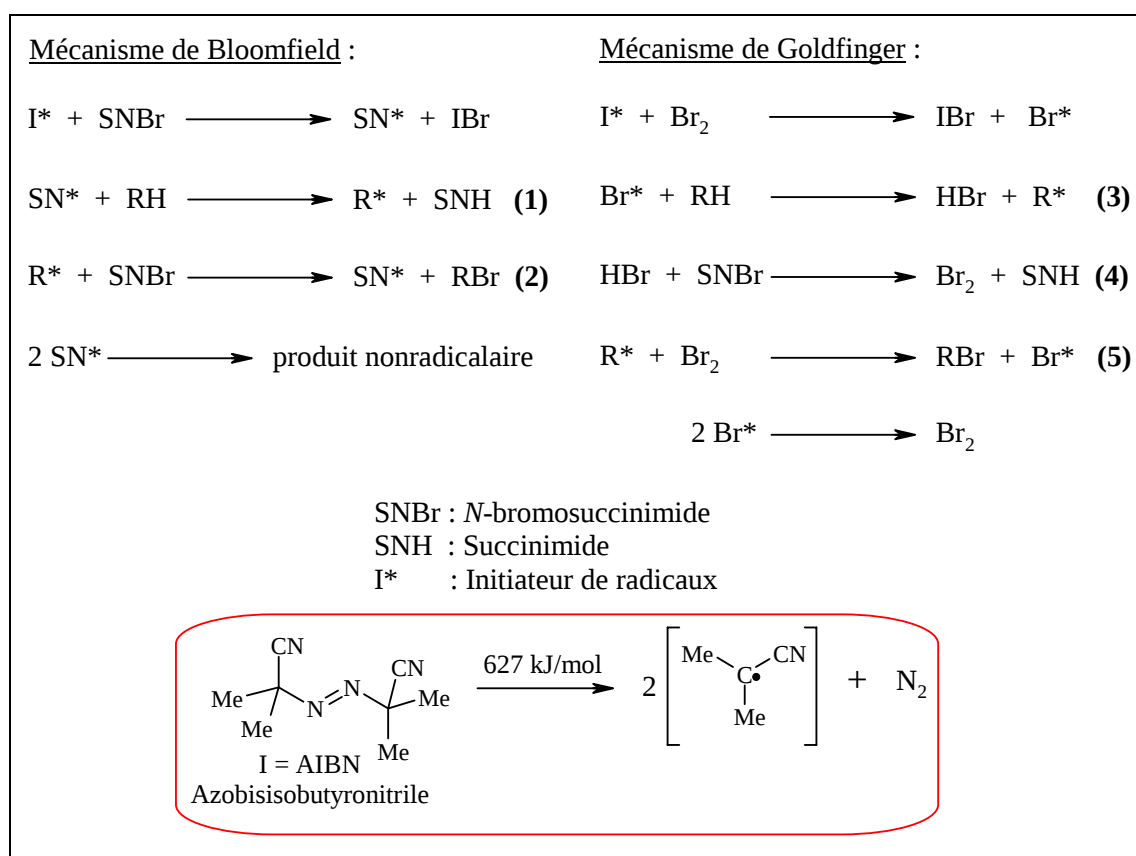


Schéma 42. Mécanismes plausibles de bromation allylique par *N*-bromosuccinimide

Pendant plusieurs années, la simplicité attrayante du mécanisme de Bloomfield, complété par les résultats de diverse études¹⁵⁸, tendent à favoriser le processus *via* le radical succinimidyl ($\text{SN}^\bullet$). Des années plus tard, des investigations indépendantes¹⁵⁹⁻¹⁶⁴ ont plutôt appuyées le mécanisme de Goldfinger. Cependant, d'autres travaux^{165;166} suggéraient que la génération des radicaux de succinimidyl pourrait être tout à fait un processus difficile et servir comme support pour le mécanisme de Bloomfield.

En 1970, Incremona et Martin¹⁶⁷ ont finalement élucidé le mécanisme réel de la bromation allylique par le NBS, à travers l'étude des sélectivités de divers agents de bromation employés

lors des bromations allyliques compétitives, tels le brome moléculaire, le *N*-bromosuccinimide (NBS) et le *N*-bromotétraméthylsuccinimide (NBTMS). Cette étude a démontré que le mécanisme effectif de la bromation allylique par le NBS est celui impliquant le radical brome Br•. Le NBS fournit une faible concentration équilibrée en Br₂ suivant un mécanisme semblable à celui suggéré à l'origine par Goldfinger pour des réactions de bromation benzylique.

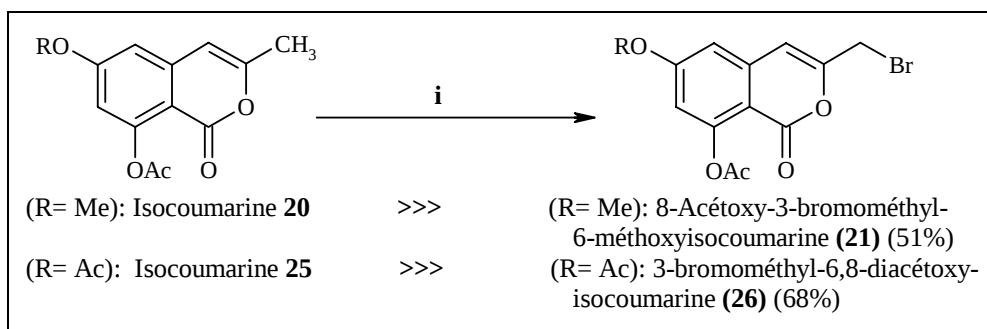
4.3.1.2.2. Préparation des bromo-isocoumarines **21** et **26** par bromation allylique :

La bromation allylique des isocoumarines **20** et **25** est l'étape cruciale de cette synthèse. Elle permet par action du NBS, la fonctionnalisation du méthyle libre en position (3) par un groupement nucléophile (Br) qui par la suite est facilement transformable en groupement hydroxyle.

Pour la synthèse des bromo-isocoumarines **21** et **26** (schéma 43), nous avons traité respectivement les isocoumarines **20** et **25** à reflux avec le *N*-bromosuccinimide dans le chloroforme en présence de l'azobisisobutyronitrile (AIBN). Le rendement respectif est de 51% et 68%. Cette grande différence entre les deux rendements est justifiée par la présence du groupement méthoxyle dans l'isocoumarine **20** qui par son orientation en *ortho* et *para*, relance la substitution électrophile en position (4), ce qui abaisse considérablement le rendement en produit de bromation allylique.

En RMN ¹H, ces bromations allyliques s'expriment par la disparition du doublet de (=C-CH₃) dans chacune des isocoumarines **20** et **25** respectivement à δ 2.23 et 2.26 et son remplacement par le singulet de (=C-CH₂-Br) respectivement à δ 4.18 et 4.17. Ce changement est validé par le DEPT.

La structure rayon X de l'isocoumarine **26** (figure 23 ; tableau 7), confirme les changements opérés.



i) NBS, AIBN, CHCl₃, rx.

Schéma 43. Synthèse des isocoumarines 21 et 26

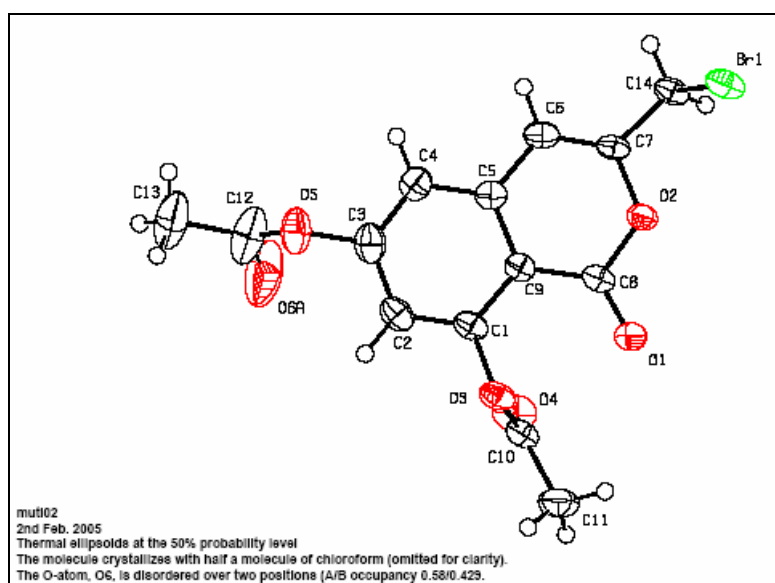


Figure 23. Structure Rayon X de l'isocoumarine 26

Tableau 7. Paramètres cristallographiques de l'isocoumarine 26

Formule empirique	C ₁₄ H ₁₁ BrO ₆ ; 0.5(CHCl ₃)
Masse molaire	414.82
Forme du cristal	Plate
Couleur du cristal	Incolore
Dimensions du cristal [mm]	0.38 x 0.30 x 0.15
Système cristallin	Triclinique
Taille de la maille	
<i>a, b, c</i> [Å]	8.3048(7), 9.6223(7), 11.6445(10)
α, β, γ [°]	105.800(9), 92.823(10), 101.586(9)
<i>V</i> [Å ³]	871.78(12)
Groupe spatial	P -1
<i>Z</i>	2
<i>D</i> _{calc} [g.cm ⁻³]	1.580
Radiation utilisée	Mok\alpha
Longueur d'onde [Å]	0.71073
Coefficient d'absorption molaire [mm ⁻¹]	2.612
Température [K]	173(2)
Paramètres affinage cellule	
Réflexions	7375
Angle moyen	2.45 < θ < 25.95
Solvant de recristallisation	Chloroforme

4.3.2. Préparation des 3-formyloxyméthyl-isocoumarines 23 et 27 :

Dans cette partie, nous avons procédé au déplacement nucléophile de l'atome de brome en position allylique par le groupement formiate (**HCO₂⁻Na⁺**), ce qui nous a permis par la suite d'obtenir aisément les isocoumarines **24** et **28** suite à une simple hydrolyse du groupement formiate. Cette méthode a été inspirée de Matsumoto et *al.*²² dans leurs travaux de synthèse et d'évaluation biologique de certains dérivés de la cytogénine.

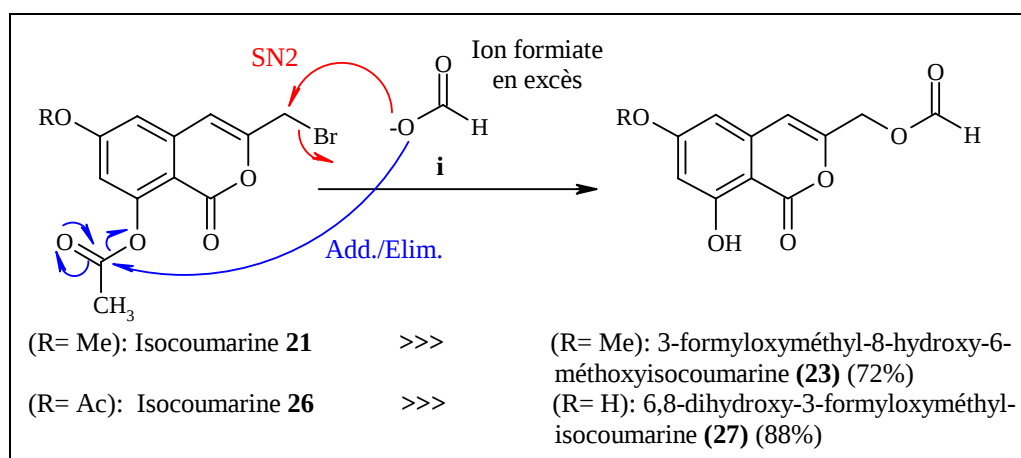
Nous avons essayé, sans réussite, de convertir directement l'atome de brome en groupement hydroxyle, par une hydrolyse basique avec une solution aqueuse de NaOH ¹⁶⁸ ou par simple hydrolyse avec un mélange H_2O /acétone à 90°C ¹⁶⁹. Ce résultat négatif est dû certainement à la sensibilité de la cyclolactone à la chaleur en milieux aqueux basiques.

La formylation des isocoumarines **21** et **26** est effectuée par action du formiate de sodium en excès dans le DMF à 80°C (schéma 44). Après deux heures de réaction, nous avons constaté par CCM, la disparition des produits de départ en laissant la place à des produits beaucoup plus polaires. La RMN ^1H des deux isocoumarines récupérées **23** et **27**, montre la présence du singlet de la fonction aldéhyde respectivement à δ 8.17 et 8.30 et le déblindage vers les champs faibles du singlet de (CH_2OCHO) respectivement à δ 4.99 et 5.04 au lieu de δ 4.21 et 4.17 dans le cas de (CH_2Br) . A notre grande surprise, nous avons constaté aussi le clivage simultané et inattendu de(s) OH acétylé(s) dans les deux isocoumarines obtenues. Ce résultat nous convient pour la suite de notre synthèse. Il pourrait bien être expliqué par le rôle de nucléophile joué par l'ion formiate pour saponifier le groupement méthylester dans les deux isocoumarines suivant un mécanisme d'addition/élimination en présence d'un solvant aussi polaire que le DMF à 80°C (schéma 44).

En RMN ^1H , cela se traduit par la disparition des singlets des acétyles et l'apparition du singlet de l'hydroxyle respectivement à δ 11.0 et 11.05.

Le rendement respectif de la synthèse des isocoumarines **23** et **27** est de 72% et 88%.

La structure de l'isocoumarine **23** est confirmée par la analyses en rayon X (figures 24 et 25 ; tableau 8).



i) 1) NaHCO_2 , DMF, 80°C , 2) H_2O .

Schéma 44. Synthèse des isocoumarines **23** et **27**

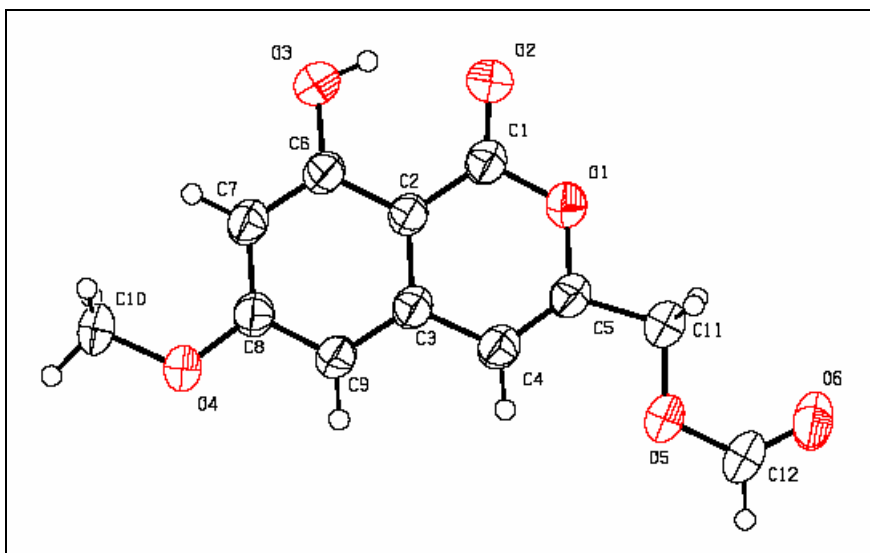
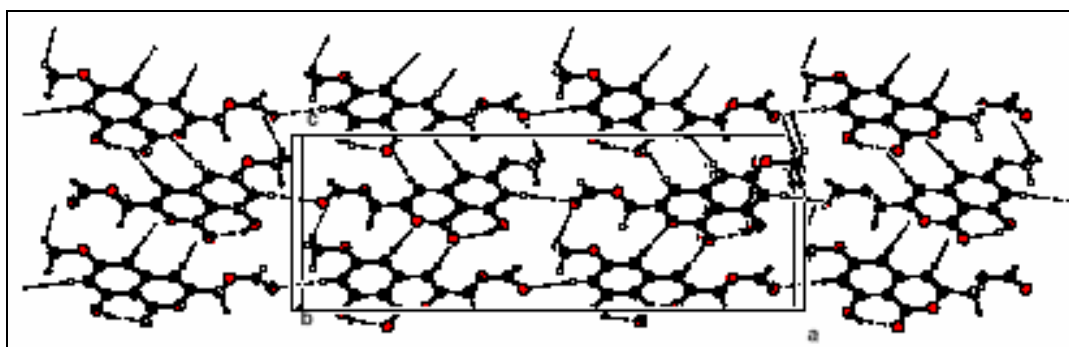


Figure 24. Structure Rayon X de l'isocoumarine 23


 Figure 25. Structure Rayon X *packing* de l'isocoumarine 23

L'étude de la structure aux rayons X de l'isocoumarine 23 montre que l'arrangement du sel organique moléculaire dans la structure de la couche cristalline est dirigé par des liaisons hydrogène intra et intermoléculaires $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}=\text{C}$ entre l'hydroxyle aromatique (O3) et l'oxygène (O2) de la lactone (figure 25). Ces liaisons hydrogène permettent d'unir les unités liées par les opérations de symétrie et conduisent à la formation d'une structure stable (tableau 8b).

Tableau 8b. Liaisons hydrogène de l'isocoumarine 23

Liaison Hydrogène	D–H (Å)	H $\cdots$ A (Å)	D $\cdots$ A (Å)	D–H $\cdots$ A (Å)	Opération de symétrie
O3–H3 $\cdots$ O2	0.84	1.87	2.616(3)	146.5	-

Tableau 8a. Paramètres cristallographiques de l'isocoumarine 23

Formule empirique	C ₁₂ H ₁₀ O ₆
Masse molaire	250.20
Forme du cristal	Bloc
Couleur du cristal	Incolore
Dimensions du cristal [mm]	0.50 x 0.50 x 0.50
Système cristallin	Orthorhombique
Taille de la maille	
<i>a, b, c</i> [Å]	25.006(2), 5.0337(6), 8.5646(6)
α, β, γ [°]	90, 90, 90
<i>V</i> [Å ³]	1078.05(17)
Groupe spatial	P c a 2
<i>Z</i>	4
<i>D</i> _{calc} [g.cm ⁻³]	1.542
Radiation utilisée	Mok α
Longueur d'onde [Å]	0.71073
Coefficient d'absorption molaire [mm ⁻¹]	0.126
Température [K]	173(2)
Paramètres affinage cellule	
Réflexions	3909
Angle moyen	2.15 < θ < 25.75
Solvant de recristallisation	Chloroforme

Nous avons remarqué d'après la RMN ¹H (figures 26 et 27) que l'isocoumarine **27**, stockée à température ambiante pendant environ une semaine, s'ouvre vraisemblablement au niveau de la lactone pour donner lieu à un mélange de deux diastéréoisomères : (*Z*) et (*E*) (schéma 45). Ce phénomène n'a pas été observé chez l'isocoumarine **23** (figure 28). Probablement, l'effet mésomère donneur (+M) de l'hydroxyle libre en position (6) associé à celui du formyloxyméthyl- (-I), sont responsables de cette diastéréoisomérisation (schéma 45).

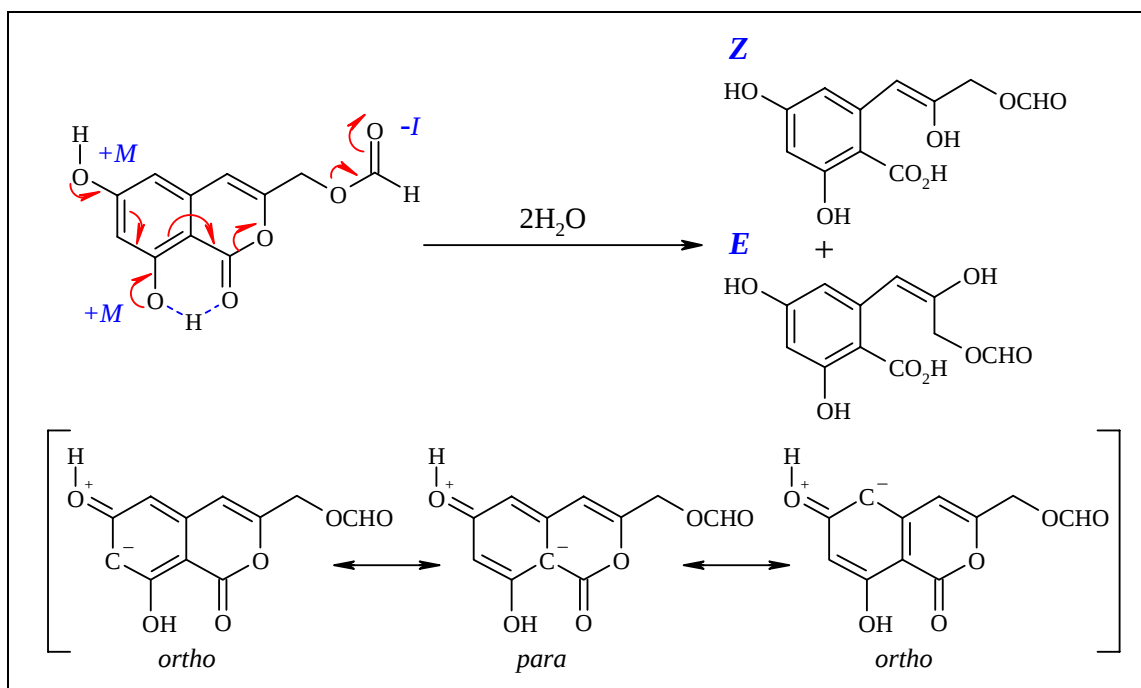
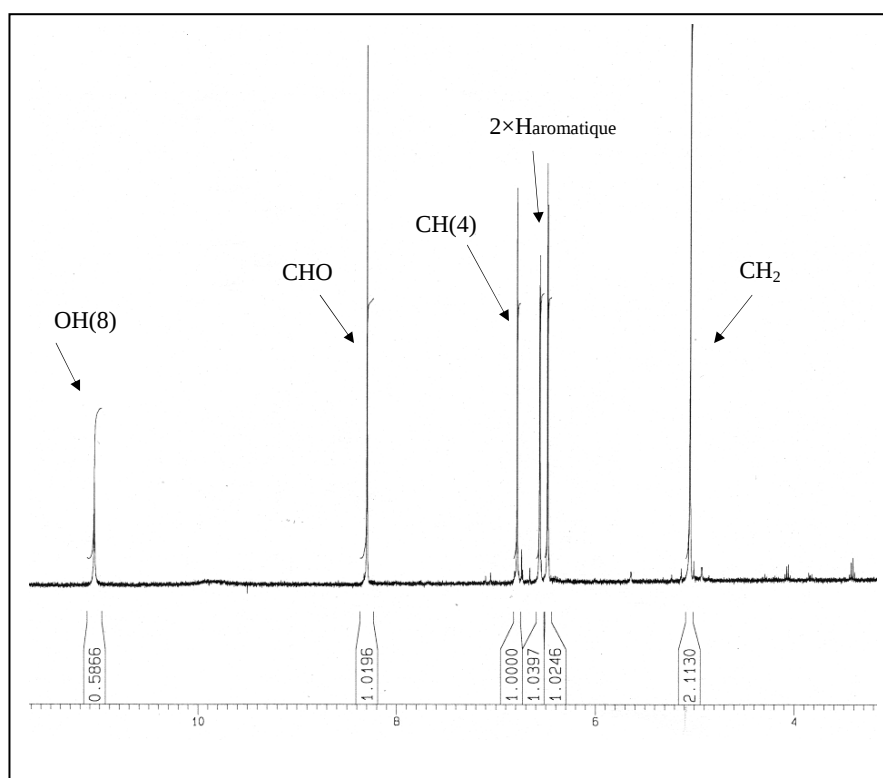


Schéma 45. Mécanisme possible d'ouverture de la lactone de l'isocoumarine 27


 Figure 26. Spectre RMN 1H (400MHz/Acétone- d_6) de l'isocoumarine 27 (forme cyclique)

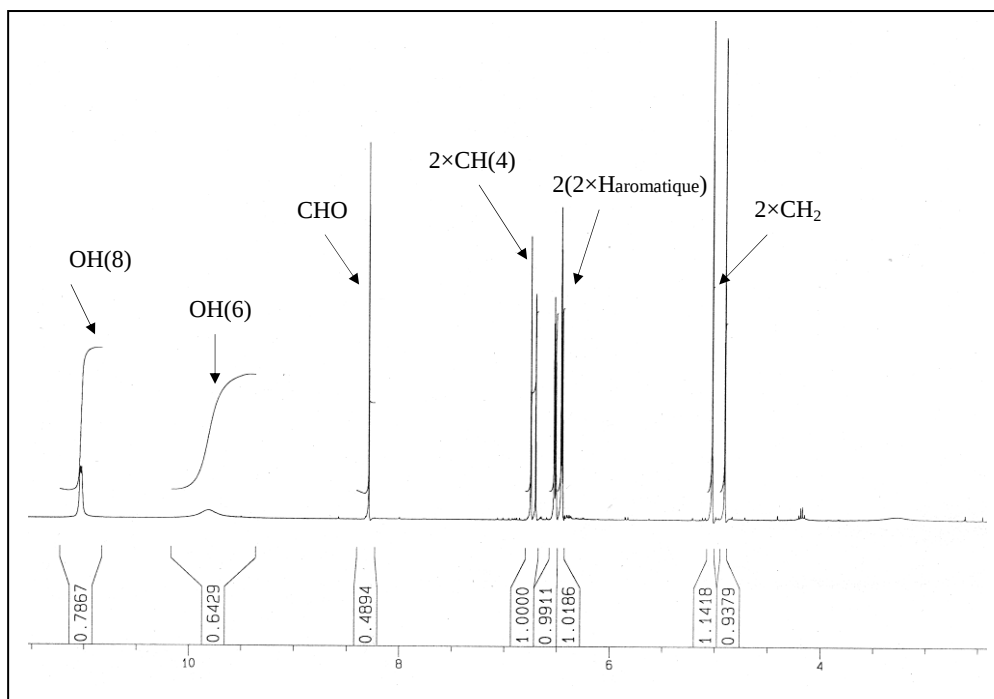


Figure 27. Spectre RMN ^1H (400MHz/Acétone- d_6) de l'isocoumarine 27 (forme ouverte)

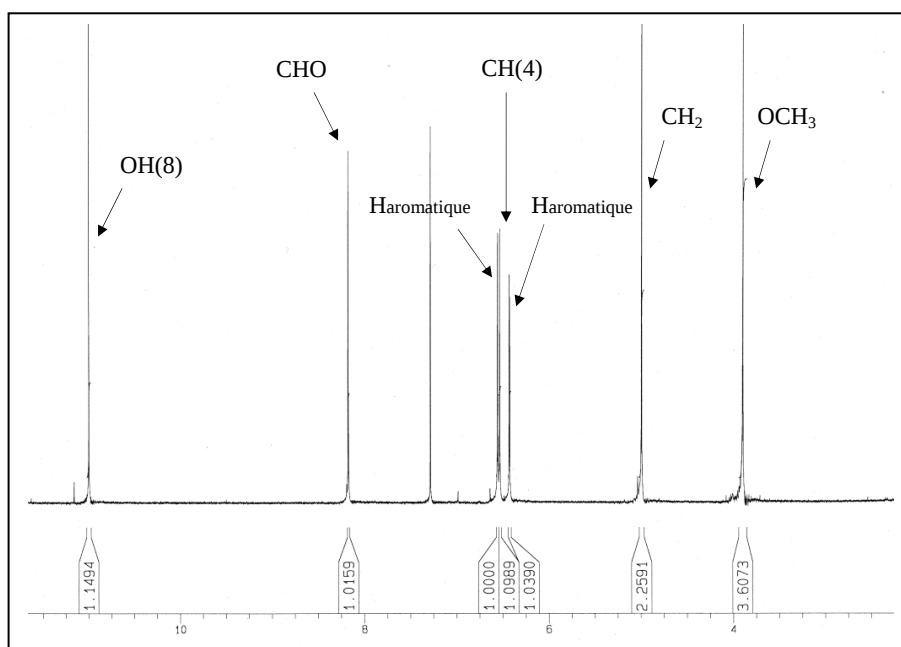


Figure 28. Spectre RMN ^1H (400MHz/ CDCl_3) de l'isocoumarine 23

4.3.3. Préparation de la cytogénine (24) et son dérivé 28 :

Dans cette dernière étape, nous avons procédé avec succès à l'hydrolyse acide du groupement formyloxyméthylester en position (3) des deux isocoumarines **23** et **27** (schéma 46). Le choix d'un clivage acide est dû la stabilité relative de la lactone dans ce milieu. La durée de cette réaction à température ambiante est de 24 heures. A température plus élevée (65°C), le temps de réaction peut être réduit à 2 heures.

Le phénomène d'ouverture que nous avons détecté chez l'isocoumarine **27** n'avait aucun incidence sur l'obtention de l'isocoumarine équivalente, certainement à cause de sa recyclisation probable dans le milieu acide du clivage.

Le rendement de réaction est de 67% pour la cytogénine (**24**) et 88% pour son dérivé 6-hydroxy-cytogénine (**28**).

En RMN ^1H , cette hydrolyse se traduit par la disparition du singulet de l'aldéhyde et l'apparition du (CH_2OH) respectivement à δ 4.48 et 4.40 (figures 29 et 30).

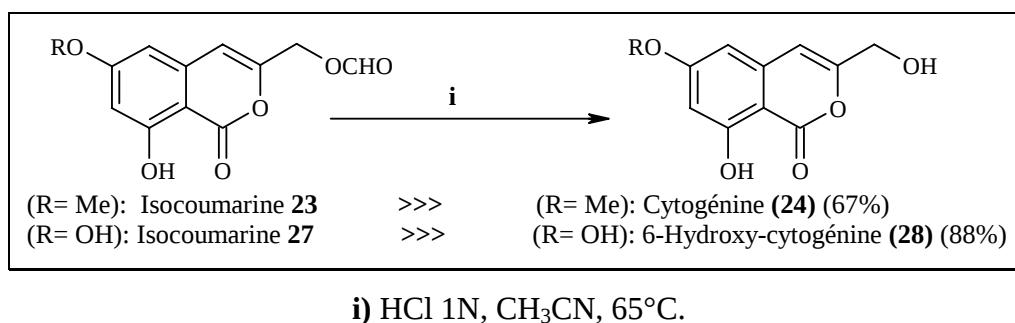


Schéma 46. Synthèse de la cytogénine (24) et la 6-hydroxy-cytogénine (28)

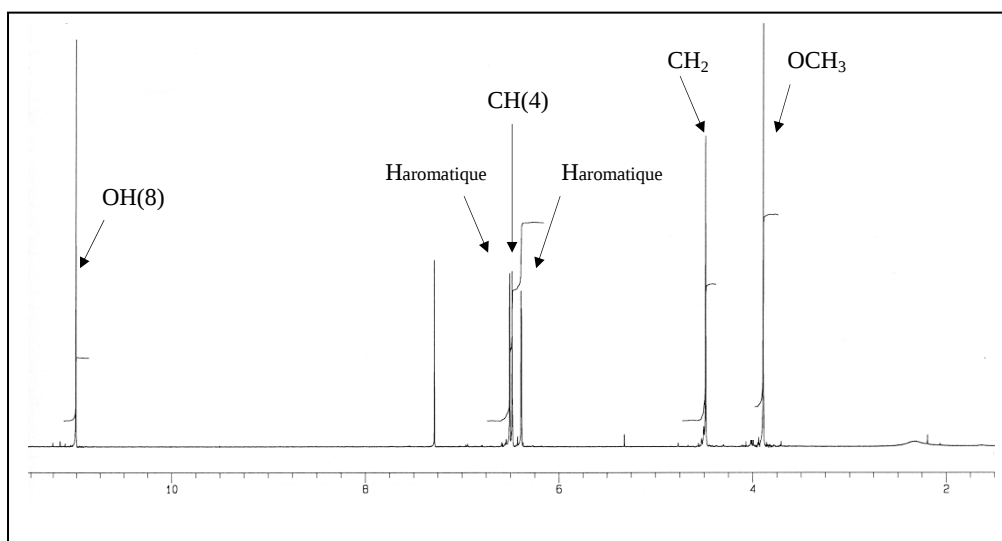


Figure 29. Spectre RMN ^1H (400MHz/ CDCl_3) de la cytogénine (24)

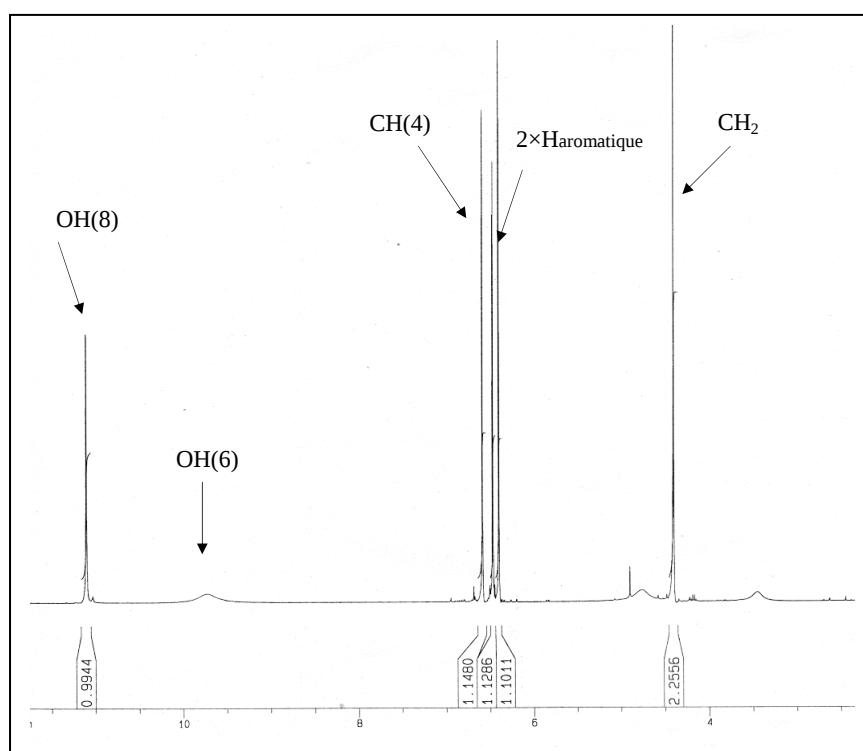


Figure 30. Spectre RMN ^1H (400MHz/ Acétone-d_6) de la 6-hydroxy-cytogénine (28)

4.4. Conclusion :

A la fin de ce chapitre, nous avons préparé la cytogénine (**24**) et son dérivé **28** par bromation allylique des dérivés acétylés des isocoumarines **7** et **8** (schéma 47). Cette technique a permis la fonctionnalisation du méthyle libre en position allylique par un groupement nucléophile (Br), facilement transformable en groupement hydroxyle.

Le rendement global respectif de la synthèse des isocoumarines **24** et **28**, est de 4% et 8%. Certes, ces rendements sont faibles, mais l'approche proposée reste malgré tout, une des voies rares de synthèse de la cytogénine.

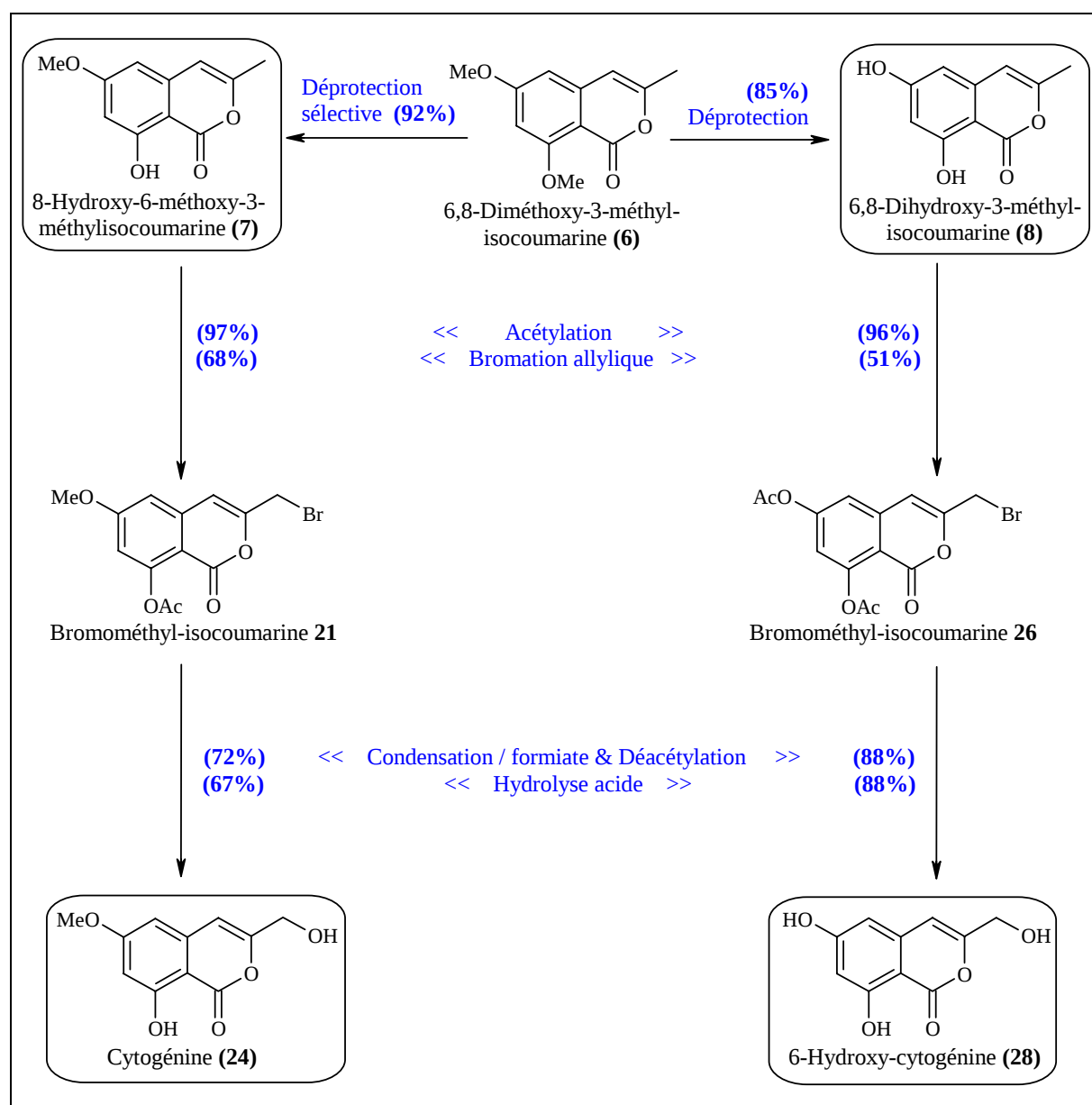


Schéma 47. Synthèse totale des isocoumarines **24** et **28**

CHAPITRE 5

Synthèse racémique de la (R,S)-6,8-dihydroxy-3-(2-hydroxypropyle)isocoumarine (38) ((±)-orthosporine)

5.1. Résultats antérieurs :

La (+)-orthosporine est un produit naturel assez répandu (figure 31). Il a été isolé pour la première fois en 1988 de *Drechslera siccans*¹⁷, agent pathogène de l'avoine, puis en 1989 de *Rhynchosporium orthosporum*¹⁶ où il a été décrit comme une toxine de l'herbe des vergers. En 1991, il a été mentionné comme métabolite secondaire de *Pyricularia oryzae*¹⁷⁰. En 2001, une étude indiquait sa présence aussi chez *Aspergillus ochraceus*¹⁸.

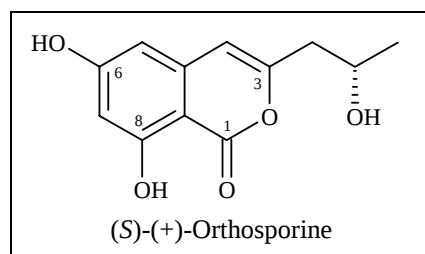


Figure 31. La (+)-orthosporine

Dans notre laboratoire, il a été retrouvé dans les milieux de culture de *C. fimbriata* sp. *coffea* et *C. fimbriata* sp. *platani*, ainsi que dans le *Stragonospora*^{4;5;137}. Plus récemment, il a été isolé lors de l'analyse du milieu de culture de *Ophiostoma ulmi*, agent pathogène de l'orme⁶.

La configuration absolue (S) de (+)-orthosporine, a été établie par synthèse la première fois en 1989 par Ichihara et al.¹⁶ via une résolution par dédoublement de l'intermédiaire racémique (schémas 49 et 50).

La synthèse proposée par Ichihara et al.¹⁶ (schéma 48), est initiée par une alkylation du diester³⁶ **1** qui fournit le diester-alkylé **2**, puis après hydrolyse l'acide équivalent **3**. La

conversion de ce dernier en indanone **4**, suivie d'une hydroxylation en dérivé alcoolique **5**, puis d'une conversion en énoiltrifluoroacétate **6**, fournit après ozonolyse la (*R,S*)-orthosporine méthylée.

La résolution optique des deux énantiomères a été réalisée par à un dédoublement ingénieux au réactif de Mosher (schéma 49) qui produit un mélange de deux diastéréoisomères séparables par chromatographie sur colonne de silice. Une fois les diastéréoisomères isolés, une simple hydrolyse suivie d'une déméthylation, ont permis d'isoler séparément la (*R*) et la (*S*)-orthosporine. La comparaison des valeurs du pouvoir rotatoire avec celle de la (+)-orthosporine naturelle, a permis l'attribution de la configuration absolue (*S*).

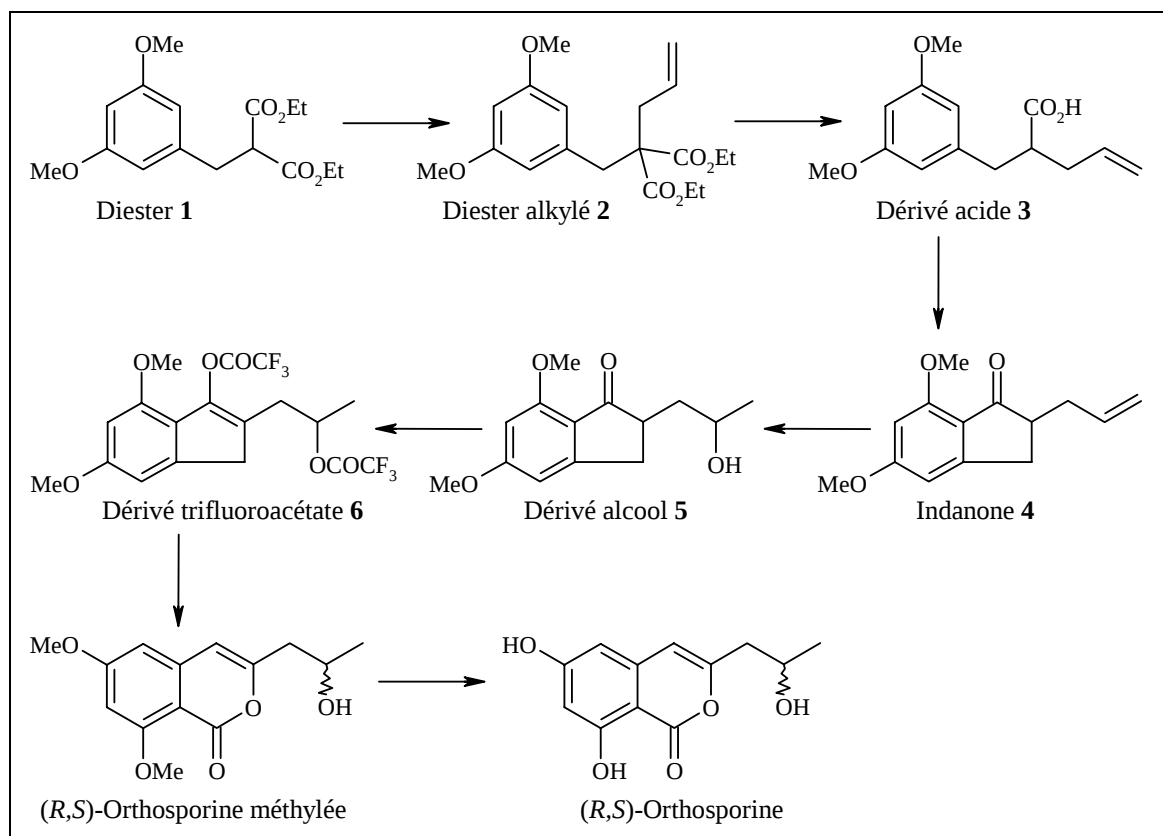


Schéma 48. Synthèse racémique de l'orthosporine par Ichihara et *al.*¹⁶

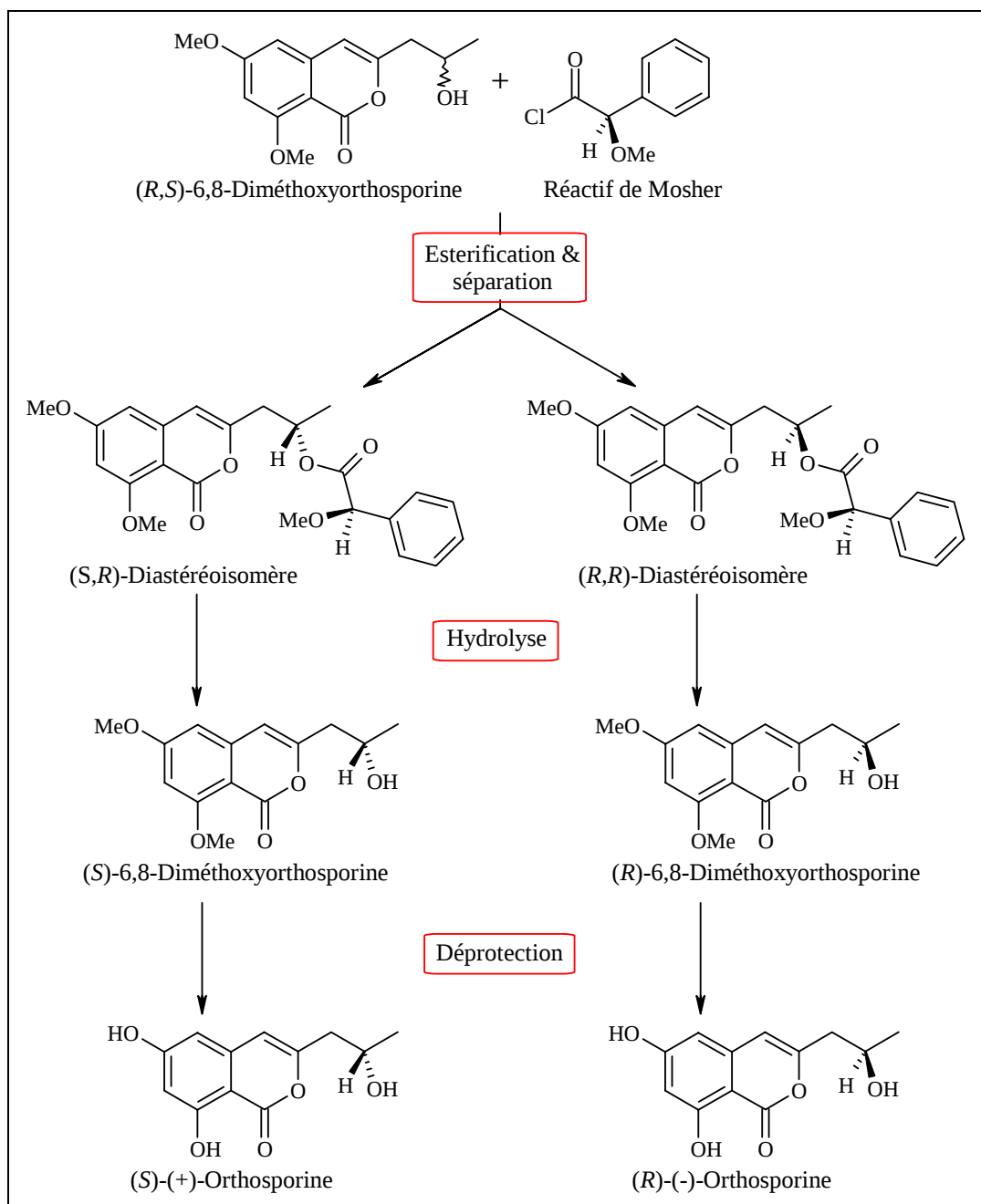
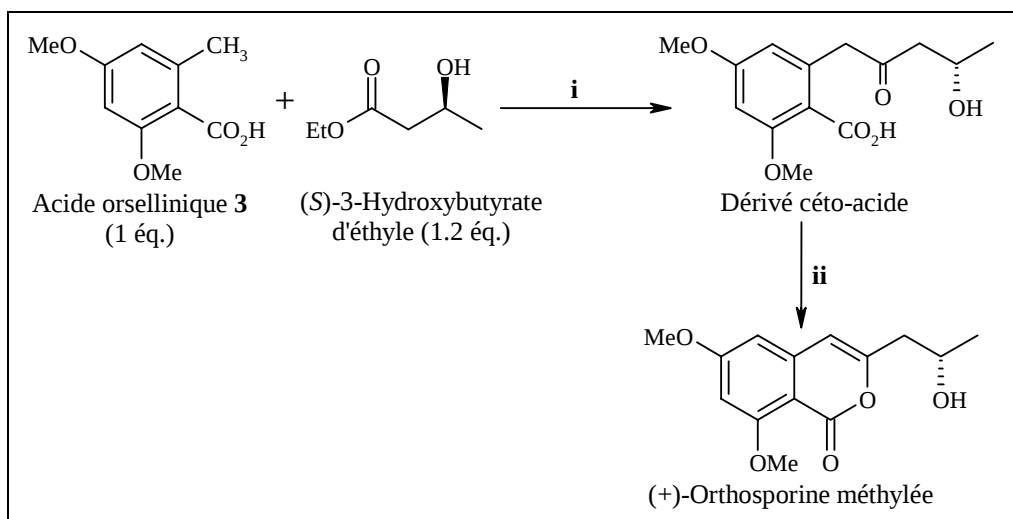


Schéma 49. Résolution de (+)-orthosporine par Ichihara et *al.*¹⁶

Cette synthèse reste cependant assez longue et complexe, ce qui justifie certainement sa non reproductibilité.

En 1996, Deshpande et *al.*¹⁴⁴ prétendait avoir synthétiser la (+)-orthosporine, par une cycloaddition d'un céto-acide asymétrique porteur de la fonction 2-hydroxypropyle (schéma 50).



i) LDA (3 éq.), THF, -78°C ii) pTSA, benzène.

Schéma 50. Synthèse de la (+)-orthosporine par Deshpande et *al.*¹⁴⁴

5.2. Schéma rétrosynthétique :

Après avoir examiné la synthèse de Deshpande (schéma 50), nous l'avons choisie en raison de la disponibilité du réactif de départ, l'acide orsellinique 3. Nous n'étions néanmoins pas très confiants par cette méthode depuis son utilisation manquée dans la synthèse de la cytogénine (24) (§ 4.2).

Dans leur article, Deshpande et *al.*¹⁴⁴ ont effectué la préparation du céto-acide précurseur clef de la (+)-orthosporine (méthylée) (schéma 50), par simple traitement du dianion^{35;43} de l'acide orsellinique 3 généré par deux équivalents de la LDA dans le THF à -78°C, avec le (S)-3-hydroxybutyrate d'éthyle[®] comme électrophile, suivi d'une hydrolyse acide.

Malgré plusieurs essais, nous n'avons pas pu reproduire cette synthèse (schémas 51 et 52/A). En nous basant sur les conclusions annoncées au chapitre précédent (§ 4.2) ainsi que celles de la littérature⁴³, nous constatons que des acylations directes similaires ont été tentées auparavant par de multiples agents commun d'acylation sans efficacité, voire sans succès.

En conclusion, nous pensons que cette méthode fonctionne correctement avec des électrophiles de petite taille et qui sont doublement-électrophiles tels le carbonate de diméthyle (§ 3.4.2), mais elle présente malheureusement des limites considérables dans le cas d'électrophiles volumineux et non symétriques.

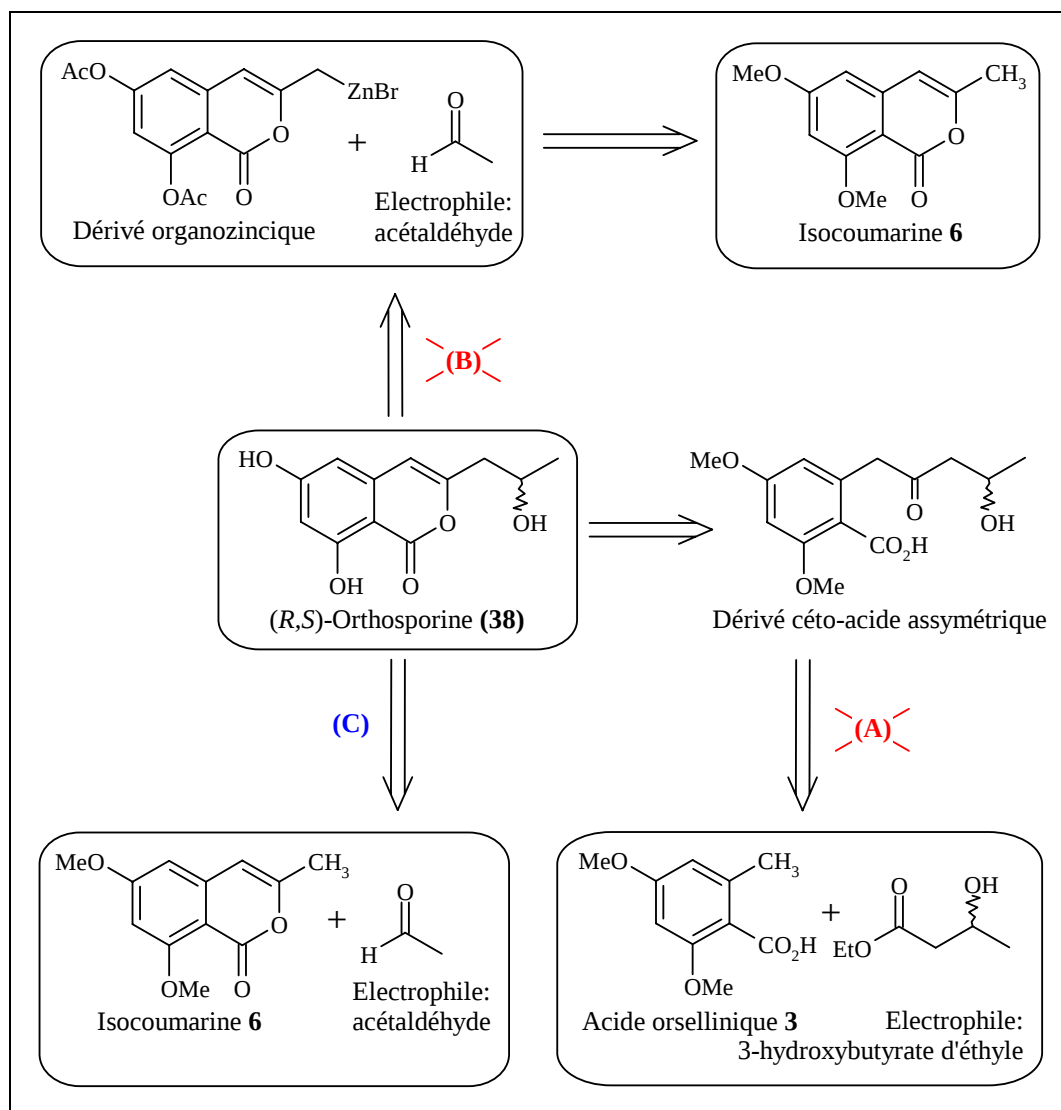


Schéma 51. Rétrosynthèse de la (R,S)-orthosporine (38)

En fait, l'orthosporine partage la même structure de base que les isocoumarines précédemment synthétisé (§ 3 et 4). Sur la base des résultats obtenus lors de la synthèse de la cytogénine (24), nous avons pensé à une synthèse de l'orthosporine par une fonctionnalisation adéquate de l'isocoumarine 6. En effet, la substitution d'une molécule offrant une structure stable représentant une grande partie de la structure finale, et fortement plus réalisable (schéma 51 ; voies B et C).

La création de nouvelles liaisons C-C *via* une condensation par addition nucléophile d'organométalliques sur des composés carbonylés est bien connue dans la littérature¹⁷¹⁻¹⁷³. Cette condensation permet à la fois l'alkylation et la génération de la fonction alcool. Dans ce domaine, la majorité de ces travaux^{173;174} font référence aux additions d'organozinciques sur des aldéhydes qui permettent de produire des alcools secondaires par la réaction de

Réformatsky¹⁷⁵. Nous avons alors décidé d'utiliser cette approche en suivant le schéma rétrosynthétique (schéma 51 ; voie B) pour la synthèse des racémates de l'orthosporine.

Le modèle classique de la réaction de Reformatsky¹⁷⁵ consiste à faire réagir un α -haloester en présence de zinc avec un aldéhyde ou une cétone. L'organozincique formé de façon intermédiaire est inactif vis-à-vis de la fonction ester. En revanche, il réagit avec le composé carbonyle plus réactif que l'ester. Le β -hydroxyester correspondant est obtenu après hydrolyse du produit d'addition (schéma 52). D'une façon plus générale¹⁷⁶, la réaction de Réformatsky conduit à travers des insertions de métal dans des liaisons carbone-halogène activées par le carbonyle voisin à des additions sur, pratiquement, toute sorte d'électrophiles.

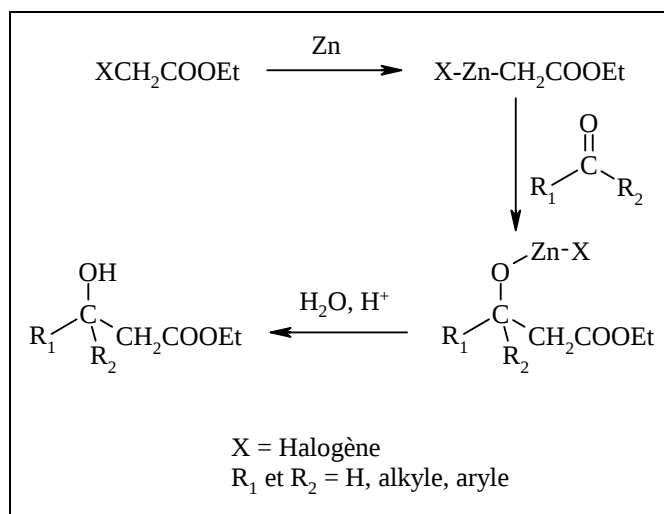


Schéma 52. Modèle classique de la réaction de Reformatsky

Pour effectuer cette réaction nous nous sommes référés au protocole d'Arnold et *al.*¹⁷⁴, qui décrivent la préparation du zinc hautement actif par la réduction du chlorure de zinc avec le naphthalide de sodium préparé *in situ*. L'activation du zinc permet généralement d'éliminer la désactivante couche d'oxyde de zinc, de la surface du métal ou de réaliser une distribution fine du métal.

Pour préparer le zinc actif (schéma 53), nous avons effectué une réduction du naphthalène en présence du sodium métallique qui génère un radical-anion de couleur vert-noir hautement réducteur. Une fois le chlorure de zinc réduit, la solution perd instantanément sa couleur verdâtre et de fines particules de zinc précipitent. La réaction est ensuite amorcée par une addition fractionnée de la bromoisocoumarine **26** (§ 4.3.1.2) suivie de l'ajout de l'acétaldéhyde comme électrophile. Malheureusement, l'intermédiaire organozincique ne s'est

pas formé à cause de l'absence d'un groupement carbonyle dans la structure du bromocoumarine **26**, permettant l'activation de la liaison carbone-brome favorisant l'insertion du zinc.

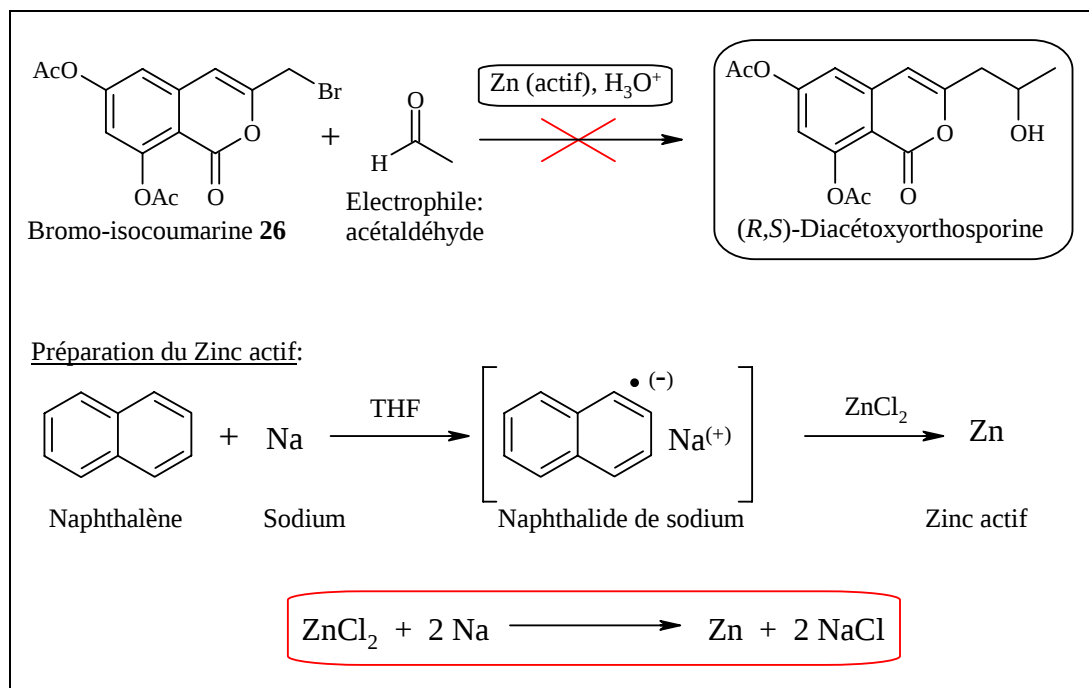


Schéma 53. Essai de synthèse de la (R,S)-orthosporine par la réaction de Réformatsky¹⁷⁴

5.3. Synthèse racémique de la (R,S)-orthosporine (38) :

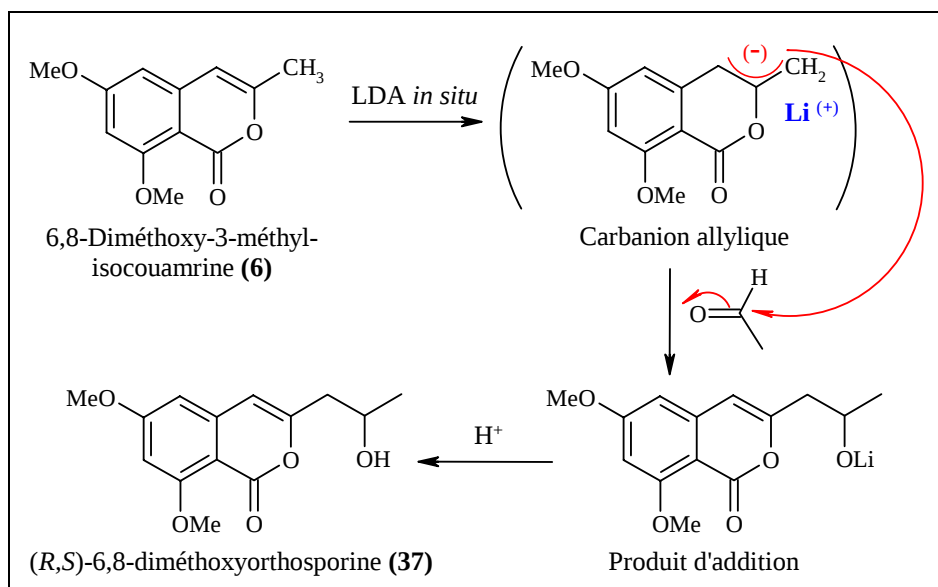
5.3.1. Préparation de la (R,S)-6,8-diméthoxyorthosporine (37) :

Suite à cette nouvelle déception, nous avons envisagé d'atteindre notre objectif par « déprotonation » du méthyle en position (3) et la génération d'un carbanion capable de réussir l'addition nucléophile sur l'acétaldéhyde (schéma 51 ; voie C).

Le choix de la base adéquate s'est porté sur la LDA ($pK_a \sim 36$). Ce choix nous a paru judicieux et prometteur d'une déprotonation sélective, car c'est uniquement le proton le plus acide qui sera consommé. Evidemment, la génération d'anions de telle puissance ne peut se faire que dans des températures voisinant les -78°C . Cette condition permet à la fois de prolonger la durée de demi vie de l'anion préformé, d'éviter des réactions secondaires possibles (polymérisation) et surtout d'abaisser l'énergie d'activation à travers laquelle les changements sont possibles. Par similitude, nous avons fait le rapprochement avec la préparation de l'acide homophthalique **4**^{32;35;114} (§ 3.4.2) pour nous inspirer du mode opératoire à suivre.

La synthèse de (R,S)-diméthoxyorthosporine (**37**), est alors accomplie par la génération du carbanion en position (3) stabilisé par l'apport électronique de la double liaison en position allylique, en présence de la lithiumdiisopropylamide (LDA ; 1.5 éq.) à -78°C , préparée *in situ* par action de la *n*-butyllithium sur la diisopropylamine dans du THF sec à 0°C . La suite, est une condensation suivant un mécanisme d'addition nucléophile sur le carbonyle de l'acétaldéhyde (1.2 éq.) à -78°C . Cette addition est accompagnée du virage de la couleur violette foncée de l'anion préformé en couleur brune de l'alcoolate du produit d'addition. Ce dernier, est immédiatement neutralisé à l'aide d'une solution aqueuse saturée de NH_4Cl , hydrolysé puis acidifié pour produire finalement le (R,S)-diméthoxyorthosporine (**37**) (schéma 54). Le rendement de cette nouvelle synthèse est de 60%.

En RMN ^1H (figures 32 et 33), nous enregistrons la disparition (confirmé aussi par le DEPT) du doublet de ($=\text{C}-\text{CH}_3$) à δ 2.16 remplacé par deux doublet de doublet de ($=\text{C}-\text{CH}_2-$) à δ 2.50 et 2.57 (système *ABX* : $J_{\text{BX}} = 4.4$ Hz, $J_{\text{AX}} = 8$ Hz, $J_{\text{AB}} = 14.4$ Hz) avec le ($\text{H}-\text{C}^*-\text{OH}$). Ce dernier montre un doublet de quadruplet de doublet à δ 4.25, vu son couplage additionnel ($J = 6.3$ Hz) avec le méthyle terminal ($\text{HO}-\text{C}-\text{CH}_3$).



1) LDA *in situ*, THF, 0°C 2) MeCHO, -78°C (60%).

Schéma 54. Synthèse de la (R,S)-6,8-diméthoxyorthosporine (37)

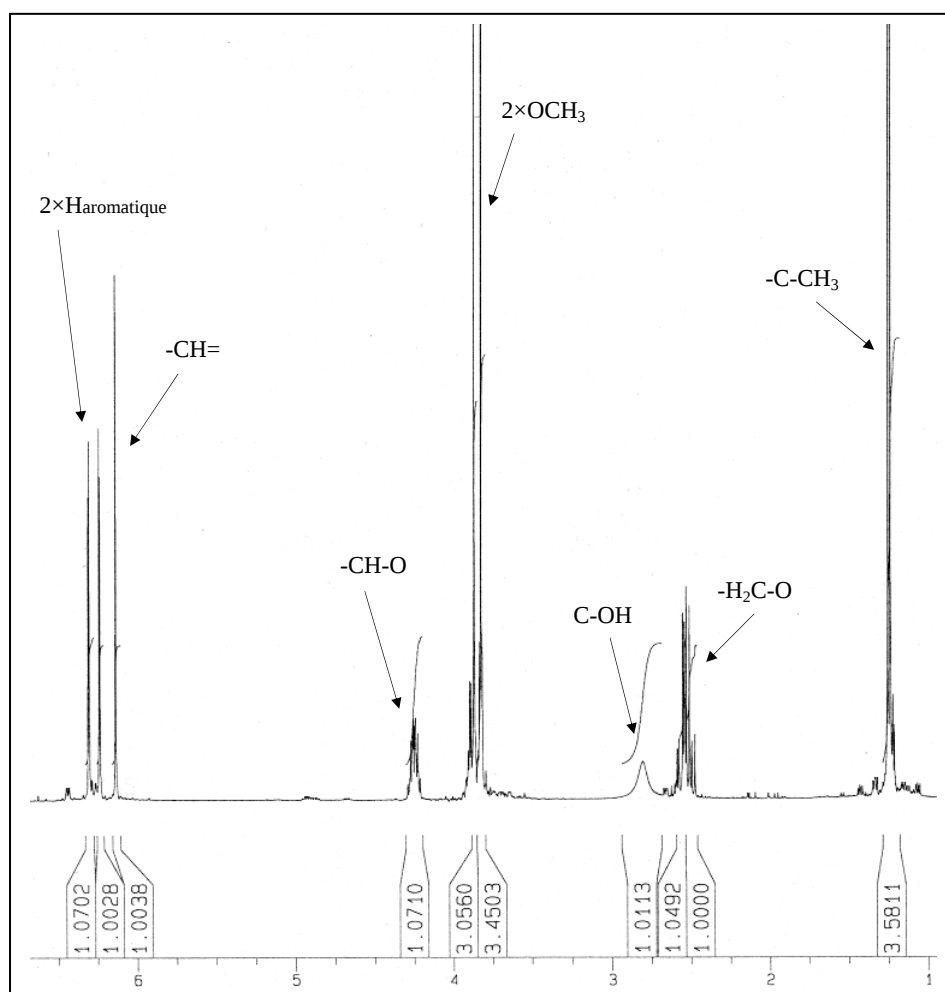


Figure 32. Spectre RMN ¹H (400MHz/CDCl₃) de l'isocoumarine 37

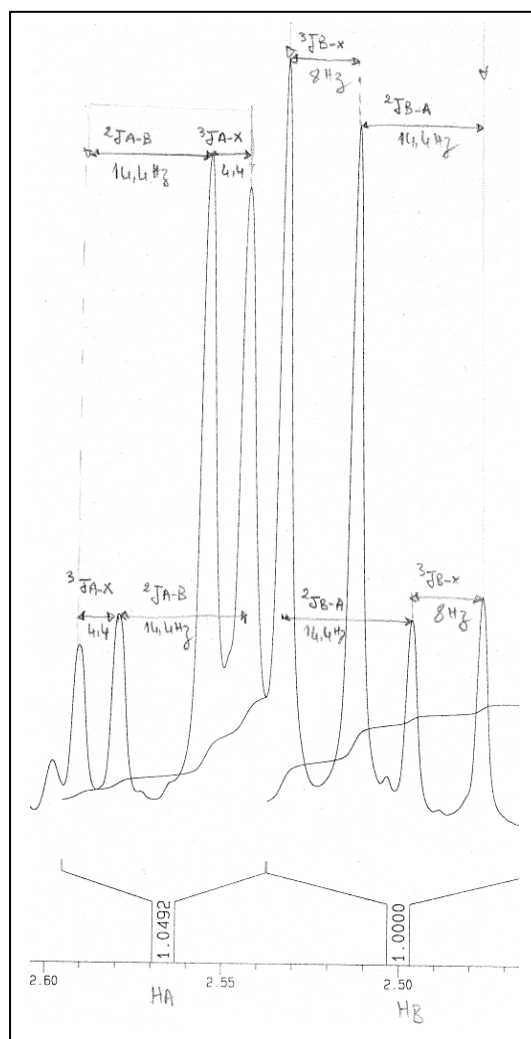


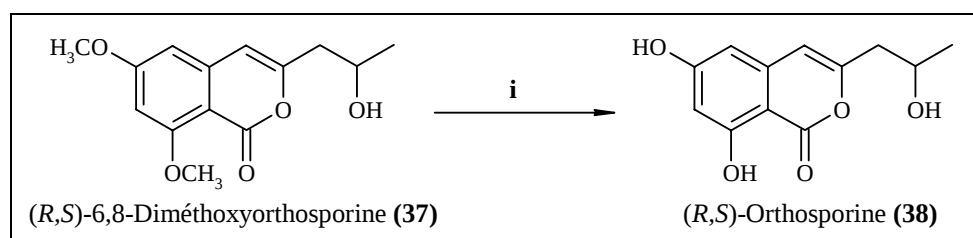
Figure 33. Spectre RMN ^1H (400MHz/ CDCl_3) de la (R,S)-6,8-diméthoxyorthosporine (37) : partie AB du système ABX

5.3.2. Préparation de la (R,S)-orthosporine (38) :

La déméthylation de la (R,S)-diméthoxyorthosporine (37) est effectuée par l'action du tribromoborane à -78°C . Le mélange est ensuite agité à température ambiante dans une étape lente (3 jours) avant de donner après hydrolyse la (R,S)-orthosporine (38).

Le tribromoborane est le réactif de choix¹³² pour le clivage complet des O-méthyléthers des produits naturels. Il est le plus efficace¹³³ pour le clivage des méthyléthers d'aryle.

Le rendement de cette étape est de 50% (schéma 55). En RMN ^1H (figure 34), nous enregistrons la disparition des deux singlets des $2\times(\text{OCH}_3)$ à δ 3.83 et 3.87 et l'apparition des deux singlets de OH(6) à δ 5.89 et celui de OH(8) à δ 11.06 fortement déblindé à cause de sa liaison d'hydrogène avec le carbonyle de la lactone.



i) BBr_3 , CH_2Cl_2 , $-78^{\circ}\text{C} \rightarrow \text{t}^{\circ}\text{a}$ (50%).

Schéma 55. Synthèse de la (R,S)-orthosporine (38)

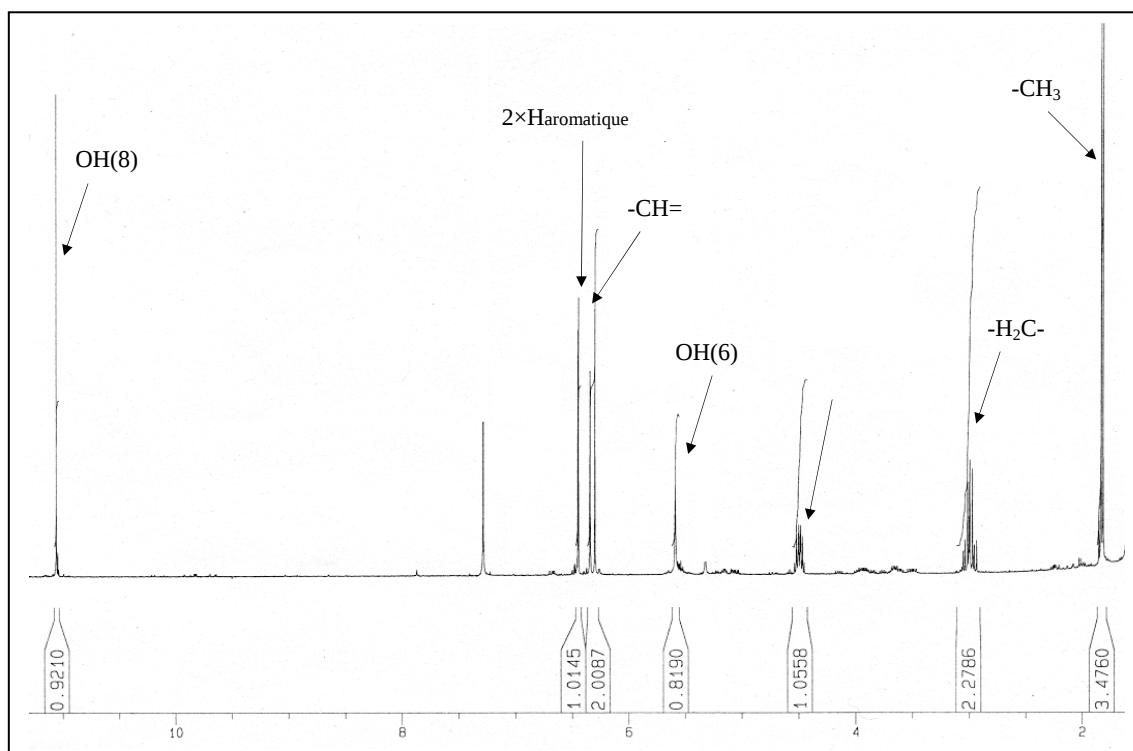


Figure 34. Spectre RMN ^1H (400MHz/ CDCl_3) de la (R,S)-orthosporine (38)

5.4. Conclusion :

A la fin de ce chapitre, nous avons préparé la (*R,S*)-orthosporine (**38**) par une fonctionnalisation adéquate de l'isocoumarine **6** (schéma 56). Nous avons atteint notre objectif par addition nucléophile du carbanion allylique, généré par action de la LDA à -78°C , sur l'acétaldéhyde qui fournit la (*R,S*)-diméthoxyorthosporine (**37**). La déméthylation de cette dernière par action du tribromoborane, produit la (*R,S*)-orthosporine (**38**).

Malgré les 6% du rendement global, cette nouvelle approche est sans doute la plus convaincante pour produire la (*R,S*)-orthosporine (**38**).

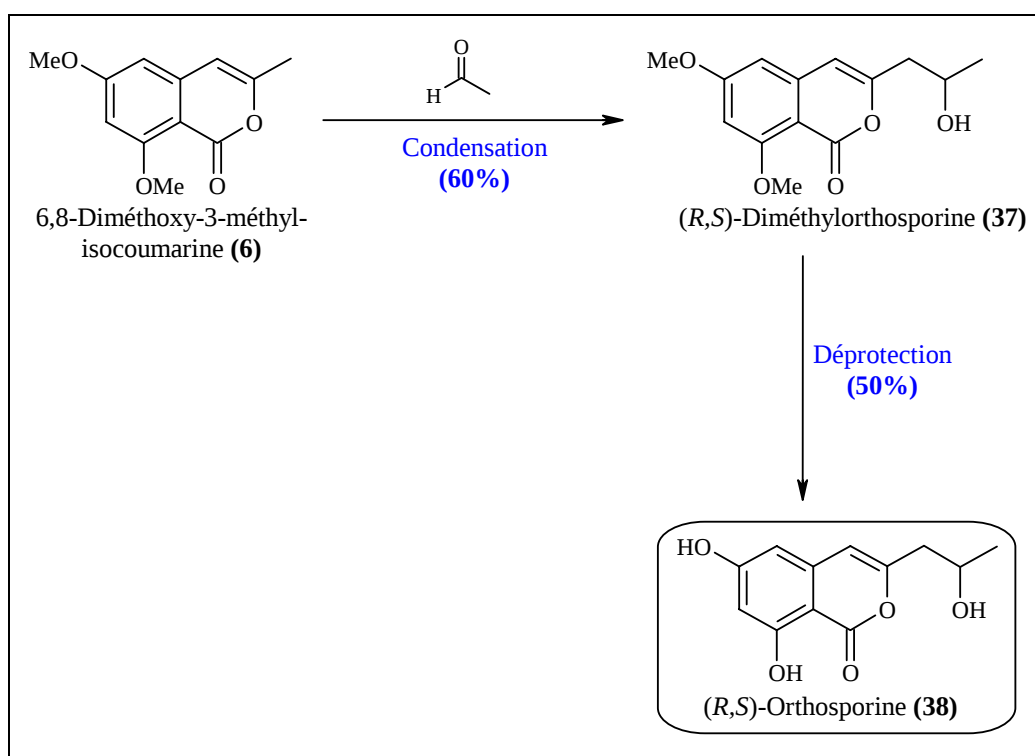


Schéma 56. Synthèse totale de la (*R,S*)-orthosporine (**38**)

CHAPITRE 6

Essais de synthèse de la 3-méthyl-3,5,8-trihydroxy-3,4-dihydroisocoumarine (55)

6.1. Résultats antérieurs :

La maladie hollandaise de l'orme ou graphiose, sévit depuis 1919 sur tous les continents. Cette maladie est causée par un champignon *Ophiostoma* (= *Ceratocystis*) *novo-ulmi*. L'importante virulence de la souche provoque la mort rapide de l'arbre. Les symptômes principaux sont l'apparition d'une épinastie et d'une intense gommose à l'intérieur des vaisseaux du xylème.

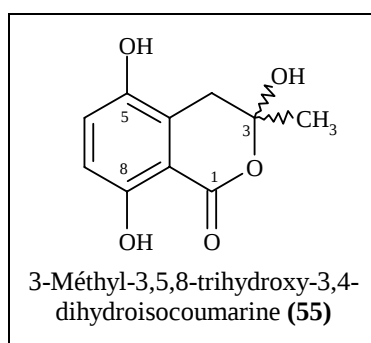


Figure 35. La 3,4-dihydroisocoumarine 55 isolée de *Ophiostoma novo-ulmi*

Dans notre laboratoire⁶, l'étude des cultures de l'agent pathogène sur milieu liquide a permis d'isoler et d'identifier seize métabolites secondaires. Parmi ces métabolites, un nouveau produit naturel jamais été identifié auparavant : la 3-méthyl-3,5,8-trihydroxy-3,4-dihydroisocoumarine (55) (figure 35).

Ce nouveau produit, a été décelé dans l'extrait de bois malade. Quantitativement, il est présent sous forme de traces. La toxicité de ce métabolite est envisageable, sachant que l'activité n'est

pas forcément proportionnelle à la concentration, il a été donc classé⁶ dans la famille des composés toxiques.

Pour identifier la structure de ce métabolite, des recherches bibliographiques ont été effectuées par Michel⁶ sur quatre molécules de structure similaire (A¹⁷⁷, B¹⁷⁸, C¹⁷⁸, D¹⁷⁹ : figure 36 ; tableau 9). La comparaison des données spectroscopiques a permis de déterminer la structure de ce nouveau métabolite mais pas la stéréochimie du carbone C(3). Cependant, d'après la littérature, dans la grande majorité des structures similaires au composé 55, la configuration absolue du C(3) est **R**. Par similitude, il a été envisagé qu'il en est de même pour cette 3,4-dihydroisocoumarine.

La 3-méthyl-3,5,8-trihydroxy-3,4-dihydroisocoumarine (**55**) est une nouvelle molécule. Sa synthèse nous permettra de confirmer la structure proposée par Michel⁶ et de déterminer sa configuration absolue. Puisqu'elle a été détectée uniquement dans le bois malade, sa synthèse en quantité suffisante permettrait également d'évaluer sa toxicité par des tests biologiques.

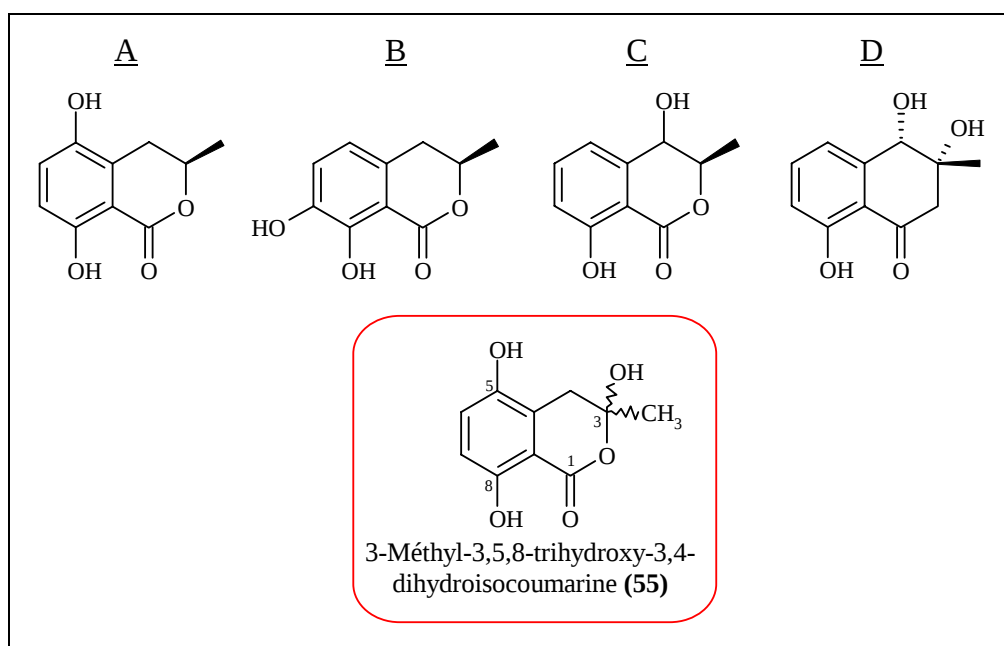


Figure 36. Models de références pour la résolution de la structure du métabolite 55

Tableau 9. RMN ^1H des modèles de références pour la résolution de la structure du métabolite 55

δ (ppm)/ J (Hz)	A ¹⁷⁷	B ¹⁷⁸	C ¹⁷⁸	D ¹⁷⁹	Produit 55
H-C(2)				3 et 2.80 ($J = 17.1$)	
H-C(3)	4.70 (<i>m</i>)	4.75 (<i>sex</i> , $J = 6$)	4.56 (<i>dd</i> , $J = 6, 2$)		
H-C(4)	3.05 et 2.55 (<i>dd</i>)	2.90 (<i>d</i> , $J = 6$)	4.50 (<i>d</i> , $J = 2$)	4.76	3.05 et 3.20 (<i>2d</i> , $J_{AB} = J_{BA} = 16.2$)
H-C(5)		7.10 (<i>d</i> , $J = 8$)	6.95 (<i>d</i> , $J = 4$)	7.10	
H-C(6)	6.65 (<i>d</i> , $J = 9$)	6.60 (<i>d</i> , $J = 8$)	7.52 (<i>dd</i> , $J = 4, 3.5$)	7.52	6.80 (<i>d</i> , $J = 8.5$)
H-C(7)	7.03 (<i>d</i> , $J = 9$)		6.88 (<i>d</i> , $J = 3.5$)	6.93	7.16 (<i>d</i> , $J = 8.5$)
Me-C(3)	1.38 (<i>d</i>)	1.60 (<i>d</i> , $J = 6$)	1.55 (<i>d</i> , $J = 6$)	1.30	2.05 (<i>t</i> , $J = 2.9$)
HO-C(8)					11.15

6.2. Schéma rétrosynthétique :

Au début, nous nous sommes inspirés de la littérature^{121;180-182} pour une synthèse asymétrique de la 3,4-dihydroisocoumarine 55 (schéma 57 ; Rétro1). Selon Napolitano¹⁸², la synthèse énantiosélective des 3-alkyl-3,4-dihydroisocoumarines passe nécessairement par les étapes suivantes (schéma 58) : (a) une *ortho*-métallation favorisée par le groupe alkyle β -fonctionnalisé suivie d'une carbonylation régiosélective; (b) la construction énantiosélective du dérivé phényléthyl-alcool est accomplie par l'addition du dérivé organométallique, préparé *via* un échange halogène-métal entre le dérivé bromobenzène et le butyllithium, sur l'époxyde approprié; (c) l'introduction de la chiralité désirée en position C(3), est liée aux méthodes d'oxydation asymétrique des oléfines développées par Sharpless¹⁸³⁻¹⁸⁵.

Malheureusement, l'applicabilité des méthodes de Sharpless, pour la dihydroxylation ou l'époxydation asymétrique (schéma 59), s'est avérée irréalisable pour la simple raison que le modèle d'oléfines défini par Sharpless, ne concerne pas les énol-éthers ou d'esters qui nous sont indispensables pour l'élaboration énantiosélective d'époxydes oxy-substitués (schéma 57 ; Rétro1 ; voie A).

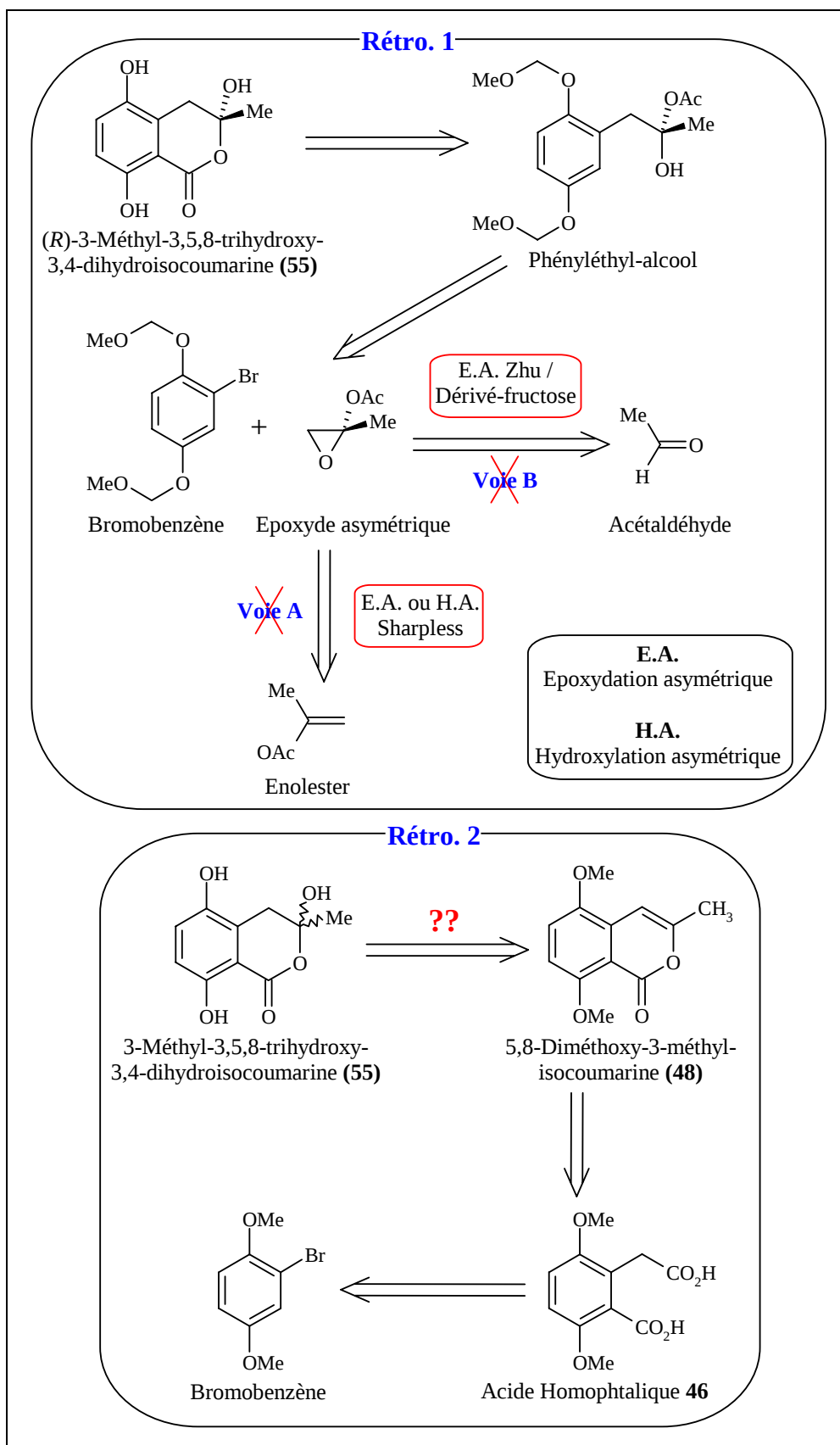


Schéma 57. Rétrosynthèses 1 et 2 de la 3,4-dihydroisocoumarine 55

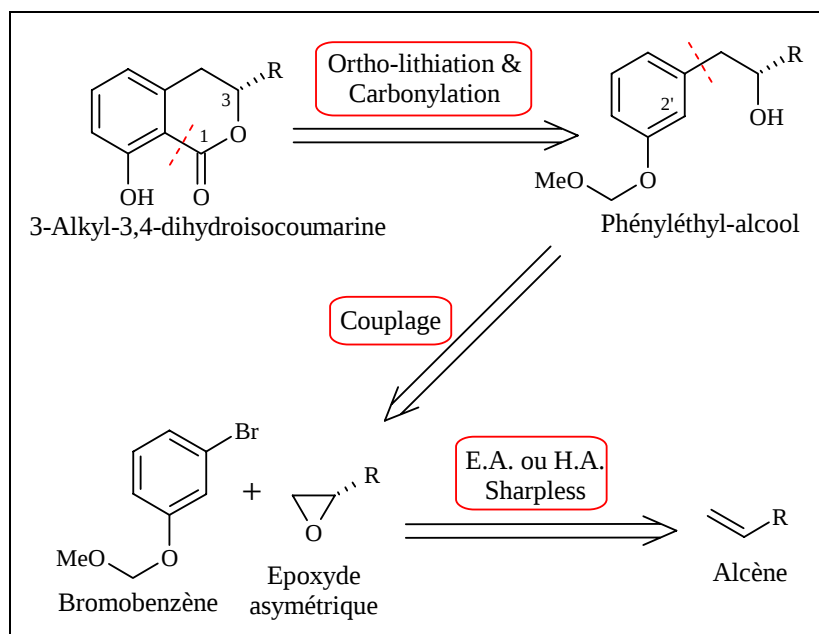


Schéma 58. Rétrosynthèse énantiosélective des 3-alkyl-3,4-dihydroisocoumarines, proposée par Napolitano

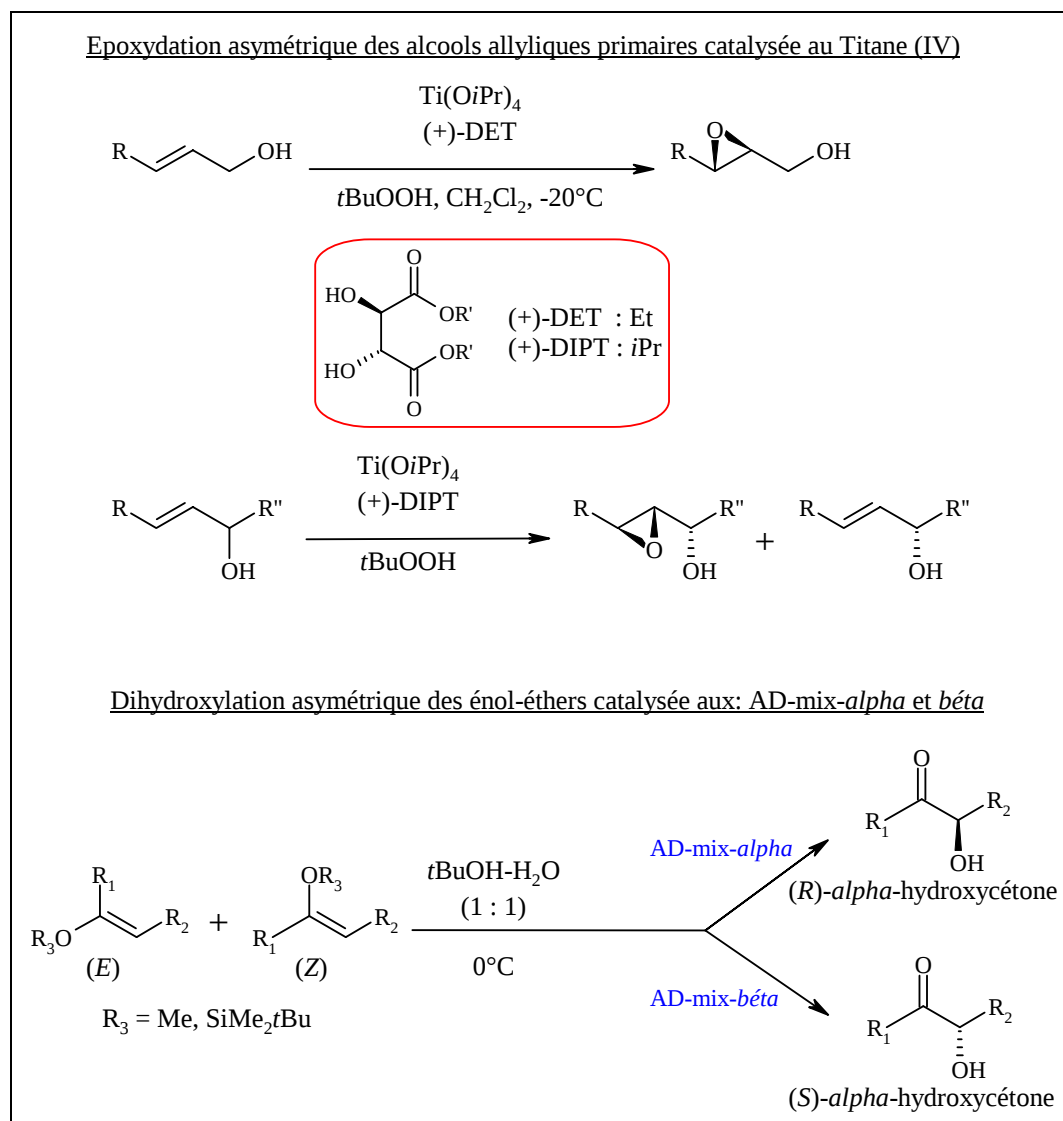


Schéma 59. Epoxydation¹⁸⁵ et Dihydroxylation¹⁸⁴ asymétrique des alcènes oxygénés selon Sharpless

Zhu et al.^{186;187} ont réussi la synthèse énantiosélective d'époxydes oxy-substitués via l'époxydation asymétrique de dérivés éno-éthers et esters (schéma 60 ; A). Cette approche basée sur l'utilisation du dérivé cétonique du D-fructose comme catalyseur et l'Oxone[®] comme agent d'oxydation^{188;189}, était utilisée dans un premier temps pour l'époxydation asymétrique des oléfines *trans*- et trisubstitués¹⁸⁸ avant de devenir une méthode de plus en plus générale. L'application de cette méthode dans l'époxydation des vinylsilanes 2,2-disubstitués s'est avéré fortement énantiosélective¹⁹⁰, elle a permis la préparation de α,β -époxydes 2,2-disubstitués. La désilylation de ces derniers a conduit sans perte d'énantiosélectivité aux époxydes 1,1-disubstitués équivalents (schéma 60 ; B).

La présence du groupement silyle permet, par son effet stérique, d'augmenter l'énantiosélectivité en défavorisant le compétitif état de transition planaire. Il garantit également la stabilité de l'époxyde en contrôlant toute possibilité d'ouverture du cycle.

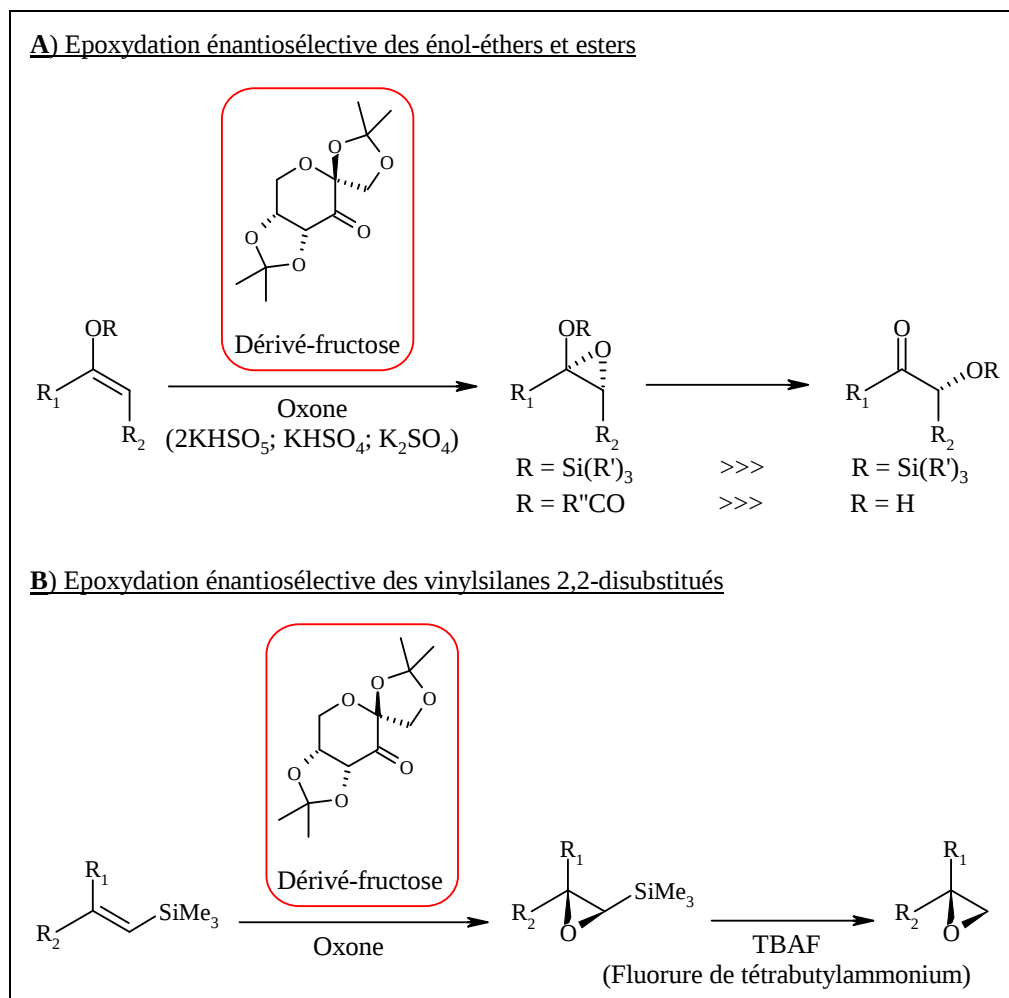


Schéma 60. Epoxydation asymétrique des alcènes oxygénés¹⁸⁶ et tri-substitués¹⁹⁰ selon Zhu

Dans cette logique, nous avons conçu un schéma réactionnel (schéma 61) qui nous paraissait cohérent avec les éléments indispensables de réussite cités précédemment. Pour la synthèse de l'alcène correspondant au modèle d'époxydation de Zhu. Nous avons essayé de combiner deux méthodes rapportées par Concellon¹⁹¹ (schéma 62) et Barluenga¹⁹² (schéma 63) pour produire cet l'alcène.

Le chlorotriméthylsilylméthyl-lithium préparé *in situ* par action de la butyllithium sur du (chlorométhyl)triméthylsilane en présence de la TMEDA à -78°C, permet la conversion de l'acétaldéhyde en chlorotriméthylsilyl-alcool équivalent. Ce dernier conduit après l'acétylation avec de l'anhydride acétique à l'acétate de chlorotriméthylsilylpropanyl correspondant.

L'étape cruciale qui aurait permis l'obtention de l'oxyvinylsilane par élimination de HCl sur le dérivé acétylé précédent, n'a malheureusement pas eu lieu probablement en raison du chlore qui n'est pas manifestement assez bon partant. Barluenga¹⁹² (schéma 63) a plutôt utilisé un dérivé iodé. Cette tentative a cependant aussi échouée, certainement à cause de l'instabilité de l'iode dans l'environnement électronique et spatial imposé dans la molécule désirée.

Devant la complexité de la tâche et la contrainte de temps, nous nous sommes limités à une synthèse racémique de la dihydroisocoumarine 55 suivie d'une résolution optique adéquate de ces deux énantiomères (schéma 57 ; Rétro-2).

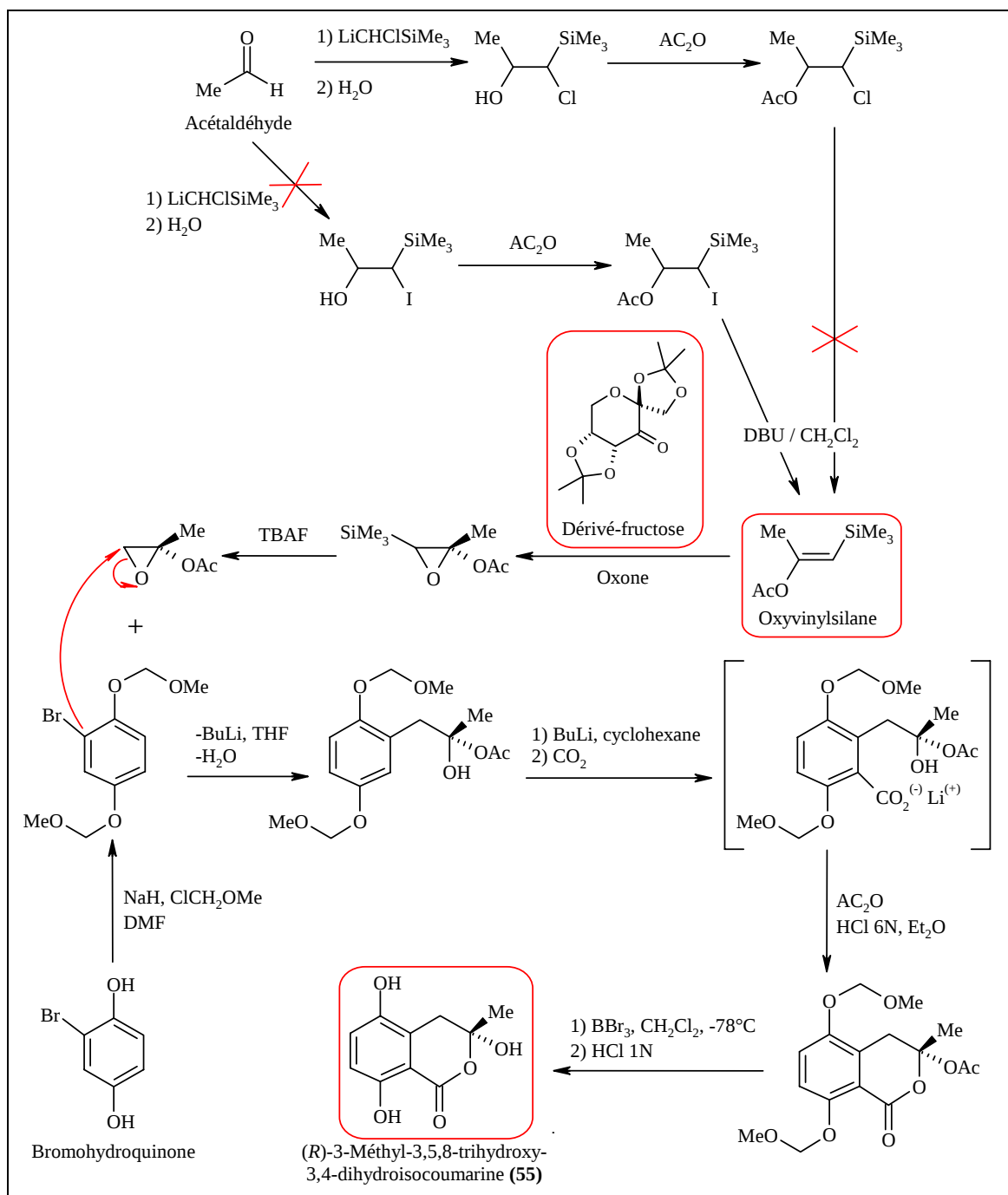
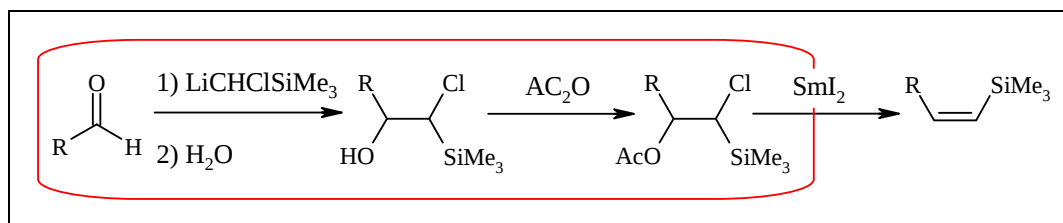


Schéma 61. Essais de synthèse asymétrique du composé 55


 Schéma 62. Synthèse des (Z)-vinylsilanes par Concellon et *al.*¹⁹¹

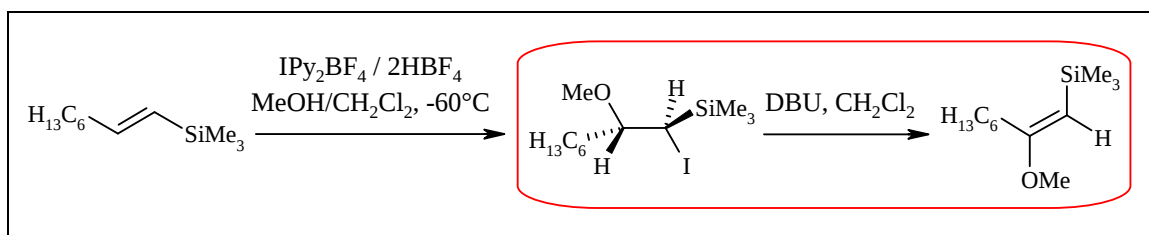


Schéma 63. Synthèse des énoles-éthers trisubstitués par Barluenga et al.¹⁹²

6.3. Essais d'une synthèse racémique de la 3,4-dihydroisocoumarine (55) :

L'expérience des synthèses précédentes nous avons montrée que les stratégies de synthèse basées sur l'apport de modifications à une structure stable préalablement existante, sont plus prometteuses que celles visant une synthèse totale des isocoumarines désirés (§ 4 et 5). Dans cette optique, nous avons pensé à la synthèse du composé 55 via son analogue isocoumarine 48 selon le schéma rétrosynthétique (schémas 64 et 65).

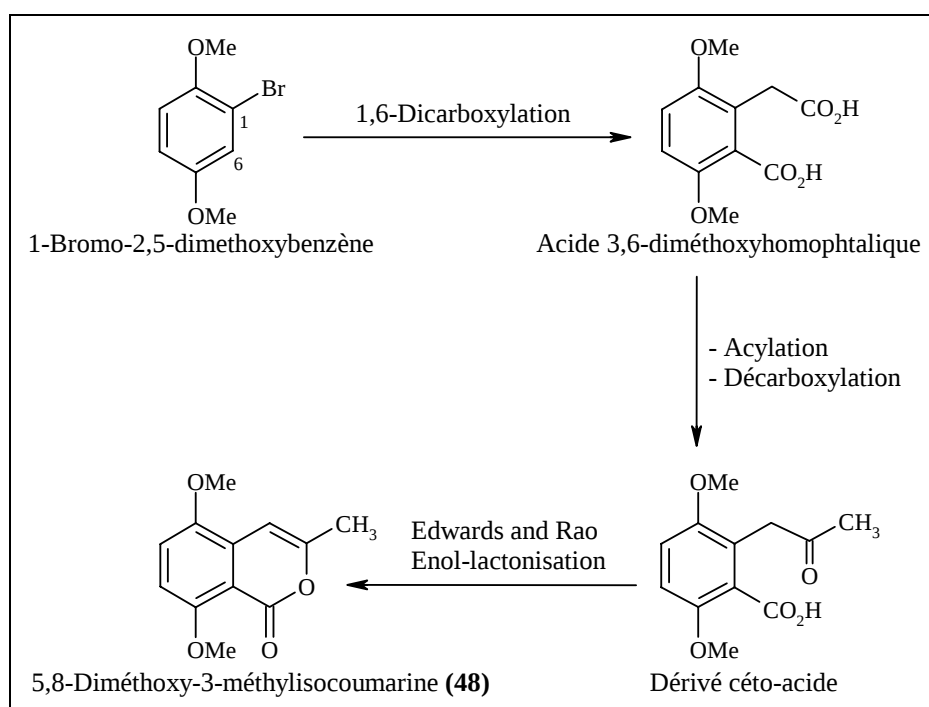


Schéma 64. Synthèse de l'isocoumarine 48

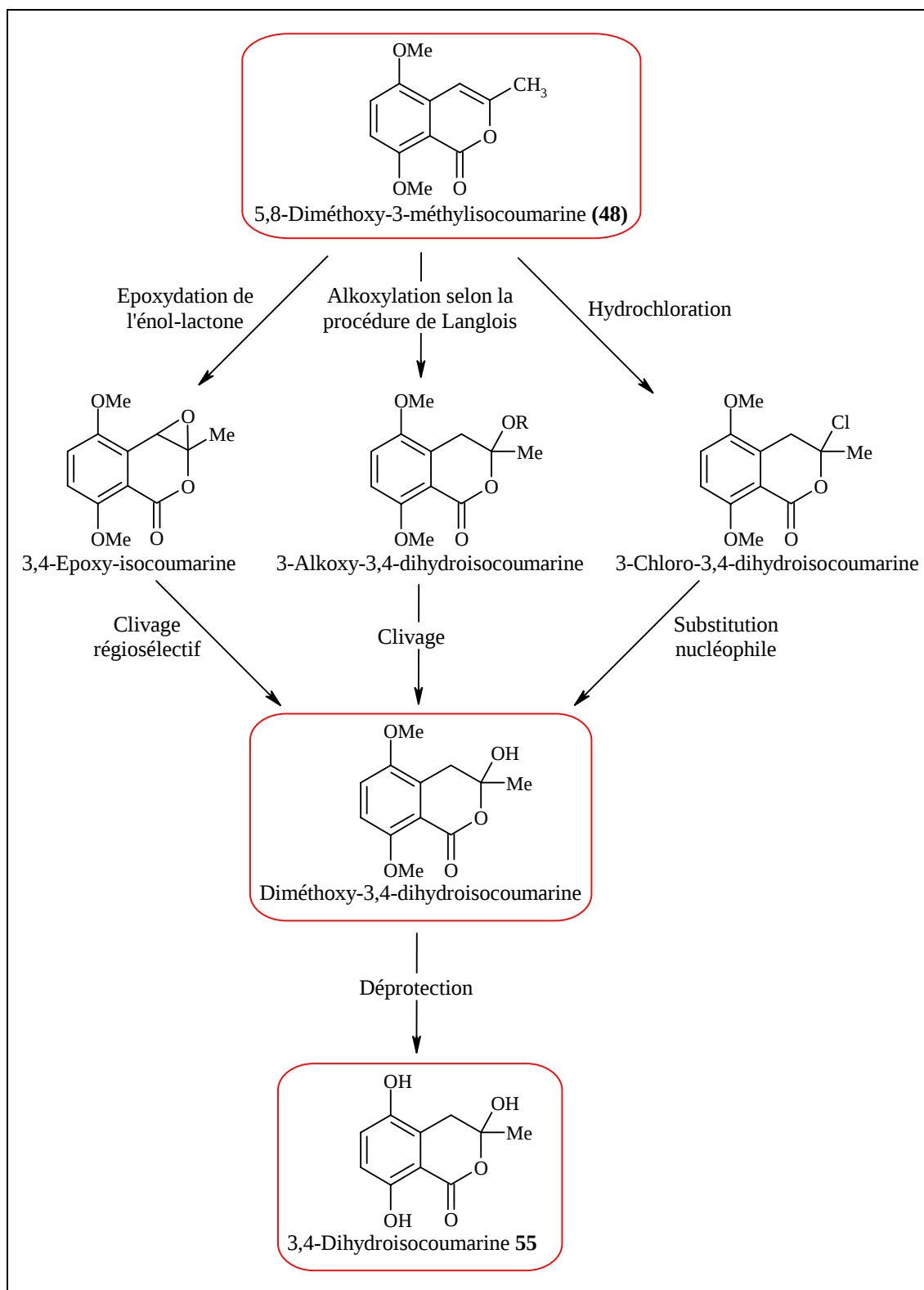


Schéma 65. Essais de synthèse de la 3,4-dihydroisocoumarines 55 à partir de l'isocoumarine 48

6.3.1. Essais *via* la synthèse de la 5,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (48) :

Pour la préparation de l'isocoumarine **48** (schéma 64), nous nous sommes référés à l'approche qui nous a bien réussis dans la synthèse de l'analogue 6,8-diméthoxyisocoumarine (**6**) (§ 3.6.1). Cette synthèse nécessite le passage par ces intermédiaires : un dérivé d'acide homophthalique convertible en dérivé cétoacide ou en lactol cyclique hémiacétalique correspondant, comme cela a été le cas précédemment (§ 3.5).

6.3.1.1. Préparation de l'acide 3,6-diméthoxyhomophthalique (46) :

Contrairement à la synthèse antérieure (§ 3.4.2), nous avons adopté une méthode plus courte qui permet l'accès, en deux étapes, à l'acide homophthalique **46** (schéma 66). Dans cette réaction, la condensation du bromobenzène avec l'anion diméthylmalonate généré par action du tétraméthylpipéridide de lithium préparé *in situ* à basse température¹⁹³, nous a permis d'isoler facilement l'ester homophthalique **45**. Vraisemblablement, l'interception de l'intermédiaire benzyne préformé par l'anion malonate est la seule explication plausible¹⁹⁴.

Bien que des transformations similaires ont été précédemment décrites avec des rendements allant de 10%¹⁹³ à 71%¹⁹⁴ pour l'analogue méthoxyméthylé (MOM), nous n'avons pas pu dépassé les 25% en suivant le protocole optimisé par Shair et *al.*¹⁹⁴ pour cette préparation inédite de l'homophthalate **45**. Inévitablement, la réaction désirée a été accompagnée de la formation de nombreux produits secondaires dont majoritairement le produit de la condensation directe entre le bromobenzène et le tétraméthylpipéridine (HTMPA) (schéma 66) (figures 37 et 38 ; tableau 10a).

Cependant, des améliorations récemment rapportées par Kita et *al.*¹⁹⁵ (tableau 11), nous ont permis d'augmenter notre rendement à 42%.

La suite de la synthèse est une hydrolyse basique de l'ester **45** en acide homophthalique **46**, le rendement est de 99%.

En RMN ¹H, la présence du singulet de (CH₂) à δ 3.70 (confirmée par le DEPT), de deux singulets 2×(OCH₃) à δ 3.79 et 3.80 et des deux doublets 2×(H_{aromatique}) à δ 6.96 et 7.02 confirme l'obtention de la bonne molécule.

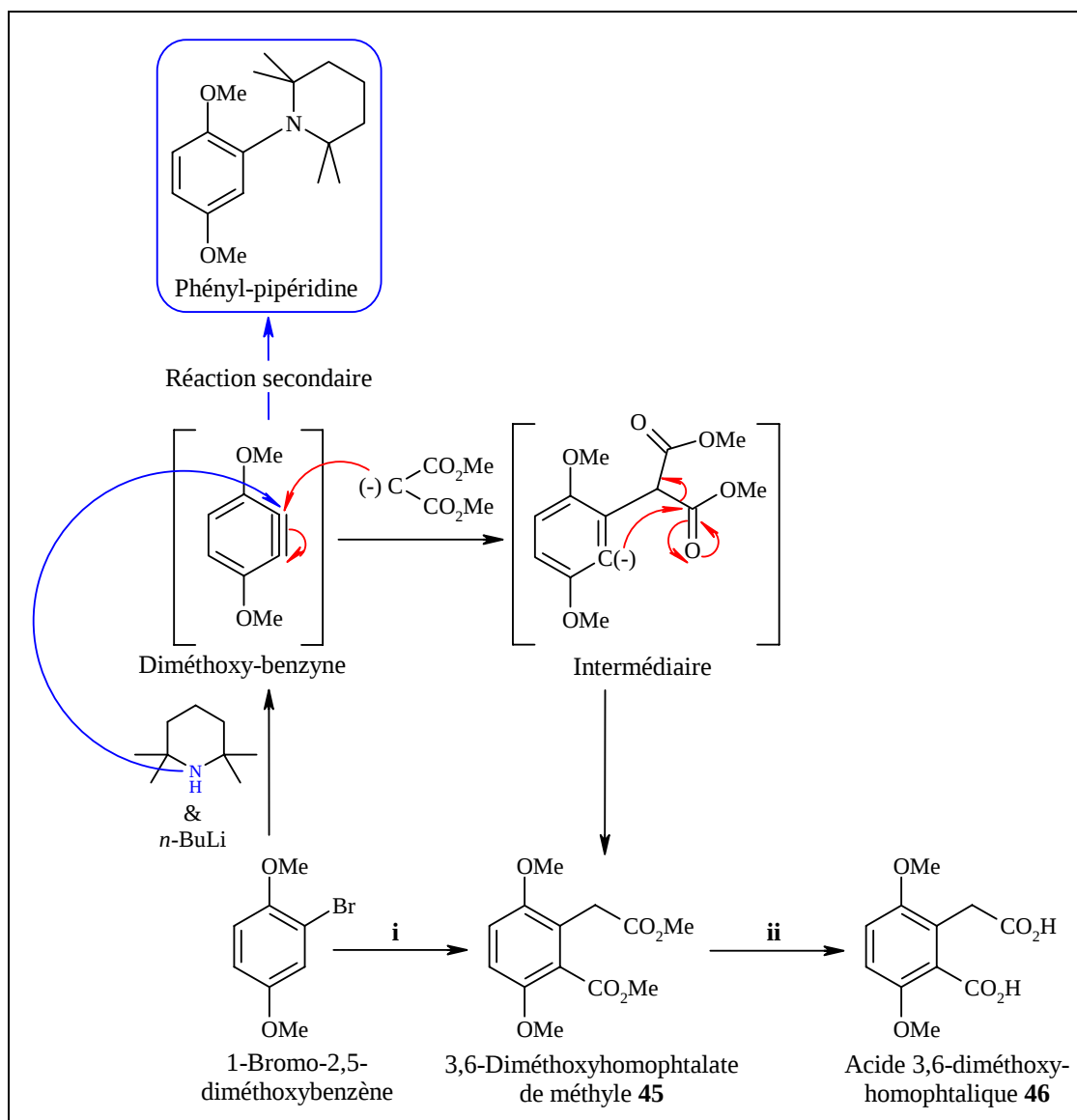


Schéma 66. Synthèse de l'acide homophtalique 46

L'étude de la structure aux rayons X de la phényl-pipéridine montre que l'arrangement du sel organique moléculaire dans la structure de la couche cristalline est dirigé par des liaisons hydrogène intermoléculaires $C-H \cdots O-C$ entre le méthyle (C8) et l'oxygène (O2) du phényl-méthyléther (figure 38). Ces liaisons hydrogène permettent d'unir les unités liées par les opérations de symétrie et conduire à la formation d'une structure stable (tableau 10b).

Tableau 10b. Liaisons hydrogène de la phényl-pipéridine

Liaison Hydrogène	D-H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	D-H...A (Å)	Opération de symétrie
C8-H8...O2 ⁱ	1.03(2)	2.47(2)	3.492(3)	174.3(17)	ⁱ) $x, 1/2-y, 1/2+z$

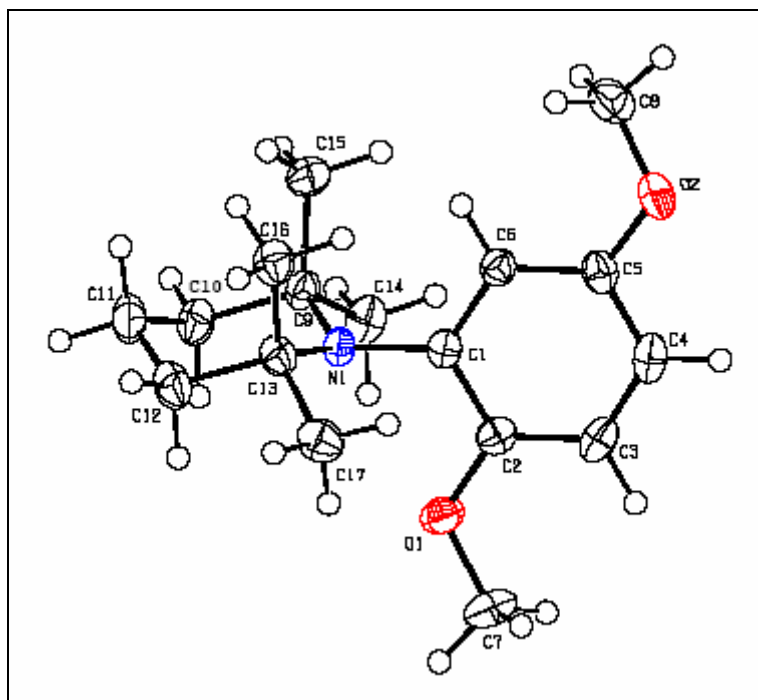


Figure 37. Structure Rayon X du produit secondaire le phénylpipéridine

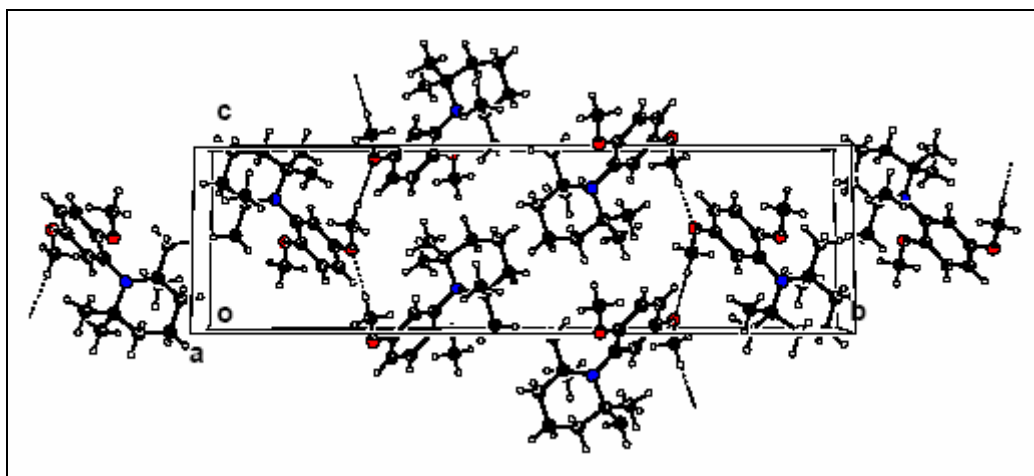


Figure 38. Structure Rayon X *packing* du produit secondaire le phénylpipéridine

Tableau 10a. Paramètres cristallographiques du produit secondaire le phénylpipéridine

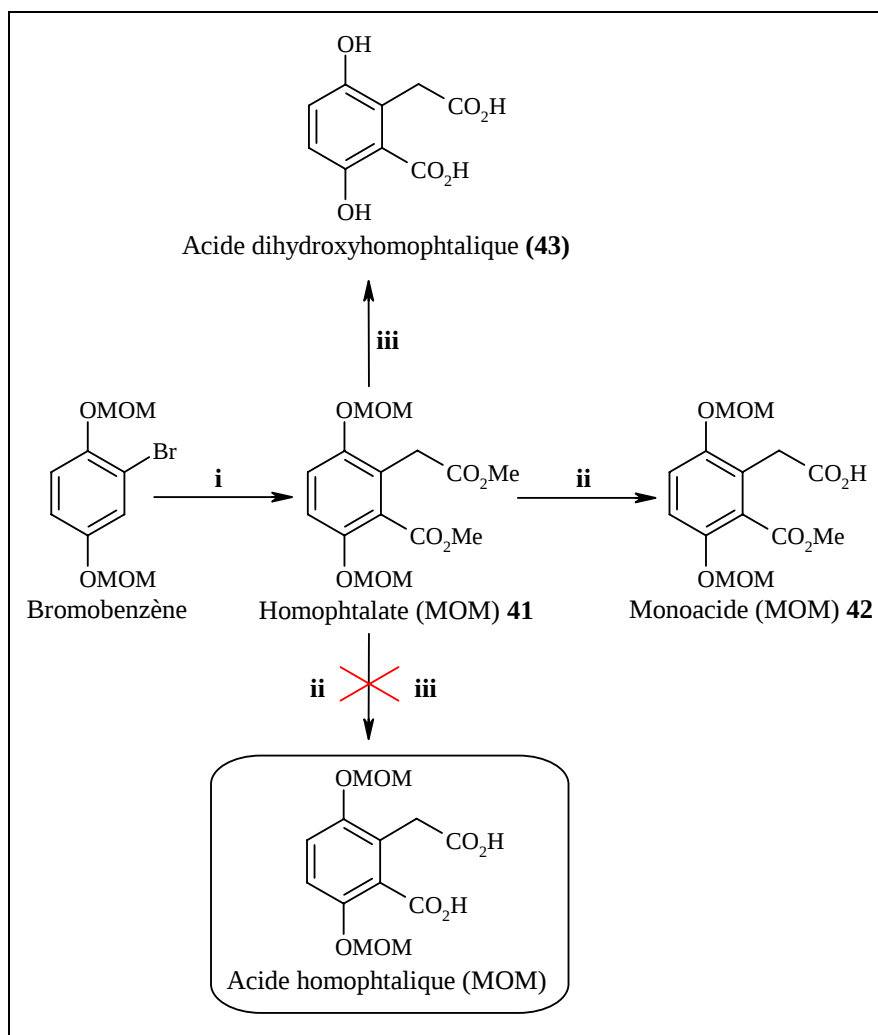
Formule empirique	C ₁₇ H ₂₇ NO ₂
Masse molaire	277.40
Forme du cristal	Tige
Couleur du cristal	Incolore
Dimensions du cristal [mm]	0.40 x 0.10 x 0.10
Système cristallin	Monoclinique
Taille de la maille	
<i>a, b, c</i> [Å]	6.8817(10), 28.249(4), 8.1369(13)
<i>α, β, γ</i> [°]	90, 99.649(12), 90
<i>V</i> [Å ³]	1559.4(4)
Groupe spatial	P 2 ₁ /c
<i>Z</i>	4
<i>D</i> _{calc} [g.cm ⁻³]	1.182
Radiation utilisée	Mok\α
Longueur d'onde [Å]	0.71073
Coefficient d'absorption molaire [mm ⁻¹]	0.076
Température [K]	173(2)
Paramètres affinage cellule	
Réflexions	4940
Angle moyen	1.44 < θ < 25.46
Solvant de recristallisation	Chloroforme

Tableau 11. Variation du rendement de synthèse de l'homophthalate 45 en fonction des nombres d'équivalents des réactifs

Nombre d'équivalents de HTMP	Nombre d'équivalents de <i>n</i> -BuLi (2.5 M)	Nombre d'équivalents de CH ₂ (CO ₂ Me) ₂	Rendement
2.45	2.4	1.2	25%
1.5	3	2	42%

Dans un premier temps, nous avons préparé l'analogue méthoxyméthylé (MOM) de l'homophthalate **45** en reproduisant le protocole de Shair¹⁹⁴. Le diester **41** est obtenu avec une amélioration considérable du rendement de la référence de 71%¹⁹⁴ à 93% (schéma 67). Cependant la saponification de ce dernier n'a pas conduit à l'acide homophthalique (MOM) attendu (schéma 67). Les essais effectués (tableaux 12 et 13) ont permis seulement de récupérer les acides **42** (figure 39 ; tableau 14) et **43**.

En conclusion, le groupement (MOM) est soit stable dans des conditions douces mais pas suffisantes pour saponifier les deux fonctions esters, soit instable dans des conditions dures mais qui sont tout à fait adéquates pour cliver les deux fonctions esters.



i) $\{\text{LiCH}(\text{CO}_2\text{Me})_2, \text{LiTMP}\}$ *in situ*, THF, -78°C (93%) **ii)** «Tableau 12» **iii)** «Tableau 13».

Schéma 67. Saponification de l'homophthalate 41

Tableau 12. Paramètres influençant l'obtention du monoacide 42

Nombre d'équivalent de KOH	Solvant	Température	Temps de réaction	Rendement
2.5	MeOH/H ₂ O:2/1	reflux	30 minutes	65%
2.5	MeOH/H ₂ O:2/1	reflux	2 heures	77%
10	MeOH/H ₂ O:2/1	reflux	2 heures	53%
20	MeOH/H ₂ O:2/1	25°C	Toute la nuit	81%
-	NaOH 10%	60°C	30 minutes	71%
20	THF/H ₂ O:2/1	reflux	30 minutes	25%

Tableau 13. Paramètres influençant l'obtention de l'acide homophthalique 43

Nombre d'équivalent de KOH	Solvant	Température	Temps de réaction	Rendement
20	MeOH/H ₂ O:2/1	reflux	2 heures	61%
20	MeOH/H ₂ O:2/1	reflux	30 minutes	82%
20	MeOH/H ₂ O:2/1	reflux	15 minutes	56%
6	EtOH/H ₂ O:3/1	reflux	Toute la nuit	85%

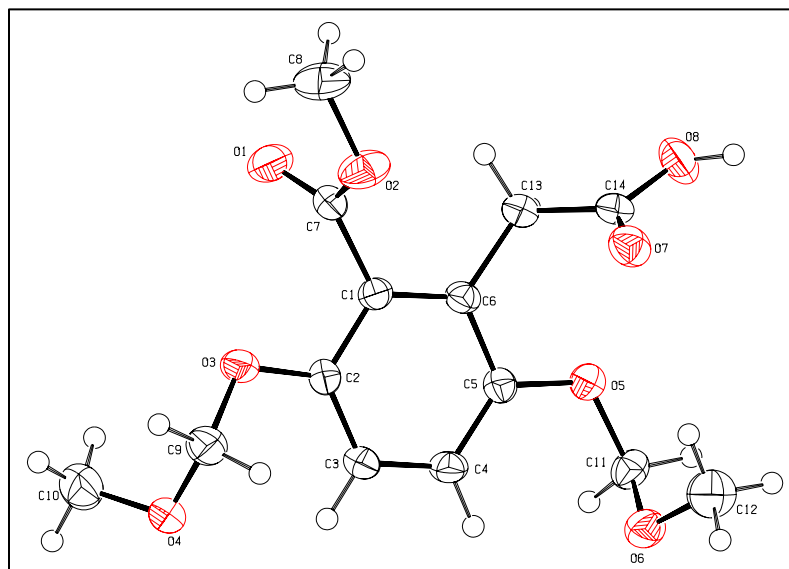

Figure 39. Structure Rayon X du monoacide 42

Tableau 14. Paramètres cristallographiques du monoacide 42

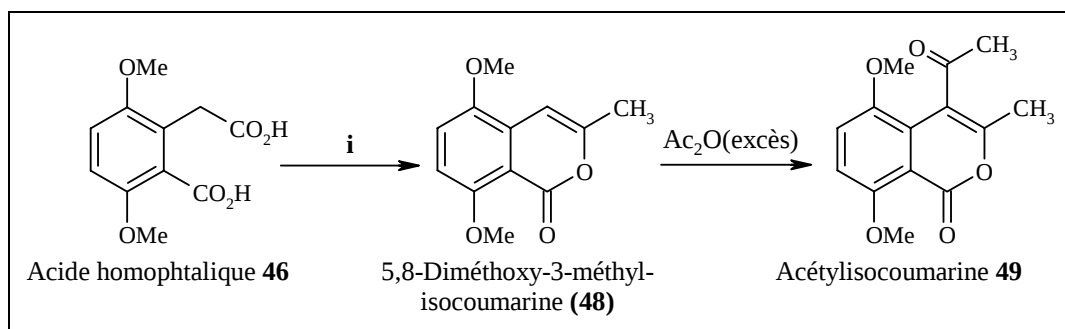
Formule empirique	C ₁₄ H ₁₈ O ₈
Masse molaire	314.28
Forme du cristal	Bloc
Couleur du cristal	Incolore
Dimensions du cristal [mm]	0.30 x 0.30 x 0.20
Système cristallin	Triclinique
Taille de la maille	
a, b, c [Å]	8.5628(12), 9.6623(13), 9.9767(12)
α, β, γ [°]	112.534(14), 94.744(15), 97.999(16)
V [Å ³]	746.60(17)
Groupe spatial	P ₋₁
Z	2
D_{calc} [g.cm ⁻³]	1.398
Radiation utilisée	Mok α
Longueur d'onde [Å]	0.71073
Coefficient d'absorption molaire [mm ⁻¹]	0.116
Température [K]	173(2)
Paramètres affinage cellule	
Réflexions	3063
Angle moyen	2.15 < θ < 25.75
Solvant de recristallisation	Acétone

6.3.1.2. Préparation de la 5,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (48) :

La suite de notre chemin réactionnel (schéma 64) est la synthèse du dérivé cétoacide (ou lactol) équivalent (§ 3.5).

Nous rapportons dans ce travail, la synthèse de l'isocoumarine **48** jamais préparé auparavant, en s'appuyant sur la méthode rapportée par Slate et *al.*³⁷ et optimisée ultérieurement par Lewis et *al.*³⁹ et Kim et *al.*¹¹⁵.

Le traitement de l'acide homophthalique **46** avec de l'anhydride acétique en présence de la pyridine n'a pas conduit au cétoacide (ou lactol) attendu, mais directement à l'isocoumarine **48**. Les analyses en RMN des produits détectés dans le milieu réactionnel, ont montré l'obtention directe de la 5,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (**48**) et du dérivé acétylé **49** à côté du produit de départ n'ayant pas réagi (schéma 68 ; tableau 15).



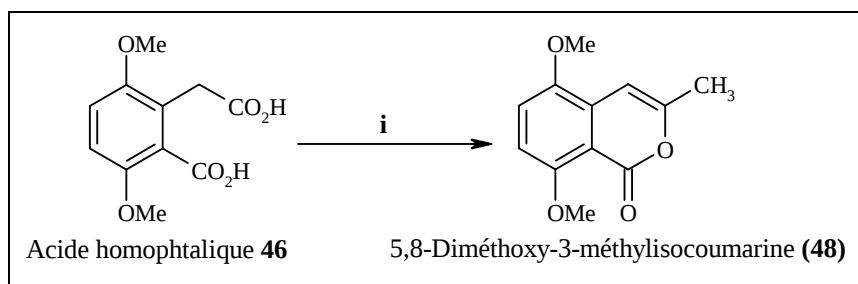
i) Ac_2O , Pyr, Et_2O , $t^\circ\text{a}$ «Tableau 15».

Schéma 68. Synthèse des isocoumarines 48 et 49

Tableau 15. Paramètres influençant l'obtention des isocoumarines 48 et 49

Nombre d'équivalent de Pyridine	Nombre d'équivalent de Ac_2O	Rendement 48	Rendement 49
2.4	11.6	5%	28%
1.5	5	19%	23%
2	2	40%	-

L'optimisation des conditions réactionnelles par : 1) la réduction du nombre d'équivalents (2 équ.) de l'anhydride acétique et 2) l'utilisation d'une base plus forte comme la triéthylamine (3 équ.) ($\text{pK}_a \sim 10 > \text{pK}_a(\text{Pyr}) \sim 5.2$), s'est avérée payante avec un rendement de 57% (schéma 69).



i) Ac_2O , Et_3N , Et_2O , $t^\circ\text{a}$ (57%).

Schéma 69. Synthèse inédite de l'isocoumarine 48

En RMN ^1H (figure 40), nous enregistrons la présence du doublet de ($=\text{C}-\text{CH}_3$) à δ 2.26 et du quadruplet de ($=\text{CH}-$) à δ 6.58 avec une constante de couplage identique $^4J = 1.0$ Hz qui confirme leur positionnement ($\text{H}-\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3$), puis les deux singulets des $2\times(\text{OCH}_3)$ à δ 3.87 et 3.95 et finalement, les deux doublets des $2\times(\text{H}_{\text{aromatique}})$ à δ 6.82 et 7.09 avec une constante de couplage identique de $J_o = 9.0$ Hz qui vérifie leur position réciproque en *ortho*.

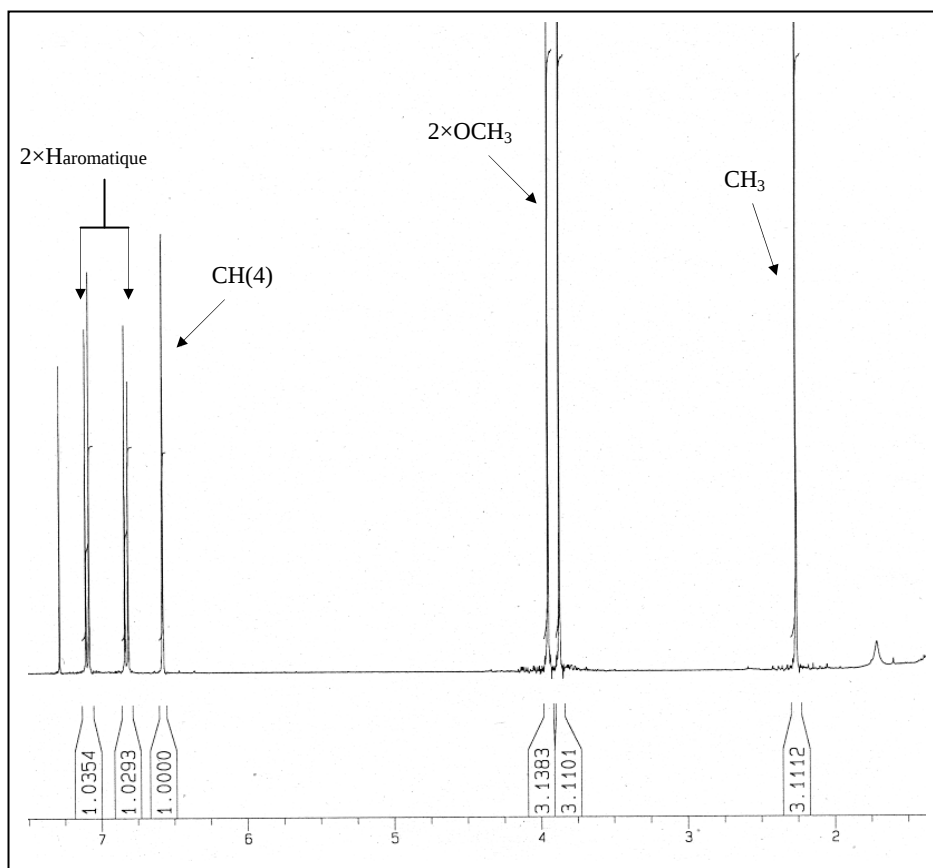


Figure 40. Spectre RMN ^1H (400MHz/ CDCl_3) de l'isocoumarine 48

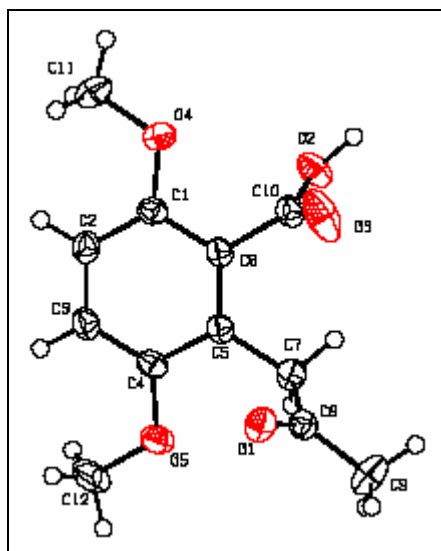


Figure 41. Structure Rayon X du cétoacide 50

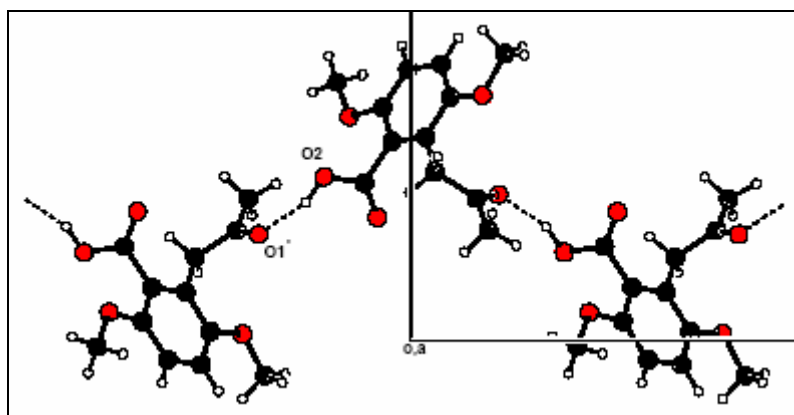


Figure 42. Structure Rayon X montrant les liaisons hydrogènes intermoléculaires

Tableau 16a. Paramètres cristallographiques du cétoacide 50

Formule empirique	C ₁₂ H ₁₄ O ₅
Masse molaire	238.23
Forme du cristal	Tige
Couleur du cristal	Incolore
Dimensions du cristal [mm]	0.30 x 0.23 x 0.15
Système cristallin	Orthorhombique
Taille de la maille	
<i>a, b, c</i> [Å]	5.3233(6), 14.4723(13), 15.1530(16)
α, β, γ [°]	90, 90, 90
<i>V</i> [Å ³]	1167.4(2)
Groupe spatial	P 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
<i>Z</i>	4
<i>D</i> _{calc} [g.cm ⁻³]	1.355
Radiation utilisée	Mok α
Longueur d'onde [Å]	0.71073
Coefficient d'absorption molaire [mm ⁻¹]	0.106
Température [K]	173(2)
Paramètres affinage cellule	
Réflexions	4410
Angle moyen	2.65 < θ < 25.80
Solvant de recristallisation	Acétone

6.3.1.4. Essai de synthèse *via* une époxydation de l'énol-lactone :

Après la synthèse de l'isocoumarine **48**, nous nous sommes focalisés sur la possibilité d'une hydroxylation par époxydation de la double liaison énol-lactone (schéma 65). En effet, une époxydation similaire¹⁵³ a été réalisée par un traitement à reflux en présence de l'acide 3-chloroperbenzouïque (*m*CPBA) dans le chloroforme. Pour le clivage régiosélectif de l'époxyde, nous avons pensé à la procédure de Jankowska et *al.*¹⁹⁷ employant le naphthalide de lithium¹⁹⁸ comme réactif doux et efficace, pour le clivage réducteur des α, β -époxycétones en alcool équivalent.

Cependant, cette époxydation n'a pu être réalisée (schéma 71) à cause l'agressivité de l'acide (*m*CPBA) à chaud.

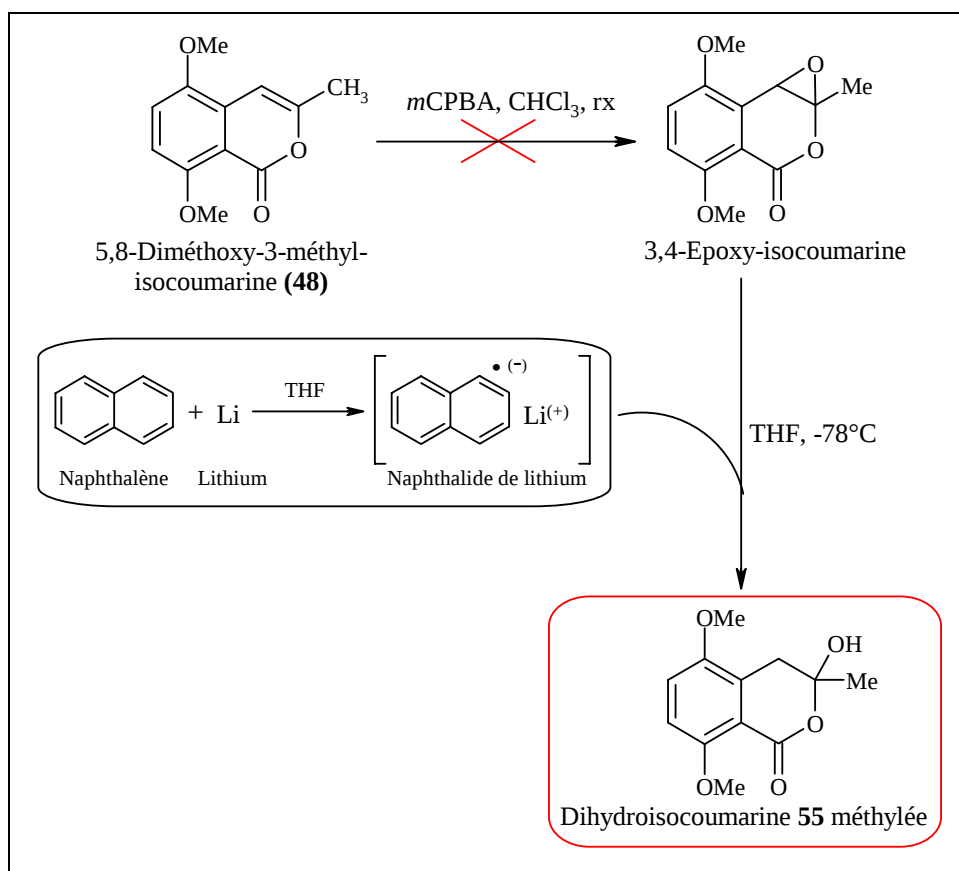


Schéma 71. Essai d'époxydation de l'isocoumarine 48

6.3.1.5. Essai de synthèse *via* une alkoxylation selon la procédure de Langlois :

En 1995, Shu et *al.*¹⁹⁹ ont remarqué que le stockage de l'acide levulinique (LA) en présence d'alcools à température ambiante, entraîne une formation spécifique de deux groupes de composés : des esters de LA et des 4-alkoxy- γ -valérolactones. L'explication de ce phénomène parle d'une réaction réversible de l'alcool avec le groupement cétonique de LA qui conduit à la formation d'un hémiacétal, qui est aisément cyclisé/déshydraté pour former le 4-alkoxy- γ -valérolactone équivalent. Parallèlement, l'alcool réagit aussi avec le groupe acide de LA pour former l'ester correspondant.

Par cette observation, nous avons appliqué la procédure de Langlois²⁰⁰ pour la préparation de la 3-méthoxy-3,4-dihydroisocoumarine (schémas 65 et 72) par méthoxylation. L'analyse du mélange réactionnel a démenti toute formation du produit recherché.

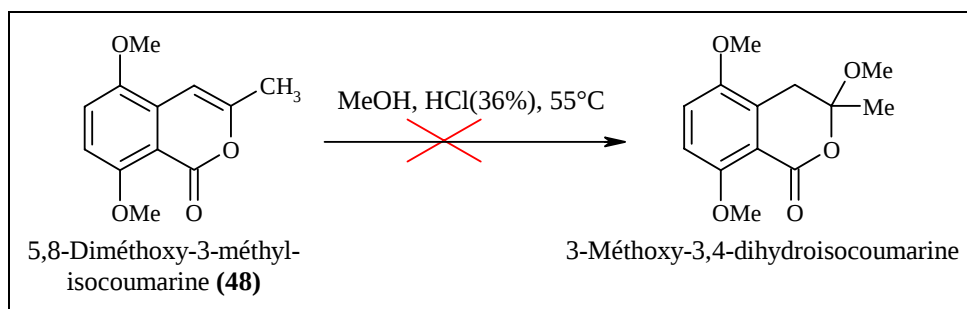


Schéma 72. Essai de méthylation de l'isocoumarine 48

6.3.1.6. Essai de synthèse par hydrochloration de l'énol-lactone :

Il est connu que les gels de silice et d'alumine, convenablement préparés, sont avérés d'excellents intermédiaires d'addition des halogénures d'hydrogène (HX) aux alcènes.

La technique a été rendue favorablement efficace par Kropp et *al.*²⁰¹ par l'utilisation de divers halogénures organiques et inorganiques comme précurseurs qui produisent à travers une hydrolyse en présence des gels de silice ou d'alumine, des halogénures d'hydrogène *in situ*²⁰², suivant un mécanisme d'addition/élimination sur surface, impliquant un transfert par étapes de $H^{(+)}$ et de $X^{(-)}$ selon un mode d'addition stéréosélective *Syn*.

L'application de cette approche à notre synthèse a nécessité l'équilibrage préalable du gel de silice (type/40G) dans l'atmosphère à 120°C durant 48 heures avant l'addition de l'isocoumarine **48** en solution dans le dichlorométhane, suivie de l'ajout du chlorure d'acétyle (en solution 10M) comme précurseur doux de HCl (schémas 65 et 73).

Malheureusement, l'utilisation de cette nouvelle voie de synthèse, n'a pas permis d'obtenir le dérivé chloré attendu.

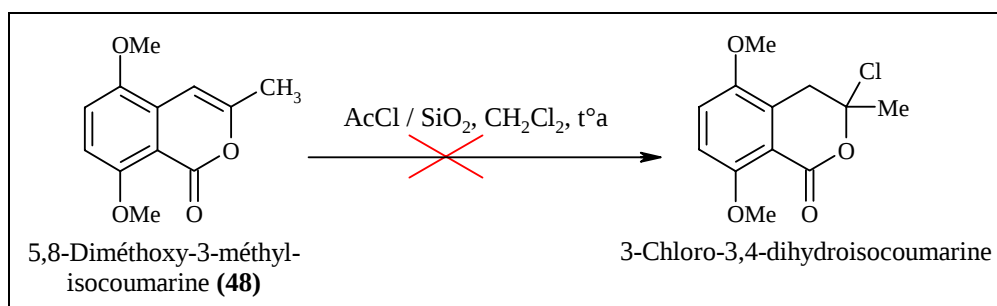


Schéma 73. Essai d'hydrochloration de l'isocoumarine 48

6.3.2. Essais via la synthèse de la 5,8-diméthoxy-3-méthyl-3,4-dihydroisocoumarine (51) :

Les résultats décevants de la conversion de la double liaison éno-lactone en alcool équivalent, nous ont convaincu de changer de précurseur direct, par hydrogénation catalytique de l'isocoumarine **48** en 5,8-diméthoxy-3-méthyl-3,4-dihydroisocoumarine (**51**). La suite est une insertion régiosélective d'un atome de Brome en position (3), suivie d'une substitution en hydroxyle libre (schéma 74).

6.3.2.1. Préparation de la 5,8-diméthoxy-3-méthyl-3,4-dihydroisocoumarine (51) :

Pour l'hydrogénation catalytique de l'isocoumarine **48** nous avons utilisé le protocole de Hill et *al.*²⁰³ qui s'avère efficace pour l'hydrogénation des isocoumarines³⁸.

Cette réaction est réalisée par une *Syn* addition de l'hydrogène moléculaire H₂ sous une pression de 3.9 Bar, sur l'isocoumarine **48** mise en solution dans l'acétate d'éthyle en présence du palladium déposé sur du carbone à 10% comme catalyseur hétérogène. D'un point de vue thermodynamique, c'est une réaction quasi-totale dans les conditions normales de température et de pression. La 3,4-dihydroisocoumarine **51** est obtenu avec un rendement de 92% sans purification supplémentaire (schéma 75).

En RMN ¹H (figure 43), nous enregistrons la disparition (confirmée par le DEPT) du quadruplet de (=CH-) à δ 6.58 remplacé par deux doublet de doublet de (-CH₂-) à δ 2.50 et 3.09 (système ABX : J_{BX} = 2.9 Hz, J_{AX} = 11.6 Hz, J_{AB} = 16.9 Hz) avec le (H-C*-). Ce dernier montre un doublet de quadruplet de doublet à δ 4.43 vu son couplage additionnel (J = 6.3 Hz) avec le méthyle terminal (-C*-CH₃).

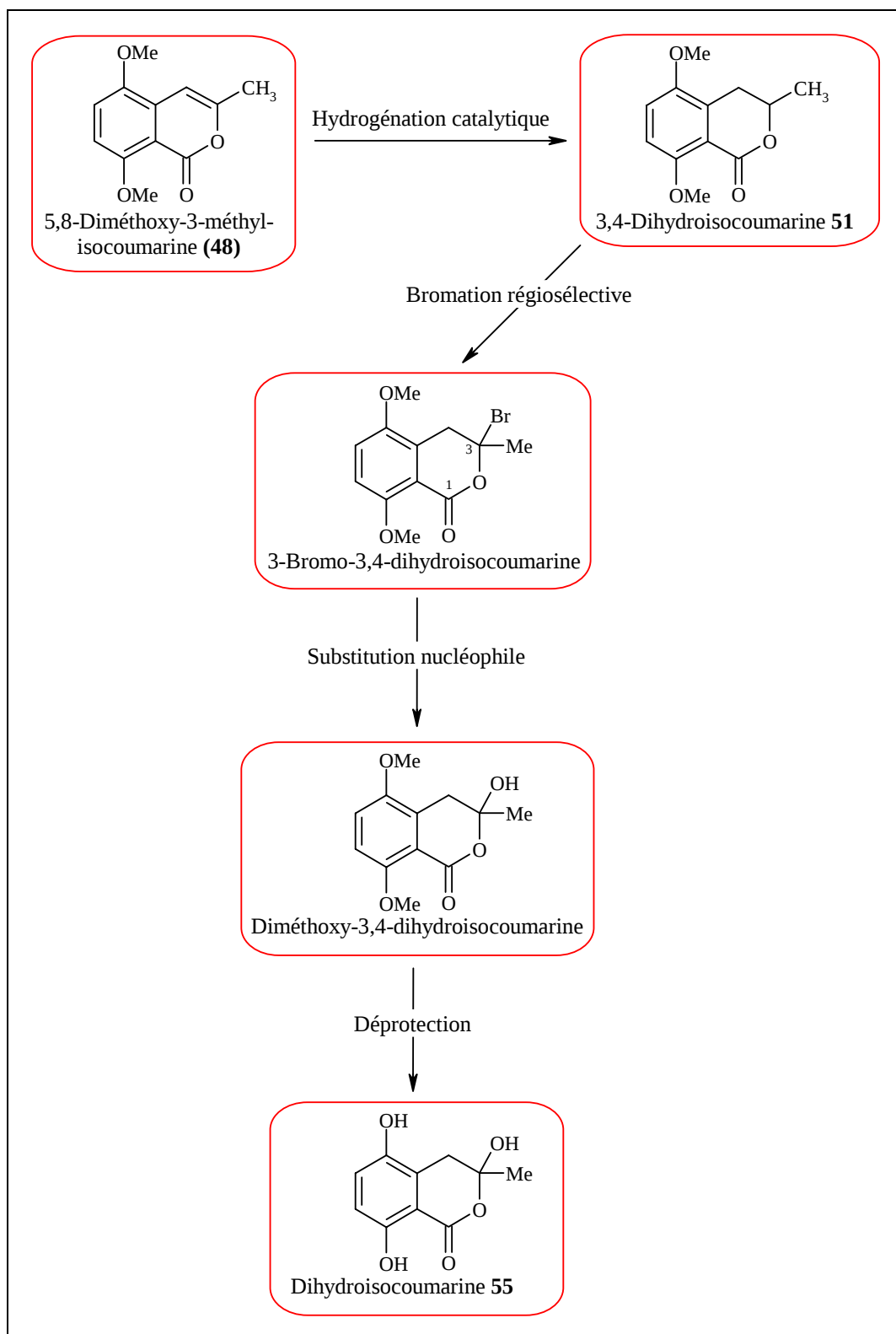
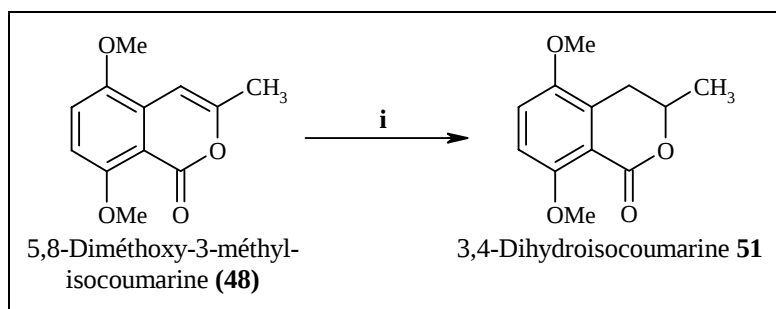


Schéma 74. Essais de synthèse de l'hydroxy-dihydroisocoumarine 55 à partir de la dihydroisocoumarine 51



i) H₂ (P = 3.9 Bar), Pd/C à 10%, AcOEt, t°a (92%).

Schéma 75. Synthèse de la 3,4-dihydroisocoumarine 51 par hydrogénation catalytique

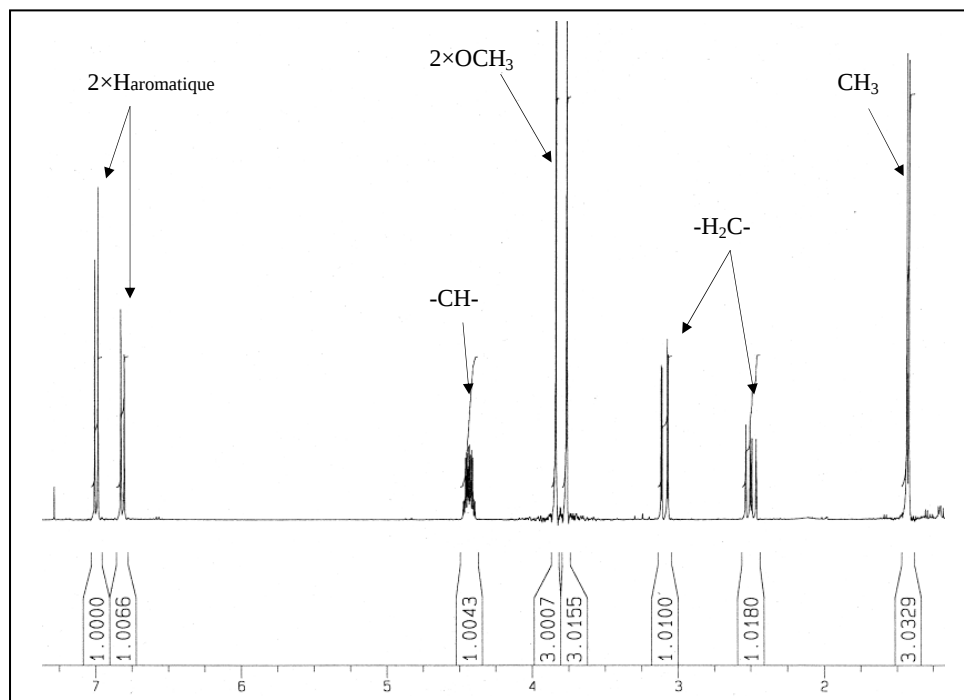


Figure 43. Spectre RMN ¹H (400MHz/CDCl₃) de la 3,4-dihydroisocoumarine 51

6.3.2.2. Essai de synthèse *via* une bromation radicalaire de l'hydroisocoumarine 51 :

Après la synthèse du composé **51**, nous avons pensé à une bromation radicalaire en position (3). Comme nous l'avons précédemment cité (§ 4.31.2), la position allylique en (4) est plutôt favorable (stabilisée par le noyau aromatique en α). Cependant, l'espoir d'obtenir le dérivé bromé en (3) même en produit secondaire, nous permettra de vérifier la structure avancée par Michel⁶ (§ 6.1). Le traitement²⁰⁴ à reflux de la dihydroisocoumarine **51** dans le chloroforme en présence du *N*-bromosuccinimide (NBS) et de l'azobisisobutyronitrile (AIBN) sous irradiation (UV-180W), conduit dans un premier temps à un nouveau produit (CCM) instable, qui se dégrade progressivement en faveur d'un deuxième produit. L'analyse des deux composés a confirmé l'obtention du produit de la bromation en (4) : la bromo-dihydroisocoumarine **52** (figure 44 ; schéma 76) et le produit résultant d'élimination de HBr : l'isocoumarine **48** (schéma 76).

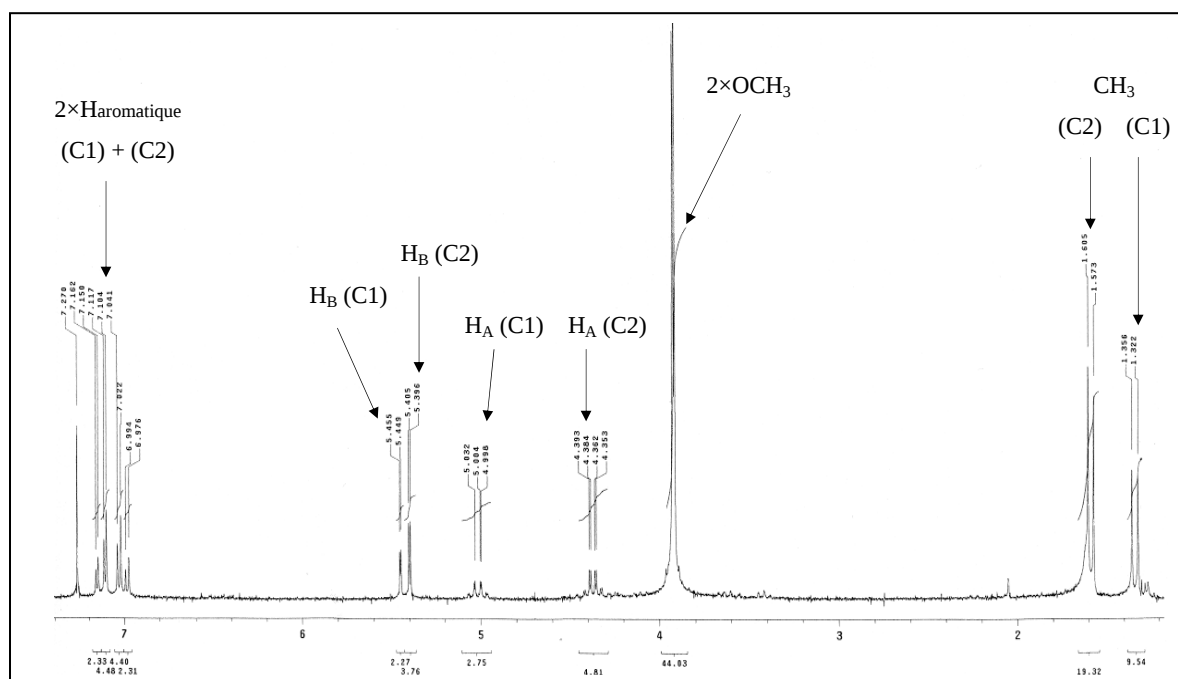
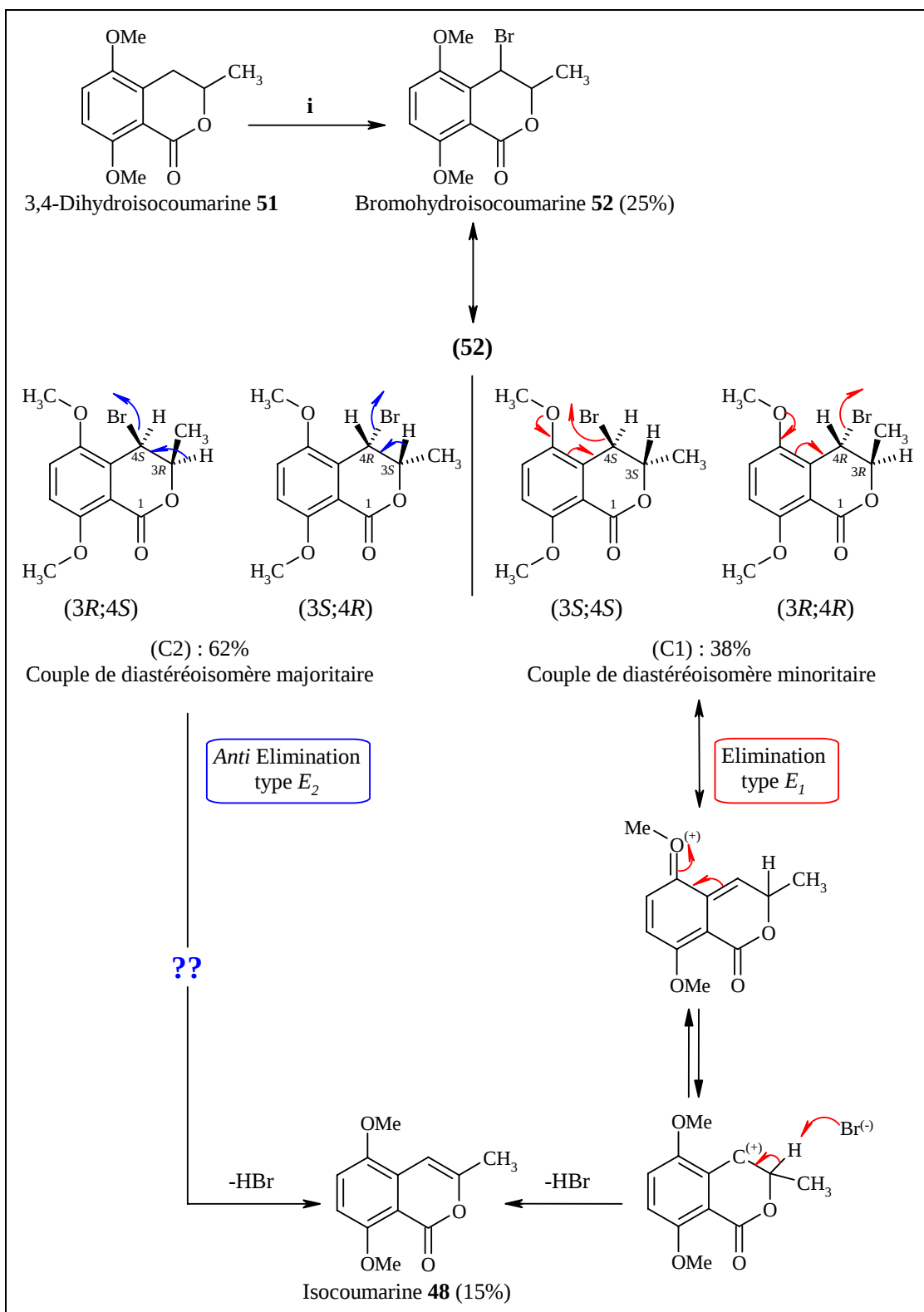


Figure 44. Spectre RMN ¹H (200MHz/CDCl₃) de la bromo-dihydroisocoumarine 52



i) NBS, AIBN, CHCl_3 , $h\nu$, rx.

Schéma 76. Bromation radicalaire de l'hydroisocoumarine **51**

6.4. Conclusion :

A la fin de ce chapitre, nous avons synthétisé trois nouvelles isocoumarines (schéma 77) : l'isocoumarine **48** préparée en trois étapes (24%), fournit par hydrogénation catalytique la dihydroisocoumarine **51** (22%) qui conduit à la bromo-dihydrocoumarine **52** (6%).

Les essais d'hydroxylation des isocoumarines **48** et **51**, n'ont pas permis d'obtenir l'hydroxy-dihydroisocoumarine **55**. Sa structure n'a malheureusement pas pu être vérifiée.

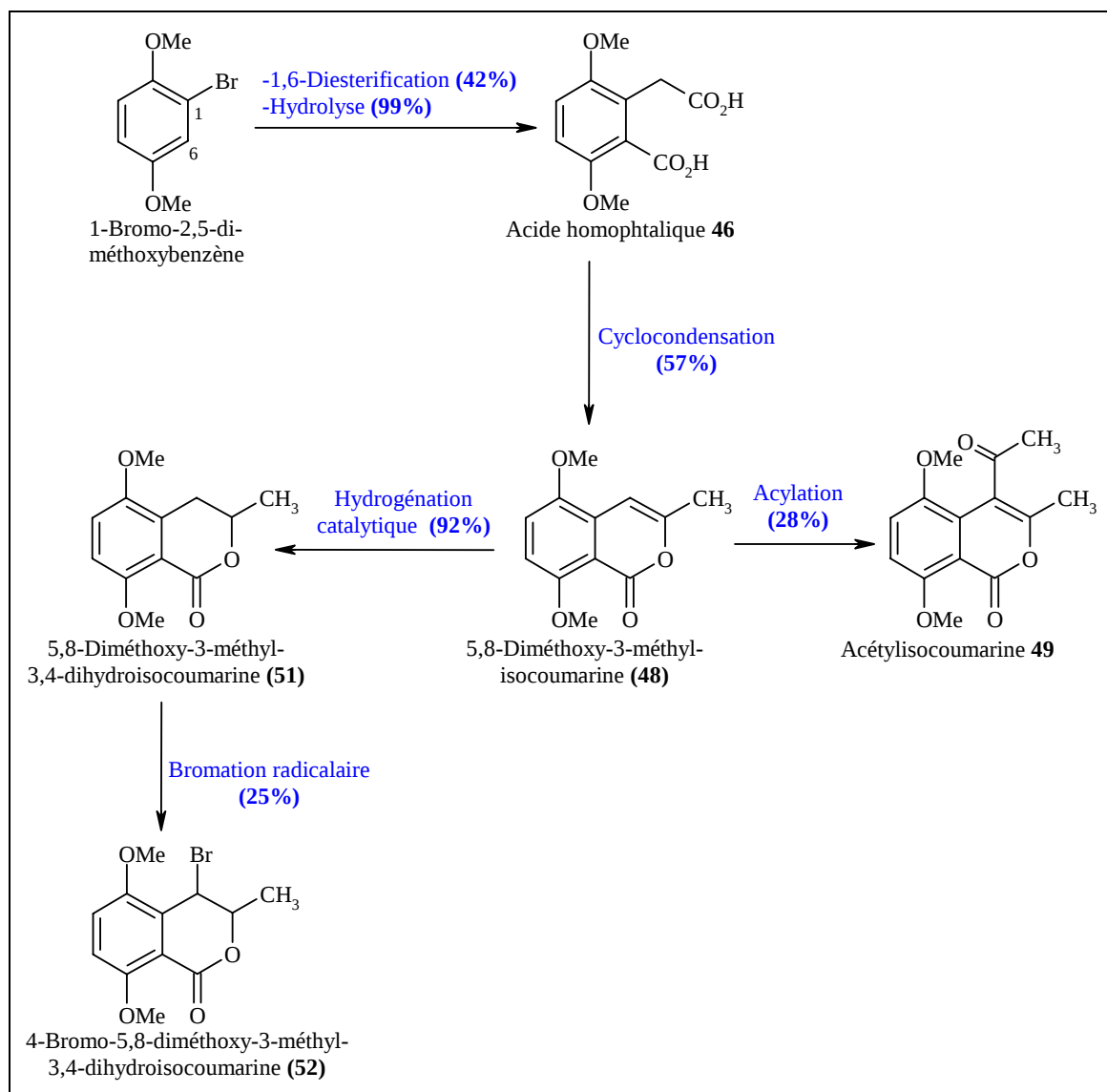


Schéma 77. Synthèse de nouvelles isocoumarines

CHAPITRE 7

Tests biologiques

7.1. Tests de toxicité sur disque de feuilles de vigne :

Les tests sur disque de feuilles sont inspirés des procédures décrites par Park²⁰⁵ et Sugawara²⁰⁶, lesquels entaillent volontairement des tissus végétaux avant de les soumettre aux éventuelles toxines.

Les tests de toxicité des métabolites de synthèse **7**, **8**, **24** et **28** (figure 45) doivent être effectués, normalement, sur des feuilles de platane ou de caféier. Par manque de matériel végétal frais et en culture contrôlée, nous avons opté pour le test indicatif fait en routine dans notre laboratoire, qui permet la détection des toxines produites par les champignons pathogène du bois de la vigne.

Les feuilles de vigne fraîchement cueillies sont découpées dans l'éthanol aqueux à 2% en disque de 0.5 cm de diamètre puis immergées dans des solutions-test à différentes concentrations. Les symptômes de nécrose sont relevés au bout de 48 heures comparativement à des blancs maintenus dans de l'éthanol aqueux à 2%. Le pourcentage de la nécrose est calculé en fonction de la superficie (πr^2) du disque.

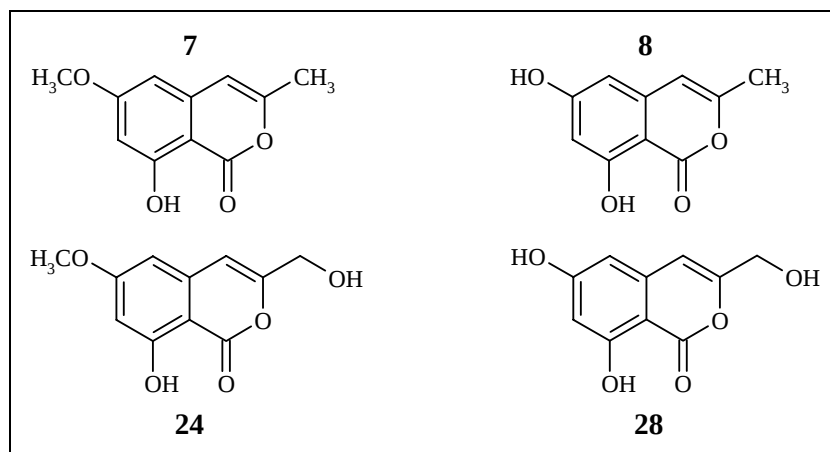


Figure 45. Métabolites de synthèse testés sur les feuilles de vigne

7.1.1. Test de toxicité de l'isocoumarine 7 :

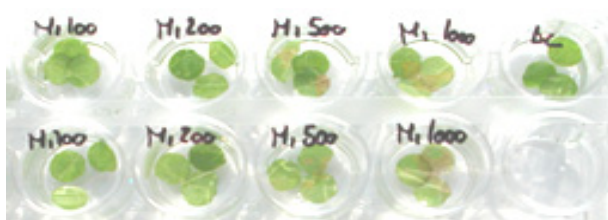


Figure 46. Test sur disque de feuilles de vigne en deux séries de mesures appliqué à différentes concentrations en isocoumarine 7 comparativement à un blanc maintenu dans l'éthanol à 2% en 48h (M₁ correspond à l'isocoumarine 7)

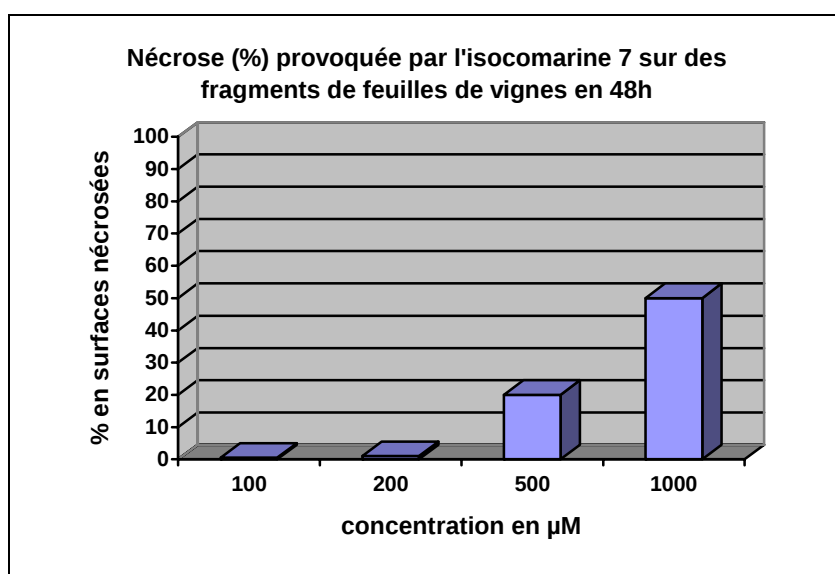


Figure 47. Histogramme représentant le % de surface nécrosée en fonction de différentes concentrations en µM de l'isocoumarine 7

7.1.2. Test de toxicité de l'isocoumarine 8 :

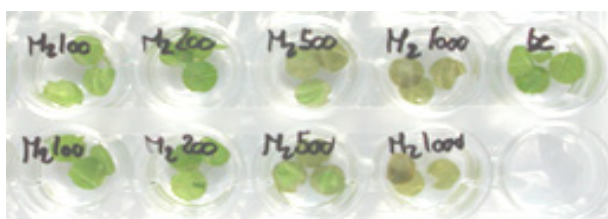


Figure 48. Test sur disque de feuilles de vigne en deux séries de mesures appliqué à différentes concentrations en isocoumarine 8 comparativement à un blanc maintenu dans de l'éthanol à 2% en 48h (M₂ correspond à l'isocoumarine 8)

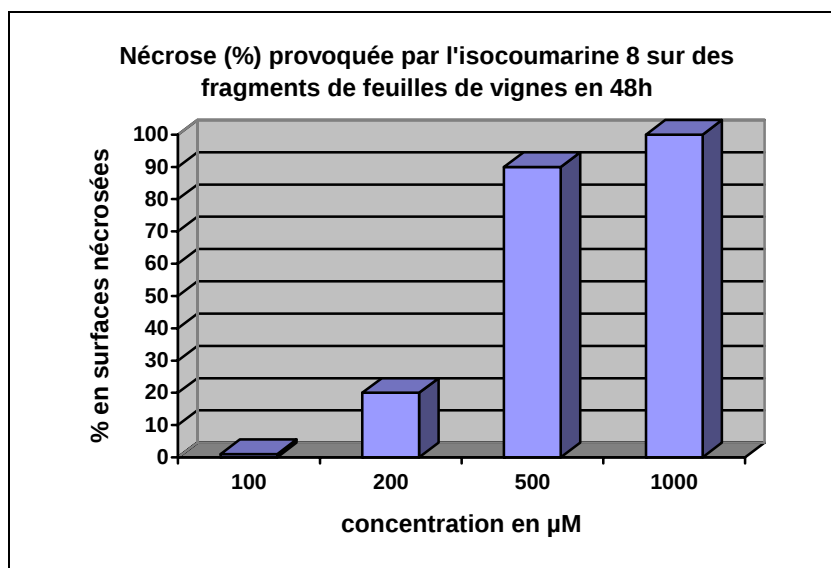


Figure 49. Histogramme représentant le % de surface nécrosée en fonction de différentes concentrations en μM de l'isocoumarine 8

7.1.3. Test de toxicité de l'isocoumarine 28 :

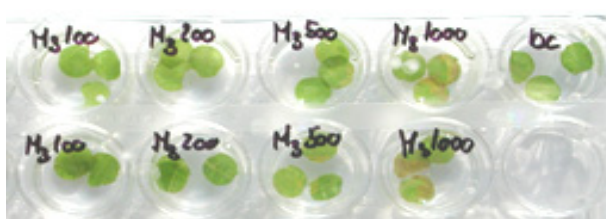


Figure 50. Test sur disque de feuilles de vigne en deux séries de mesures appliqué à différentes concentrations en isocoumarine 28 comparativement à un blanc maintenu dans l'éthanol à 2% en 48h (M_3 correspond à l'isocoumarine 28)

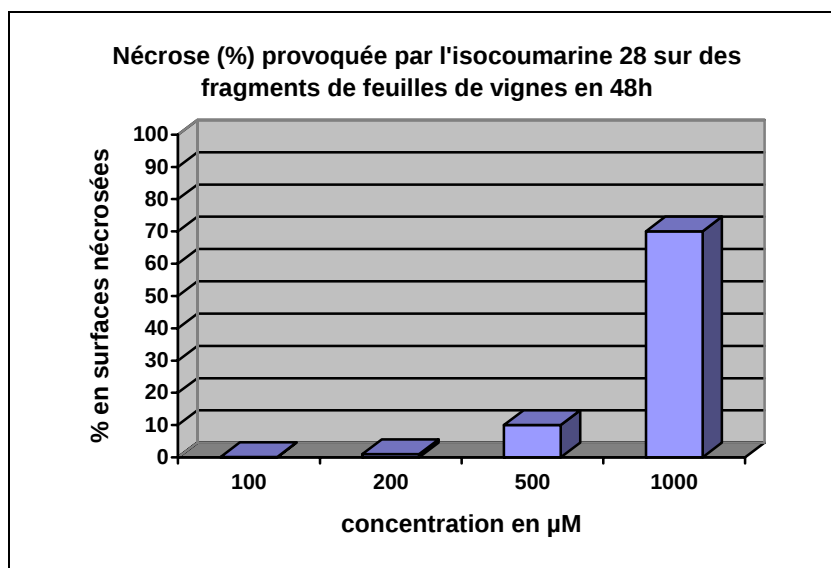


Figure 51. Histogramme représentant le % de surface nécrosée en fonction de différentes concentrations en μM de l'isocoumarine 28

7.1.4. Test de toxicité de l'isocoumarine 24 :



Figure 52. Test sur disque de feuilles de vigne en deux séries de mesures appliqué à différentes concentrations en isocoumarine 24 comparativement à un blanc maintenu dans l'éthanol à 2% en 48h (M₄ correspond à l'isocoumarine 24)

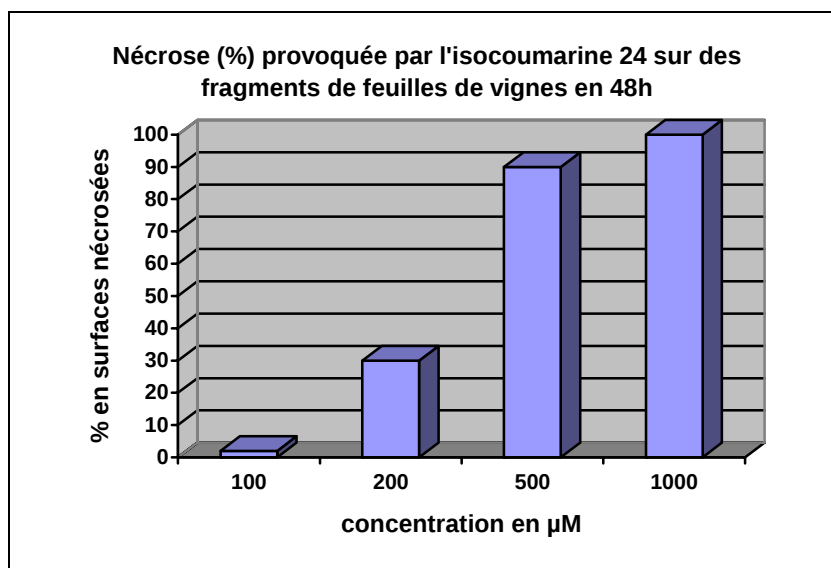


Figure 53. Histogramme représentant le % de surface nécrosée en fonction de différentes concentrations en μM de l'isocoumarine 24

7.1.5. Conclusion :

A travers les tests de toxicité effectués sur des feuilles de vigne avec quatre isocoumarines synthétiques **7**, **8**, **24** et **28** (figure 45), nous constatons que la molécule **7** présente une toxicité moyenne à 1000 μM , malgré sa très faible solubilité dans l'éthanol aqueux à 2%, alors que les molécules **8** et **24** provoquent une forte toxicité dès 500 μM . La molécule **28** est faiblement toxique.

7.2. Tests antifongiques :

D'autre part, pour vérifier si les métabolites isolés sont utilisés par le champignon en tant que défense chimique, nous avons réalisé des tests antifongiques.

Trois espèces ont été choisies, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus* sp. et *Penicillium* sp. En effet, *Penicillium* sp. et l'*Aspergillus* sp. s'attaquent très souvent aux fruits et aux denrées en stockage, alors que *Trichoderma* sp. est un champignon capable de parasiter de nombreuses espèces de champignons et par conséquent néfaste pour la culture des champignons comestibles tel que *Agaricus* sp.. Il est en revanche utilisé en contrôle biologique des plantes, pour contrôler les champignons pathogènes.

Ces tests sont aussi réalisés en routine par le laboratoire à l'Institut de Microbiologie de l'Université de Neuchâtel, en collaboration avec le Dr. Djoukeng.

Le but de ces tests est à la fois de vérifier le caractère antifongique des métabolites testés en mesurant la dose minimale d'inhibition (MID) étant la plus petite quantité nous permettant d'observer une zone d'inhibition.

7.2.1. Protocole des tests antifongiques selon la méthode bioautographique :

Le développement de ce protocole a été inspiré de la méthode de Hadacek²⁰⁷. Des quantités de 50 et 100 µg des quatre métabolites de synthèse **7**, **8**, **24** et **28** (figure 45) préparées dans l'éthanol sont déposées soigneusement sur des plaques de gel de silice 60 F₂₅₄ (Merck). Après évaporation totale du solvant, une suspension des spores de chaque champignon (*Trichoderma harzianum*, *Aspergillus* sp. et *Penicillium* sp.) dans son milieu nutritif a été coulé sur les plaques et incubés pendant 48 heures à 24°C dans le noir. Les molécules actives sont révélées à la fin du test par des zones d'inhibition claires sur fond verdâtre, produit par le développement des champignons. La dose minimale d'inhibition est évaluée comme la plus petite quantité permettant d'observer une zone d'inhibition.

La zone d'inhibition est calculée comme étant la surface (πr^2) inhibée par l'isocoumarine.

Pour le contrôle positif, l'Amphotéricine est solubilisé dans l'éthanol contenant du DMSO à 1%, filtré puis déposé sur une plaque de gel de silice à différentes concentrations (0.5 à 5 µg/Spot) (tableau 17). D'autre part, le solvant de solubilisation des échantillons (EtOH) est utilisé comme contrôle négatif.

Tableau 17. Doses minimales d'inhibitions de l'Amphotéricine sur les champignons

	<i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Trichoderma</i>
Amphotéricine (µg/Spot)	1.5	3	3

7.2.2. Test antifongique sur *Aspergillus* sp. :

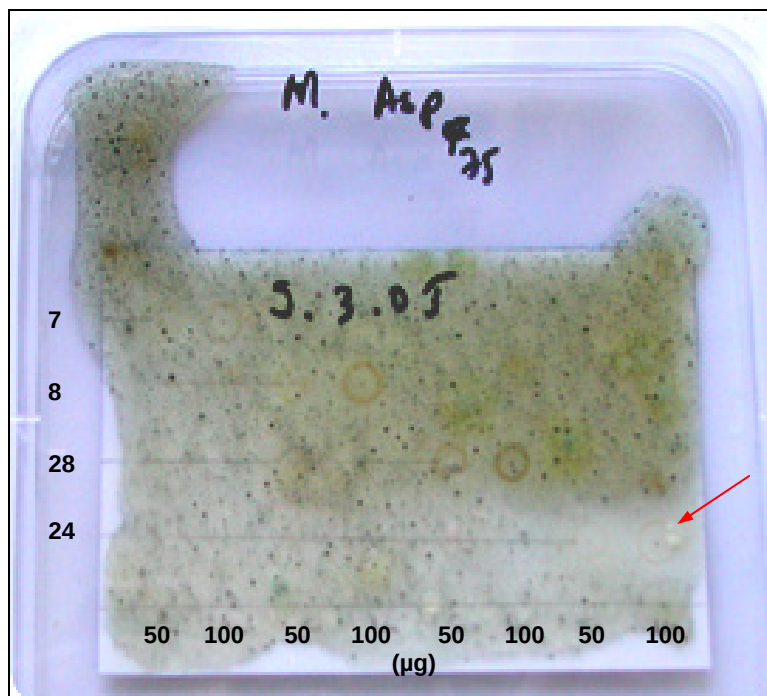


Figure 54. Test bioautographique des isocoumarines 7, 8, 24 et 28 déposées par quantités de 50 et 100 µg sur une plaque de silice puis couverte d'une suspension de spores du champignon *Aspergillus* sp. dans son milieu nutritif et incubées pendant 48h à 24°C dans le noir

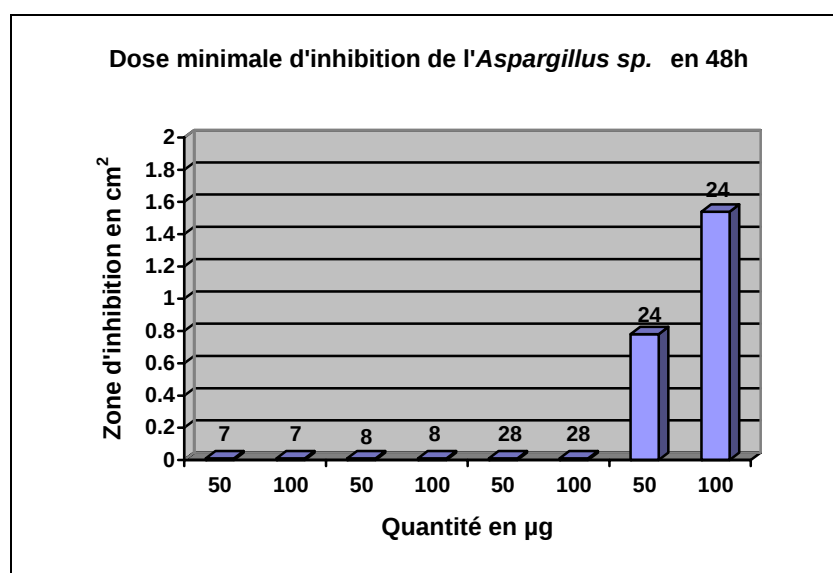


Figure 55. Histogramme représentant la zone d'inhibition de l'*Aspergillus* (cm²) en fonction des quantités 50 et 100 µg des isocoumarines 7, 8, 24 et 28

7.2.3. Test antifongique sur *Trichoderma harzianum* :

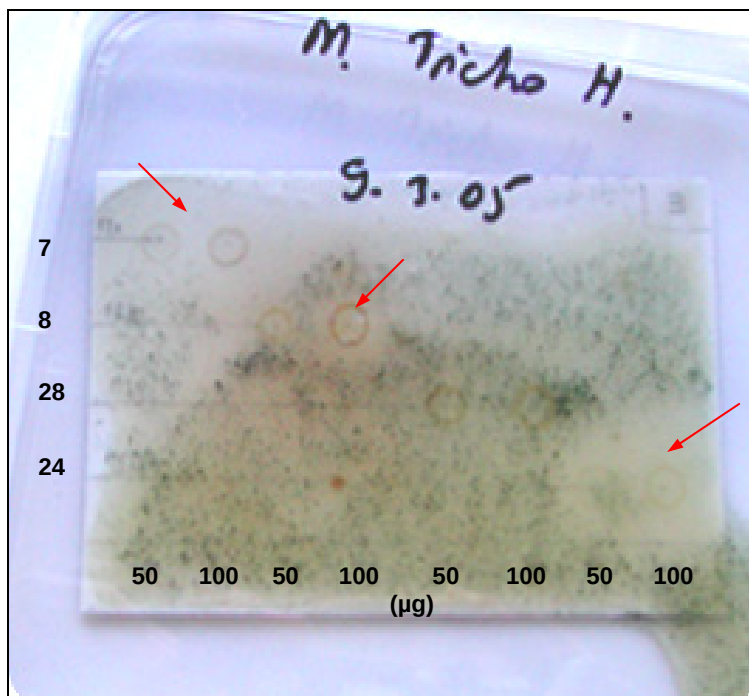


Figure 56. Test bioautographique des isocoumarines 7, 8, 24 et 28 déposées par quantités de 50 et 100 µg sur une plaque de silice puis couvert d'une suspension de spores du champignon *Trichoderma harzianum* dans son milieu nutritif et incubées pendant 48h à 24°C dans le noir

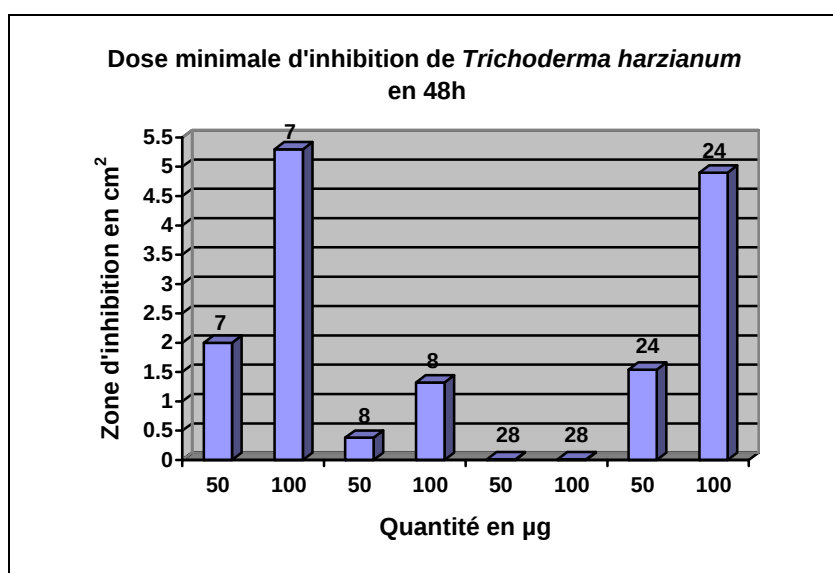


Figure 57. Histogramme représentant la zone d'inhibition de *Trichoderma* (cm²) en fonction des quantités 50 et 100 µg des isocoumarines 7, 8, 24 et 28

7.2.4. Test antifongique sur *Penicillium* sp. :

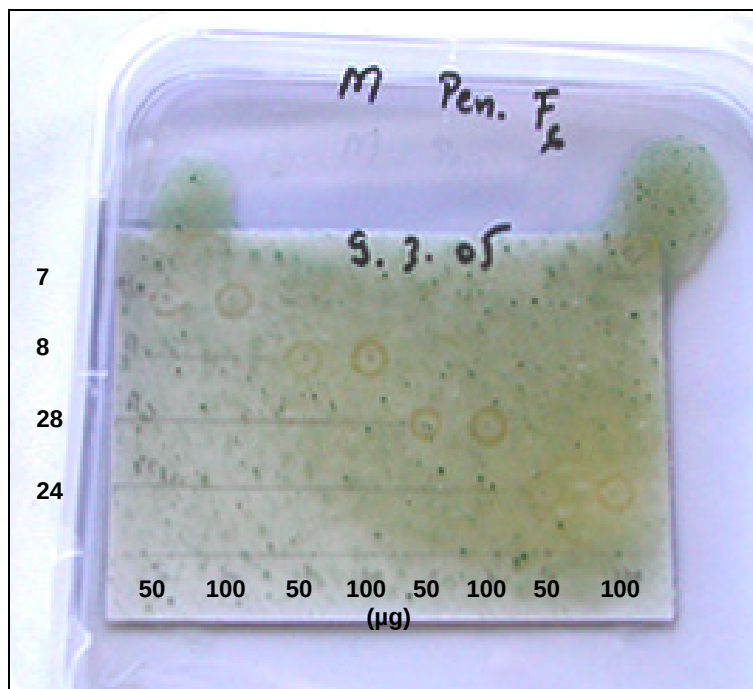


Figure 58. Test bioautographique des isocoumarines 7, 8, 24 et 28 déposées par quantités de 50 et 100 µg sur une plaque de silice puis couvert d'une suspension de spores du champignon *Penicillium* sp. dans son milieu nutritif et incubées pendant 48h à 24°C dans le noir

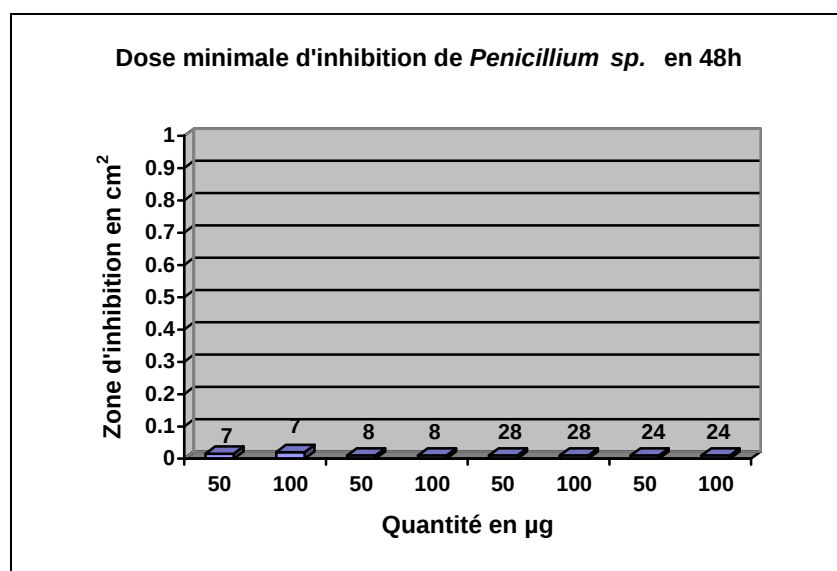


Figure 59. Histogramme représentant la zone d'inhibition de *Penicillium* (cm²) en fonction des quantités 50 et 100 µg des isocoumarines 7, 8, 24 et 28

7.2.5. Conclusion :

Les tests antifongiques réalisés sur : *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus* sp. et *Penicillium* sp., avec quatre isocoumarines synthétiques **7**, **8**, **24** et **28** (figure 45), montrent que l'isocoumarine **24** est la seule à présenter une très bonne activité antifongique contre l'*Aspergillus* sp. dès 50 µg, alors que pour *Trichoderma harzianum*, trois molécules ont montré une activité variant entre moyenne pour **8** à 100 µg, bonne pour **24** et très bonne pour **7** dès 50 µg. Néanmoins, aucune activité n'a été enregistrée contre le *Penicillium* sp..

CHAPITRE 8

Conclusions et perspectives

8.1. Conclusions :

Le bilan de ce travail se traduit par la synthèse dans un premier temps des isocoumarines **7** et **8**, effectuée par une nouvelle voie (voie B) pour la préparation de l'acide orsellinique **3** précurseur, de l'acide homophtalique **4** et du cétoacide **5**. Ces intermédiaires sont cruciaux dans la synthèse des nos isocoumarines. Nous avons aussi établi, grâce aux analyses rayons X, la structure réelle du composé **5**. Les rendements globaux des sept étapes de synthèse des isocoumarines **7** et **8** sont de 17% et 18% (schéma 32).

Pour la synthèse de la cytogénine (**24**) et son dérivé **28**, nous avons effectué une bromation allylique des molécules **7** et **8**, suivie d'une substitution nucléophile du brome par l'anion formiate, puis d'une simple hydrolyse acide. Les rendements globaux respectifs des isocoumarines **24** et **28** sont de 4% et 8% (schéma 78).

Par la suite, nous avons développé une synthèse inédite de l'orthosporine (**38**), réalisée par la condensation du carbanion allylique de l'isocoumarine **6**, généré par la LDA *in situ*, sur l'acétaldéhyde (schéma 78). Le rendement global de la synthèse est de 6%. Son amélioration est bien possible après optimisation.

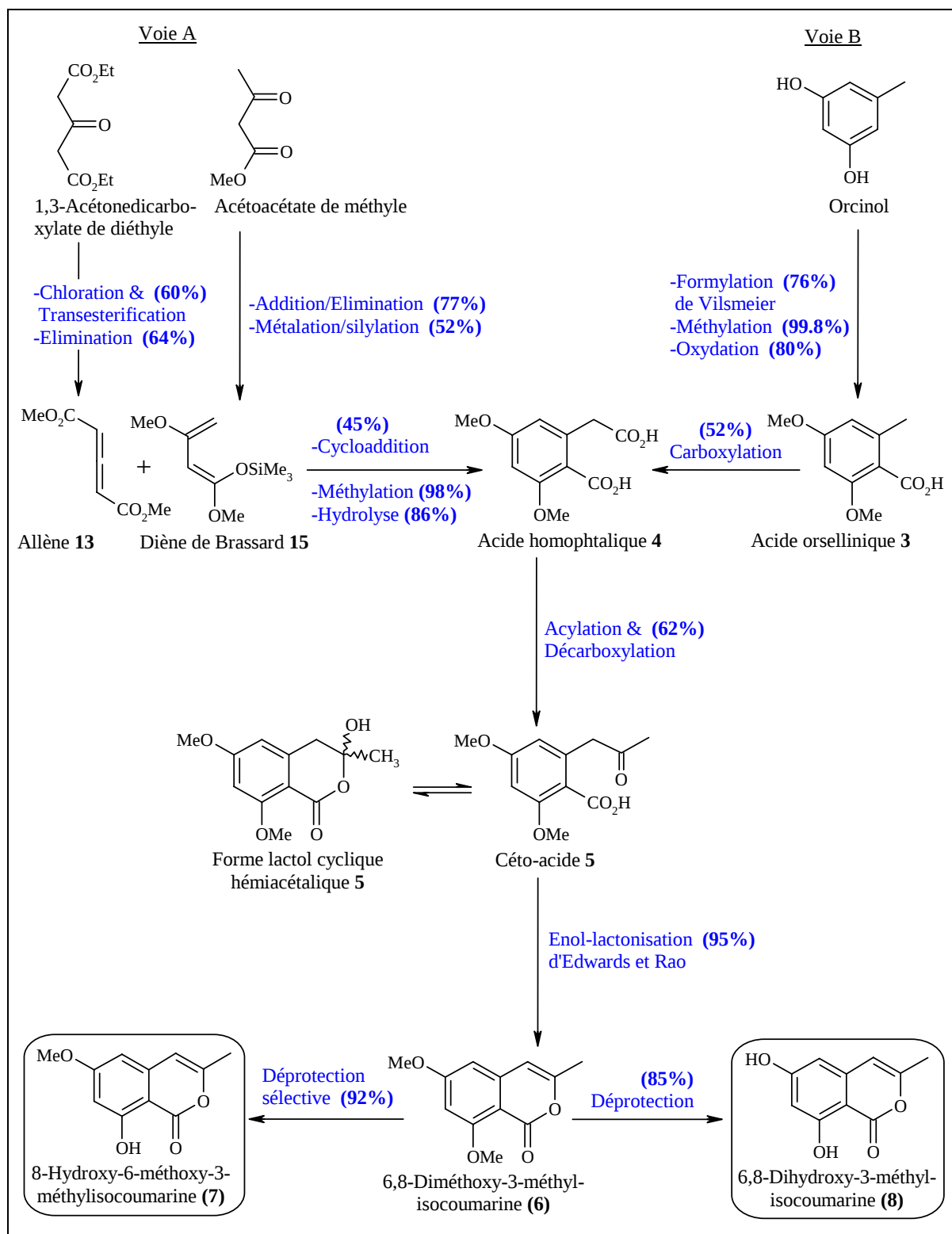


Schéma 32. Synthèse totale des isocoumarines 7 et 8

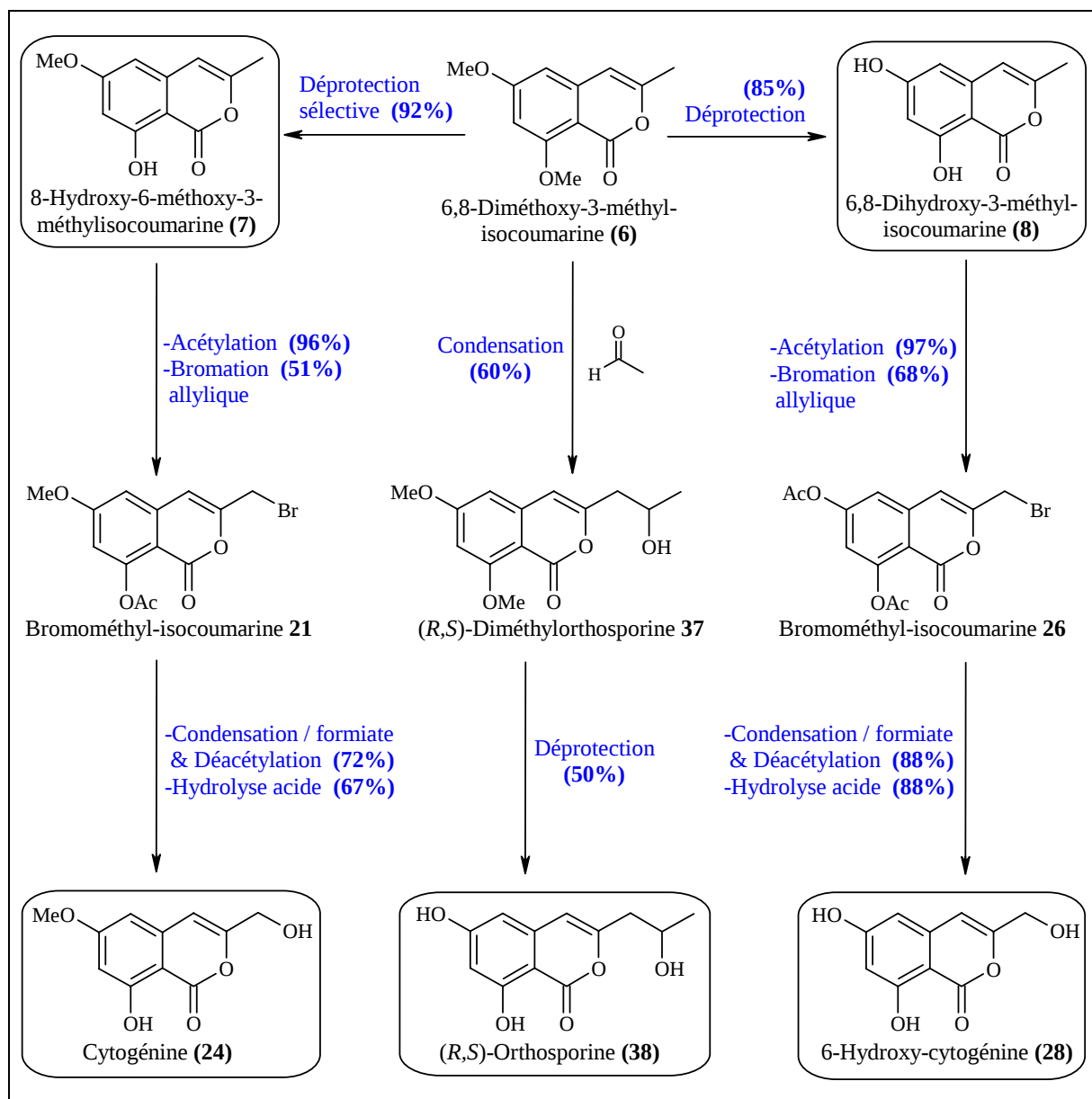


Schéma 78. Synthèse totale des isocoumarines 24, 28 et 38

La synthèse du nouveau métabolite **55** isolé par Michel⁶, n'a par contre pas donné le résultat espéré. Nos tentatives d'une synthèse asymétrique selon le model de Sharpless¹⁸³⁻¹⁸⁵ et de Zhu^{186;187}, se sont avérées irréalisables.

Nous avons alors voulu nous limiter à une synthèse racémique de la dihydroisocoumarine **55**. Pendant cette synthèse, nous avons préparé de nouvelles isocoumarines : **48**, **49**, **51** et **52** (schéma 77). Nous avons également effectué une étude de convertibilité de la double liaison énol-lactone, un aspect non décrit dans la littérature et qui pourrait avérer utile dans la synthèse générale des isocoumarines. Malgré divers essais, la synthèse du métabolite **55** n'a pas abouti.

En conclusion, nos différentes synthèses ont prouvé que l'approche basée sur une cycloaddition des dérivés d'acide homophthalique est une méthode efficace et généralisable pour la synthèse d'autres isocoumarines. Nous avons constaté également que les synthèses établies sur la fonctionnalisation d'une structure stable préalablement existante sont les plus efficaces (§ 4 et 5).

Les tests de phytotoxicité que nous avons effectués sur des feuilles de vigne ainsi que les tests antifongiques ont fourni des informations inédites sur la phytotoxicité et le caractère antifongique des métabolites **7**, **8**, **24** et **28**.

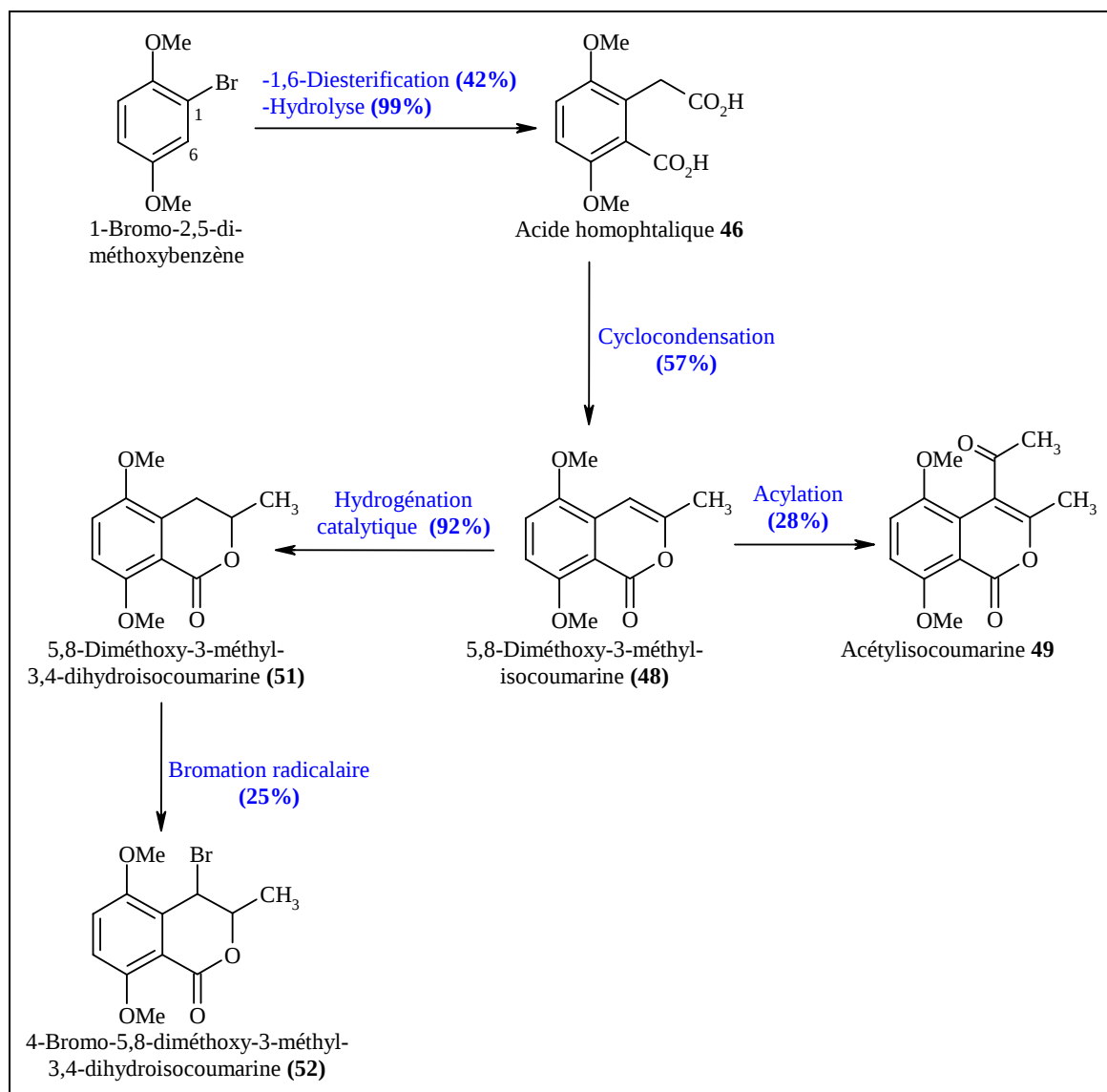


Schéma 77. Synthèse de nouvelles isocomarines

8.2. Perspectives :

Pour compléter ce travail, il faudrait dans un premier temps terminer la synthèse asymétrique de la (S)-(+)-orthosporine (**38**) par la résolution optique des deux énantiomères *via* un dédoublement au réactif de Mosher (schéma 49). Une purification par chromatographie sur colonne de silice¹⁶ permettrait la séparation des deux diastéréoisomères. L'hydrolyse de ces derniers, suivie d'une déméthylation, conduirait à la (R) et la (S)-orthosporine.

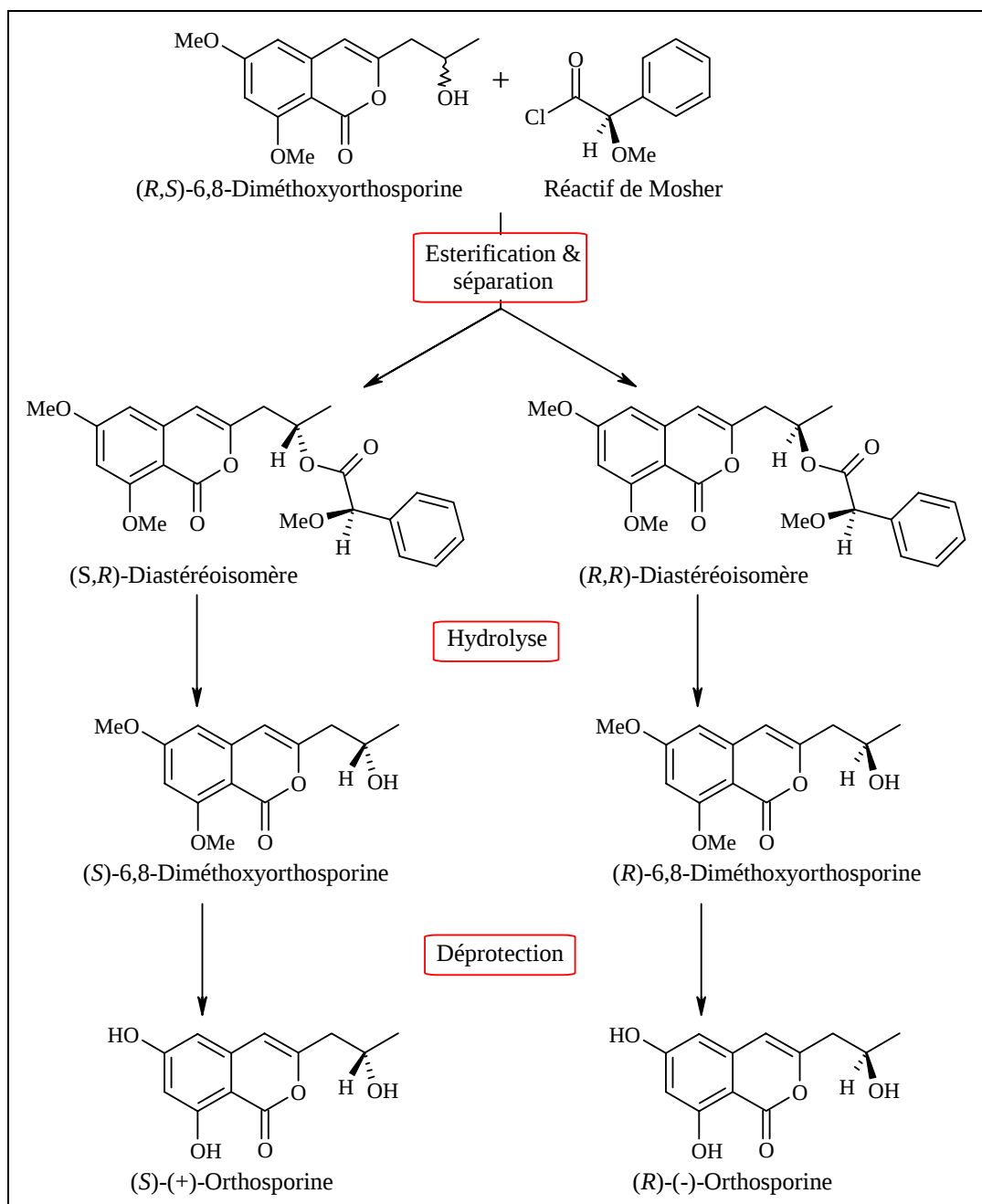


Schéma 49. Résolution de (+)-orthosporine par Ichihara et *al.*¹⁶

Pour la cytogénine (**24**), Nous pensons tout de même qu'une synthèse plus simple est réalisable. En effet, une possible condensation à l'image de celle de l'orthosporine (**38**) est envisageable. La génération du carbanion allylique de l'isocoumarine **6** en présence de la lithiundiisopropylamide (LDA) à -78°C suivie d'une condensation sur un halogénure de trialkylsilane ($\text{ClSiMe}_3, \dots$), pourrait produire le dérivé silylé équivalent, potentiellement convertible^{208;209} en cytogénine (**24**).

Pour la préparation de la dihydroisocoumarine **55**, nous proposons une synthèse par époxydation asymétrique de la double liaison émol-lactone de l'isocoumarine **48** selon la méthode de Zhu^{186;187} (schéma 79). Cette approche est basée sur l'utilisation du dérivé cétonique du D-fructose comme catalyseur et l'Oxone[®] comme agent d'oxydation^{188;189}.

Pour le clivage régiosélectif de l'époxyde, nous pensons utiliser la procédure de Jankowska¹⁹⁷ employant le naphthalide de lithium¹⁹⁸ comme réactif doux et efficace, pour le clivage réducteur des α, β -époxycétones en alcool équivalent.

En effet, une optimisation de bonnes conditions réactionnelles à la fois douces et efficaces, semble être un atout majeur pour la réussite de cette synthèse.

Une étude biologique est par la suite indispensable pour évaluer la phytotoxicité et le caractère antifongique des deux énantiomères de l'orthosporine (**38**) ainsi que de la dihydroisocoumarine **55**, suivant des tests analogues à ceux réalisés et d'autres plus approfondis.

Enfin, nous espérons que les synthèses et les conclusions proposées dans ce travail puissent être utiles dans la mise au point d'une méthode de détection analytique pour mieux contrôler la contamination des platanes et d'autres arbres.

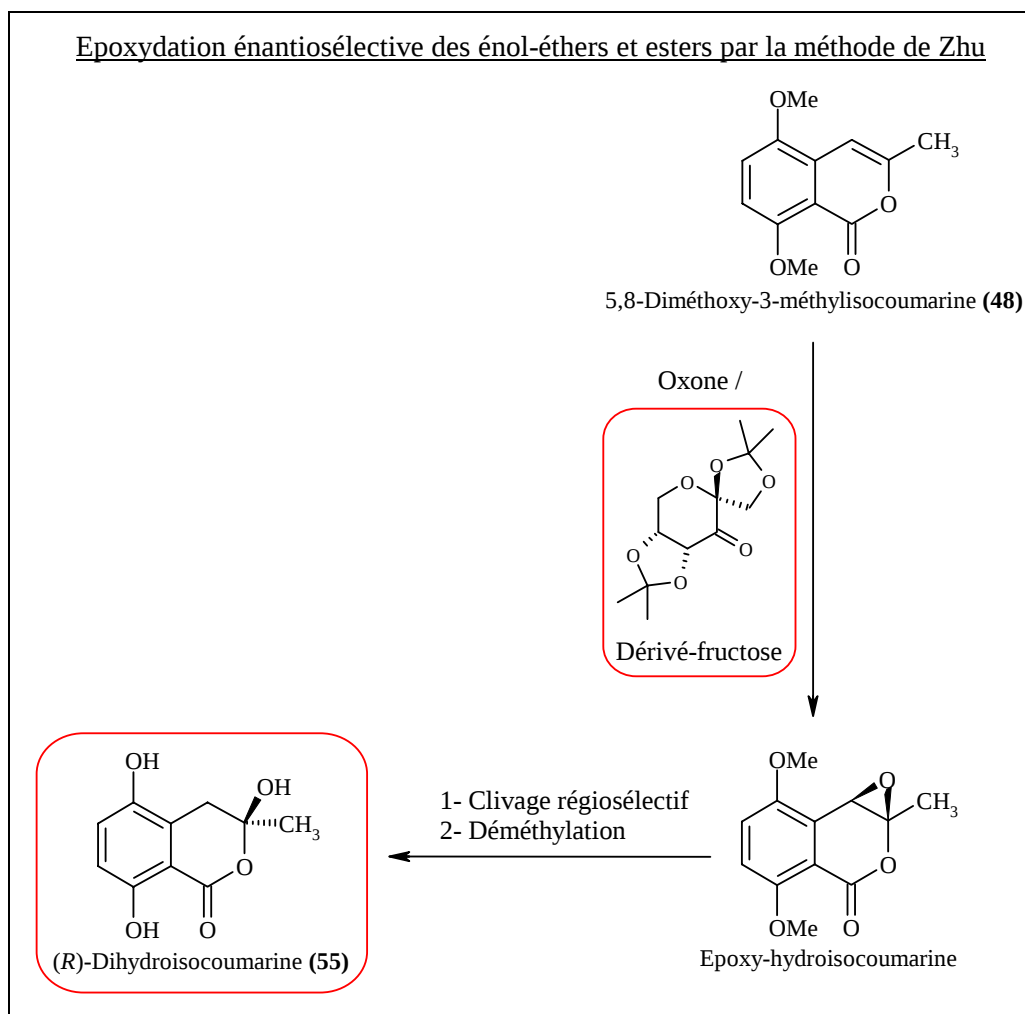


Schéma 79. Synthèse par époxydation asymétrique de la dihydroisocoumarine 55

CHAPITRE 9

Partie expérimentale

9.1. Techniques analytiques :

9.1.1. Chromatographies :

Chromatographies sur couche mince (CCM) :

Sont utilisées, des plaques de chromatographie sur couche mince (0,2 mm d'épaisseur) avec gel de silice 60 F₂₅₄ sur aluminium (Macherey-Nagel). A près élution dans le solvant donné, les plaques sont révélées par lampe UV (254 nm (par défaut)) ou si indiqué, lampe UV 366 nm. Enfin, les composés faiblement chromophores sont révélés en pulvérisant une solution d'éthanol contenant 5 % d'acide sulfurique concentré puis en chauffant la plaque.

Chromatographie sur colonne :

Les colonnes chromatographiques ont été réalisées avec du gel de silice de granulométrie 0.04-0.063 nm (Macherey-Nagel). Les solvants d'élutions sont donnés dans le mode opératoire respectivement pour chaque produit.

9.1.2. Spectroscopie infrarouge (IR) :

Un spectromètre de type Perkin Elmer FT-IR 1720-X est utilisé pour l'obtention des spectres IR, avec une résolution de 2 cm⁻¹. Les composés cristallins sont analysés dans une pastille de KBr (puriss p.a., Fluka, Buchs) et les composés liquides sous forme de film entre deux plaques de KBr. Les bandes d'absorption sont données en nombre d'onde entre 4000 et 500 cm⁻¹ et catégorisées selon leur intensité (découpage en trois parties égales du spectre) avec les abréviations, *vs* (pour très intense), *s* (pour intense), *m* (pour moyenne), *w* (pour faible) et *vw* (pour très faible); l'abréviation *br* signifie que l'absorption est très large.

9.1.3. Spectroscopie par résonnance magnétique nucléaire (RMN) :

Les mesures RMN pour les spectres ^1H à 200 MHz, ^{13}C à 50 MHz sont effectuées avec un spectre Gemini XL-200 de Varian et les mesures des spectres ^1H à 400 MHz et ^{13}C à 100 MHz sont effectuées avec un spectromètre Bruker AMX-400. Les mesures sont effectuées à 273 K et le solvant et la fréquence utilisés sont précisés pour chaque produit. Les déplacements chimiques sont donnés par rapport aux standards externes tétraméthylsilane ($\delta_{\text{H}} = 0.00$ ppm et $\delta_{\text{C}} = 0.00$ ppm). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm dans l'ordre croissant et les constantes de couplage sont données en Hz. La multiplicité des signaux est donnée avec les abréviations *s* (singulet), *d* (doublet), *t* (triplet), *q* (quadruplet), *dd* (doublet de doublet), *dqd* (doublet de quadruplet de doublet), *m* (multiplet); l'abréviation *br* signifie que le signal est large. Les expériences supplémentaires COSY 45, DEPT 135 sont effectuées pour toutes les analyses sur l'appareil Bruker AMX-400, HETCOR SR/LR sont notées entre parenthèses pour chaque composé pour lequel elles ont été effectuées afin d'interpréter les spectres. La numérotation des atomes de carbone est pour la chaîne principale celle définie par le nom systématique donné puis continue par les substituants liés par un atome de carbone en commençant par celui lié sur le carbone de plus petit nombre.

9.1.4. Spectroscopie de masse (MS) :

Les mesures de spectroscopie de masse sont effectuées sur un spectromètre Nermag RC 30-10 pour l'ionisation à impact électronique (EI) avec une énergie de 70 eV et ionisation chimique (DCI) avec l'ammoniaque. Les mesures par ionisation électro-spray (ESI) sont effectuées sur un appareil Finnigan LCQ. Les pics sont donnés en *m/e* et leur intensité en pour-cent du pic de base. Si la technique d'ionisation n'est pas spécifiée, elle est par électro-spray; la valeur donnée entre parenthèse est celle se rapprochant le plus de la valeur mesurée et correspond à la formule brute de l'ion mesuré.

Les spectres de masse à haute résolution (HRMS) sont enregistrés en mode positif ou négatif sur un spectromètre Brucker FTMS 4.7T, BioapexII en mode ESI au service de MS UNI-Fribourg.

9.1.5. Analyses élémentaires :

Les analyses élémentaires CHN sont effectuées à l'ETH Zürich. Les pourcentages sont donnés pour chaque atome mesuré et la valeur calculée en fonction de la formule brute est indiquée entre parenthèses.

9.1.6. Point de fusion :

Les points de fusion sont mesurés dans un capillaire à point de fusion avec un appareil Büchi B 510 à bain d'huile. Les valeurs sont corrigées à l'aide d'une courbe d'étalonnage obtenue par mesure de différentes substances de références dont les points de fusion sont compris entre 68 et 212 °C.

9.2. Verrerie et produits :

9.2.1. Verrerie, agitation, système de chauffage et de refroidissement :

Les réactions en milieu anhydre, sont conduites sous une légère surpression d'azote ou d'argon et réalisées dans une verrerie lavée à l'acétone et séchée à l'étuve au moins 4h à 140°C. La verrerie est refroidie sous atmosphère d'argon. Les réactions sont agitées par des barreaux magnétiques recouverts de Téflon mus par un agitateur magnétique. Les réactions sont refroidies dans des bains NaCl-glace (~ -15°C) ou éthanol-azote liquide (réactions effectuées à -78°C ou -40°C) ; la température est mesurée avec un thermomètre à froid (graduations -100°C à +30°C ± 1°C). Les réactions à chaud et distillations, sont placées dans un bain d'eau lorsque la température est inférieure à 60°C et un bain d'huile minérale pour une température inférieure à 160°C. Les hydrogénations sont conduites sous pression de 3.9 bars d'hydrogène à l'aide d'un réacteur de type Parr-Hydrogenation Apparatus.

9.2.2. Produits :

Solvants standards :

Les solvants pour chromatographies ainsi que pour les extractions sont de qualité technique et sont distillés sur un agent dessiccant.

Solvant	Agent déshydratant
Acétate d'éthyle (AcOEt)	K ₂ CO ₃
Acétone	K ₂ CO ₃
Chloroforme (CHCl ₃)	K ₂ CO ₃
Dichlorométhane (CH ₂ Cl ₂)	K ₂ CO ₃
Diéthyléther	MgSO ₄
Ethanol (EtOH)	MgSO ₄
Ether de pétrole (Ligroïne)	CaCl ₂

Heptane	CaCl ₂
Hexane	CaCl ₂
Isopropanol	MgSO ₄
Méthanol (MeOH)	MgSO ₄
Pentane	CaCl ₂
Toluène	CaCl ₂

Les solvants des réactions sont des solvants de qualités puriss (Fluka ou SDS), de même les solvants de recristallisation sauf le tétrahydrofurane qui est de qualité technique et qui est distillé sur potassium en présence de benzophénone, de même pour l'éther diéthylique de qualité technique qui est séché et distillé sur LiAlH₄.

Produits chimiques :

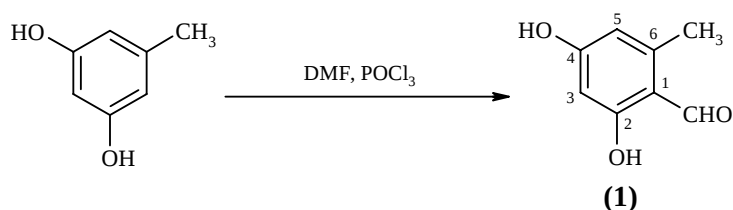
Produits chimiques	Qualité	Fournisseur
Acétaldéhyde	Purum	Fluka
Acétoacétate de méthyle	Puriss	Fluka
Acide chlorhydrique	32 %	-
Acide 3-chloroperbenzoïque (<i>m</i> -CPBA).	Pract. 70%	Fluka
Acide perchlorique	Purum~70%	Fluka
Acide sulfurique	96 %	Fluka
1,3-Acétonedicarboxylate de diéthyle	Purum	Fluka
Acétonitrile sur tamis moléculaire	Puriss	Fluka
Alcool benzylique	99%	Acros
Ammoniaque	24 %	-
Anhydride acétique	Purum	Fluka
Azobisisobutyronitrile	Purum	Fluka
Azote 50	Technique	Carbagas
Benzophénone	Purum	Fluka
Borohydrure de sodium (NaBH ₄)	Purum	Fluka
Bromate de potassium	Purum	Fluka
Brome	Purum	Fluka

Bromoacétate d'éthyle	Purum	Fluka
N-bromosuccinimide	Purum	Fluka
Bromure de benzyle	Purum	Fluka
<i>tert</i> -Butanol	Purum	Fluka
<i>n</i> -Butyllithium 1.6 M (hexane)	Pract.	Fluka
<i>n</i> -Butyllithium 2.5 M (hexane)	-	Acros
<i>t</i> -Butylméthyléther	99%	Acros
Carbonate de diméthyle	Purum	Fluka
Carbonate de potassium anhydre	Technique	-
Chlorite de sodium	Puriss	Fluka
Chlorure d'acétyle	Puriss	Fluka
Chlorure d'ammonium	Technique	-
Chlorure de calcium déshydraté (granulé)	Technique	-
Chlorure de méthoxyméthane	Technique	Aldrich
Chlorure de sodium	Technique	-
Chlorure de thionyle (SOCl ₂)	Puriss	Fluka
Chlorure de triméthylsilane (TMSCl)	Purum	Fluka
Chlorométhyle de triméthylsilane (TMSCl)	Purum	Fluka
Diisopropylamide de lithium (LDA) (2M dans THF hexane / éthylbenzène)	Pract.	Fluka
Diisopropylamine	Purum	Fluka
4-Diméthylaminopyridine (DMPA)	Puriss	Fluka
Diméthyl formamide (DMF)	Puriss	Fluka
Oxyde d'argent (I)	Purum	Fluka
Formiate de sodium	99%	Acros
Hexaméthylphosphoramide (HMPA)	Purum	Fluka
Hydroquinone	99%	Acros
Hydrogène	-	Carbagas
Hydrogénocarbonate de potassium (KHCO ₃)	Technique	-
Hydrogénocarbonate de sodium (NaHCO ₃)	Technique	-
Hydrogénosulfate de sodium (NaHSO ₄)	92%	Acros
Hydroxyde de potassium	Technique	-
Hydroxyde de sodium	Technique	-

Hydruure de lithium et aluminium (LiAlH ₄)	Purum	Fluka
Hydruure de sodium (NaH) en suspension sur graisse	55-65 %	Fluka
Iodométhane	Purum	Fluka
Iodotriméthylsilane	Purum	Fluka
<i>N</i> -méthoxy- <i>N</i> -méthylacétamide	98%	Acros
Tétraméthyl ethylène diamine (TMEDA)	Puriss	Fluka
Tribromure de bore	Purum	Fluka
Trichlorure de bore	Purum	Fluka
Triéthylamine	Purum	Fluka
Orcinol monohydraté	99%	Acros
Orthoformate de triméthyle	Purum	Fluka
Orthophosphate de sodium dihydraté	p.a.	Acros
Oxychlorure de phosphore (POCl ₃)	Purum	Fluka
Palladium sur charbon actif (10%)	Puriss	Fluka
Pentachlorure de phosphore	Purum	Fluka
Potassium	Purum	Fluka
Pyridine	Purum	Fluka
Silica Gel FluoroFlash [®] 40 µm	-	Fluka
Sodium	-	Fluka
Sulfate de diéthyle	98%	Aldrich
Sulfate de diméthyle	99%	Aldrich
Sulfate de magnésium	Technique	-
Sulfite de sodium	Puriss	Fluka
Sulfoxyde de diméthyle (DMSO)	Purum	Fluka
Tamis moléculaire 4Å	-	-
Tetrachlorure de carbone	Puriss	Fluka
2,2,6,6-Tétraméthylpiperidine (HTMP)	98%	Acros
Tribromure de bore	Purum	Fluka
Triéthylamine	Purum	Fluka

9.3. Synthèse des 8-hydroxy-6-méthoxy-3-méthylisocoumarine (7) et 6,8-dihydroxy-3-méthylisocoumarine (8) :

Synthèse du 2,4-dihydroxy-6-méthylbenzaldéhyde (1) :



Dans un tricol de 250 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 20 ml de DMF (0.267 mol) sont placés et refroidis à 5°C à l'aide d'un bain de glace. Ensuite, 8.45 ml de POCl₃ (0.093 mol) sont ajoutés goutte à goutte *via* une seringue sous vive agitation. En parallèle, 5 g d'orcinol monohydraté (0.031 mol) sont solubilisés dans 20 ml de DMF (0.267 mol) et ajoutés lentement à la solution précédente à la même température. A la fin de l'addition, le milieu réactionnel est porté à température ambiante durant 4 heures. Puis, il est refroidi et basifié à l'aide d'une solution aqueuse de NaOH à 10% jusqu'à pH = 9-10 provoquant l'apparition d'un précipité solide blanc. Le mélange réactionnel est par la suite chauffé à reflux pendant 10 minutes puis refroidi et acidifié à l'aide d'une solution aqueuse de HCl à 10% jusqu'à pH = 3 et l'apparition d'un précipité solide jaune. Ce dernier est filtré sur Büchner, lavé à l'eau jusqu'à pH neutre puis séché à l'air. On recueille 3.5 g de 2,4-dihydroxy-6-méthylbenzaldéhyde (76%).

Données analytiques :

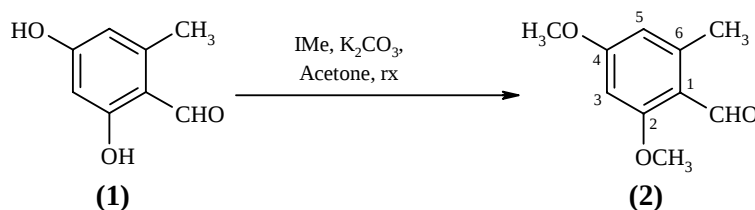
C₈H₈O₃ (152.15). Solide jaune. P_f 179°C. R_f (Et₂O/Ligroïne : 1/1 ; UV) 0.36.

¹H-NMR (400MHz, Acétone-d₆, 298K) : 2.53 (s, 3H, CH₃) ; 6.19 (d, J_m = 2.3, 1H, ArH-3) ; 6.30 (d, J_m = 2.3, 1H, ArH-5) ; 9.55 (br, 1H, OH-2) ; 10.1 (s, 1H, CHO) ; 12.49 (s, 1H, OH-4).

¹³C-NMR (100Hz, Acétone-d₆, 298K, HETCOR-SR) : 17.71 C(CH₃) ; 100.94 C(3) ; 111.05 C(5) ; 113.31 C(1) ; 145.56 C(6) ; 165.75 C(2) ; 166.75 C(4) ; 193.76 C(CHO).

MS (ESI⁽⁻⁾) : ms 151.1 [M-H]⁻.

IR (KBR) : 3120br, 2926w, 1626vs, 1604s, 1482s, 1464m, 1300s, 1275s, 1231s, 1205m, 1168vs, 872w, 832w, 722w.

Synthèse du 2,4-diméthoxy-6-méthylbenzaldéhyde (2) :

Dans un bicol de 500 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et sous atmosphère d'argon, 3.54 g de dihydroxybenzaldéhyde **1** (0.023mol) sont dissous sous agitation dans 140 ml d'acétone. 21.4 g de K_2CO_3 anhydre (0.155 mol) et 16.95 ml de IMe (0.273 mol) sont ajoutés puis porté à reflux pendant une nuit. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide d'un éluant (Et_2O /Ligroïne : 7/5 ; UV). A la fin de la réaction, un gros précipité blanc formé est filtré puis rincé à l'acétone. L'excès de IMe est évaporé, le résidu est dilué à l'eau puis extrait 6 fois à l' Et_2O . Les phases organiques rassemblées sont séchées au Na_2SO_4 anhydre, filtrées, puis concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 4.19 g de 2,4-diméthoxy-6-méthylbenzaldehyde (99.8%) sous forme de solide beige.

Données analytiques :

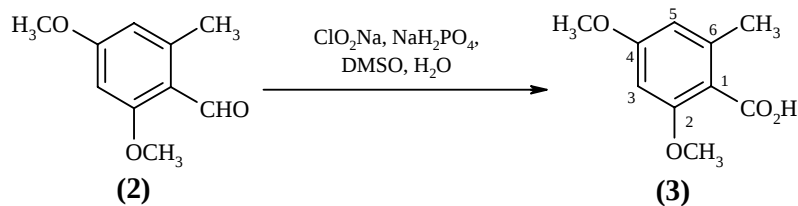
$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3$ (180.21). Solide beige. P_f 62°C. R_f (Et_2O /Ligroïne : 7/5 ; UV) 0.49.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , 298K) : 2.57 (s, 3H, CH_3) ; 3.84 (s, 3H, OCH_3) ; 3.86 (s, 3H, OCH_3) ; 6.30 (m, 2H, ArH) ; 10.47 (s, 1H, CHO).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR) : 22.63 C(CH_3) ; 55.78 C(OCH_3) ; 56.11 C(OCH_3) ; 96.10 C(3) ; 109.20 C(5) ; 117.69 C(1) ; 144.99 C(6) ; 164.83 C(2) ; 165.56 C(4) ; 190.83 C(CHO).

MS ($\text{ESI}^{(+)}$) : ms 181.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR (KBR) : 2968vw, 2786vw, 1672vs, 1606vs, 1574s, 1463w, 1439w, 1330s, 1320s, 1207s, 1155vs, 1098m, 841w, 826w.

Synthèse de l'acide 2,4-diméthoxy-6-méthylbenzoïque (3) :

Dans un bicol de 250 ml muni, d'un système d'agitation magnétique et d'un thermomètre, 5.44 g de diméthoxybenzaldéhyde **2** (0.030 mol) sont solubilisés sous agitation dans 87 ml de DMSO. Une solution aqueuse de 9.08 g de NaH₂PO₄ (0.0756 mol) dans 11.35 ml d'eau est ensuite ajoutée puis le tout est refroidi à 10°C à l'aide d'un bain de glace. A cela, une solution aqueuse de 6.58 g de NaClO₂ (0.0756 mol) dans 43.5 ml d'eau est ajoutée sous vive agitation. Le mélange réactionnel est ensuite porté à température ambiante sous agitation toute la nuit. A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est basifié par addition d'une solution aqueuse de Na₂CO₃ saturée puis extrait une fois à l'AcOEt. La phase aqueuse récupérée est par la suite acidifiée par du HCl concentré jusqu'à pH = 2 et l'apparition d'un précipité solide blanc. Ce dernier est filtré sur Büchner, lavé à l'eau jusqu'à pH neutre puis séché à l'aire. On recueille 4.75 g de l'acide 2,4-diméthoxy-6-méthylbenzoïque (80%).

Données analytiques :

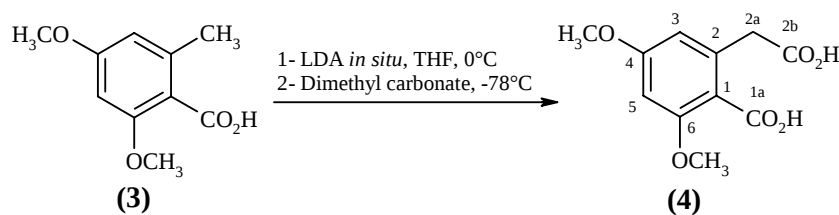
C₁₀H₁₂O₄ (196.2). Solide blanc. P_f 142°C. R_f (EtOH/Hexane : 3/1 ; UV) 0.56.

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, 298K) : 2.53 (s, 3H, CH₃) ; 3.84 (s, 3H, OCH₃) ; 3.92 (s, 3H, OCH₃) ; 6.38 (d, *J_m* = 2.3, 1H, ArH-3) ; 6.42 (d, *J_m* = 2.3, 1H, ArH-5) ; 10.06 (br, 1H, COOH).

¹³C-NMR (100Hz, CDCl₃, 298K, HETCOR-SR/LR) : 22.54 C(CH₃) ; 55.81 C(OCH₃) ; 56.79 C(OCH₃) ; 96.87 C(3) ; 109.08 C(5) ; 113.23 C(1) ; 143.45 C(6) ; 159.84 C(2) ; 162.60 C(4) ; 190.83 C(COOH).

MS (ESI⁽⁻⁾) : ms 195.0 [M-H]⁻.

IR (KBR) : 3435br, 2972w, 2849w, 1681vs, 1601vs, 1438w, 1422w, 1286s, 1164s, 1088m, 951w, 826m, 612w.

Synthèse de l'acide 4,6-diméthoxyhomophthalique (4) :

Dans un bicol de 250 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 10.33 ml de $(i\text{Pr})_2\text{NH}$ (0.072 mol) sont ajoutés à 25 ml de THF sec puis porté à 0°C sous agitation. Ensuite, 45.5 ml de $n\text{-BuLi}$ (1.6 M dans l'hexane) (0.072 mol) sont ajoutés goutte à goutte. Après 10 minutes d'agitation, le milieu réactionnel est refroidi à -78°C à l'aide d'un bain EtOH/azote liquide. Après 10 minutes, une solution de 3.57 g de monoacide **3** (0.0182 mol) et 3.67 ml de Me_2CO_3 (0.0436 mol) solubilisés dans 25 ml de THF sec est ajoutée très lentement et sous contrôle permanent de la température. A la fin de l'addition, le bain de refroidissement est retiré et le mélange réactionnel est agité pendant 4h à température ambiante puis hydrolysé avec 30 ml d'eau. Après 16h de réactivité, le THF est évaporé et le résidu est extrait 2 fois à l' Et_2O . La phase aqueuse résultante est acidifiée par du HCl 1N puis extraite 6 fois à l'AcOEt. Les phases organiques rassemblées sont séchées au Na_2SO_4 anhydre, filtrées, puis concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le solide jaune pâle obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$: 1/1. On recueille alors 2.27 g de l'acide 4,6-diméthoxyhomophthalique (52%).

Données analytiques :

$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_6$ (240.21). Solide blanc. R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 2/1 ; UV) 0.35.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, Acétone- d_6 , 298K) : 3.79 (s, 2H, CH_2) ; 3.86 (s, 3H, OCH_3) ; 3.90 (s, 3H, OCH_3) ; 6.58 (d, $J_m = 2.3$, 1H, ArH-5) ; 6.61 (d, $J_m = 2.3$, 1H, ArH-3).

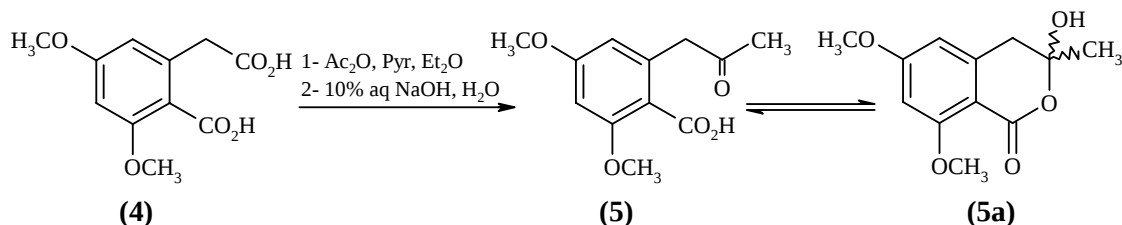
$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, Acétone- d_6 , 298K, HETCOR-SR) : 39.48 C(2a) ; 55.36 C(OCH_3) ; 56.03 C(OCH_3) ; 97.58 C(3) ; 109.05 C(5) ; 116.02 C(1) ; 137.22 C(2) ; 159.50 C(6) ; 162.28 C(4) ; 167.86 C(1a) ; 171.53 C(2b).

MS ($\text{ESI}^{(-)}$) : ms 239.0 $[\text{M-H}]^-$.

IR (KBR) : 3432br, 2924vs, 1711vs, 1607vs, 1438s, 1284vs, 1085s, 938m, 825w, 643w.

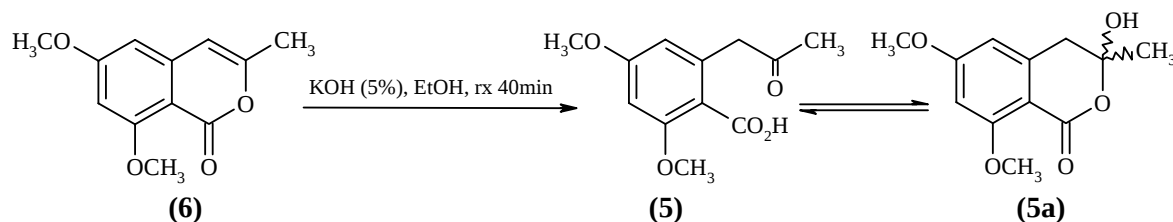
Synthèse de l'acide 2,4-diméthoxy-6-(2-oxopropyl)benzoïque ou la 6,8-diméthoxy-3-hydroxy-3-méthyl-3,4-dihydroisocoumarine (5) :

Méthode a :



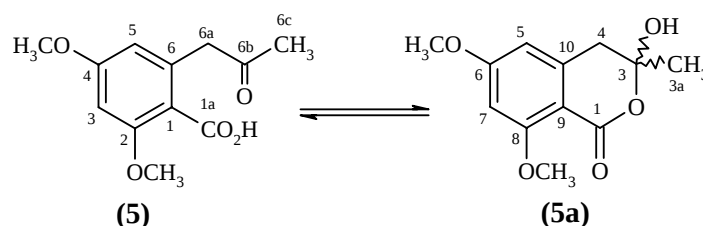
Dans un ballon de 250 ml muni d'un système d'agitation magnétique et sous atmosphère d'argon, 1.75 g de l'acide homophthalique **4** (7.32 mmol) sont solubilisés dans 8 ml de Ac₂O (84.95 mmol). Ensuite, 1.4 ml de pyridine (17.57 mmol) sont ajoutés lentement et sous vive agitation. Après 2 minutes, la solution brune se transforme progressivement en un bloque de solide beige. Le milieu est par la suite dilué à l'Et₂O sec puis agité toute la nuit. Le solide formé est filtré, rincé à l'Et₂O puis transféré dans un bicol de 250 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et d'un thermomètre. Il est ensuite dilué à l'eau (65 ml), chauffé progressivement jusqu'à 60°C puis basifié à l'aide d'une solution aqueuse de NaOH à 10% jusqu'à pH = 11 suivie de la dissolution totale du solide. Le chauffage est prolongé durant 30 minutes à 60°C. Le mélange est ensuite refroidi, acidifié à l'aide d'une solution aqueuse de HCl à 10% jusqu'à pH = 2, puis extrait 4 fois à l'AcOEt. Les phases organiques rassemblées sont séchées au Na₂SO₄ anhydre, filtrées, puis concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. Un solide beige est obtenu, puis purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant CH₂Cl₂/AcOEt : 10/1. On recueille alors, 1.08 g de l'acide 2,4-diméthoxy-6-(2-oxopropyl)benzoïque (62%).

Méthode b :



Dans un bicol de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique et d'un réfrigérant, 23.6 mg de la 6,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine **6** (0.107 mmol) sont solubilisés sous agitation dans 2 ml d'EtOH. Ensuite, 3.54 ml d'une solution aqueuse de KOH à 5% (3.32 mmol) sont ajoutés lentement puis chauffés à reflux pendant 40 minutes. L'évolution de la

réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 15/2 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est refroidi à température ambiante et l'excès de l'EtOH est distillé à l'évaporateur rotatif. Le mélange est ensuite dilué à l'eau glacée, acidifié à l'aide du HCl 1N puis extrait 3 fois au CH_2Cl_2 . Les phases organiques rassemblées sont séchées au Na_2SO_4 anhydre, filtrées, puis concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 13.9 mg de l'acide 2,4-diméthoxy-6-(2-oxopropyl)benzoïque (55%).



Données analytiques :

$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_5$ (238.24). Solide beige. Composition dans CDCl_3 (céto-acide) 85% : (lactol) 15%. R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 15/2 ; UV) 0.68.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , 298K) : 1.72 (s, 3H, CH_3 -lactol) ; 2.33 (s, 3H, CH_3 -cétoacide) ; 3.07 (d, $J_{AB} = 16$, 1H-A, CH_2 -lactol) ; 3.20 (d, $J_{BA} = 16$, 1H-B, CH_2 -lactol) ; 3.87 (s, 3H, OCH_3) ; 4.03 (s, 3H, OCH_3) ; 4.08 (s, 2H, CH_2 -cétoacide) ; 6.36 (s, 1H, ArH-7-lactol) ; 6.43 (d, $J_m = 2$, 2H, ArH-3-cétoacide et ArH-5-lactol) ; 6.52 (d, $J_m = 2$, 1H, ArH-5-cétoacide).

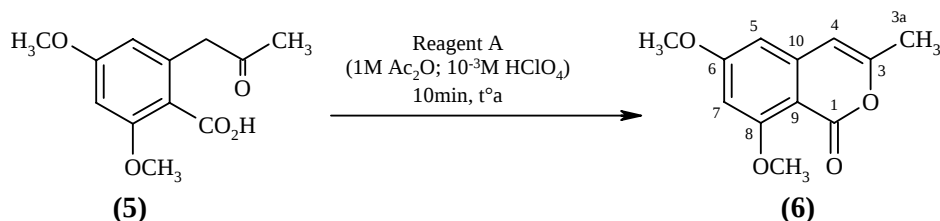
$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR) : 28.46 C(3a-lactol) ; 30.47 C(6c-cétoacide) ; 40.45 C(4-lactol) ; 51.28 C(6a-cétoacid) ; 56.00 C(OCH_3) ; 57.33 C(OCH_3) ; 98.37 C(5) ; 100.84 C(1-cétoacide, 9-lactol) ; 105.42 C(7-lactol) ; 110.40 C(3-lactol) ; 112.14 C(3-cétoacide) ; 143.26 C(6-cétoacide, 10-lactol) ; 160.73 C(CO-1-lactol) ; 163.45 C(ArC-O) ; 165.15 C(ArC-O) ; 166.07 C(CO-1a-cétoacide) ; 206.05 C(CO-6b-cétoacide).

MS ($\text{ESI}^{(-)}$) : "cétoacide" ms 237.0 $[\text{M-H}]^-$; ms 193.2 $[\text{M-CO}_2\text{H}]^-$; ms 151.2 $[\text{M-CO}_2\text{H-COCH}_3+\text{H}]^-$; ms 136.3 $[\text{M-CO}_2\text{H-COCH}_3-\text{CH}_3+\text{H}]^-$.

MS ($\text{ESI}^{(+)}$) : "lactol" ms 261.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; ms 239.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ms 221.2 $[\text{M-H}_2\text{O}+\text{H}]^+$.

HR-MS ($\text{ESI}^{(+)}$) : ms 261.07355 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

IR (KBR) : 3362vs, 3015w, 1687vs, 1604vs, 1462vs, 1158vs, 1059vs, 841vs, 658m.

Synthèse de la 6,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (6) :

Dans un ballon de 250 ml muni d'un système d'agitation magnétique et sous atmosphère d'argon, 1.367 g du cétoacide **5** (5.738 mmol) sont solubilisés dans 150 ml d'une solution d'Ac₂O et HClO₄ dans l'AcOEt préparée selon la méthode d'Edwards & Rao. Le mélange est agité vigoureusement pendant 10 à 15 minutes puis lavé à l'aide d'une solution aqueuse de NaHCO₃ saturée. La phase organique est séchée au Na₂SO₄ anhydre, filtrée, puis concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. Un solide brun est obtenu, puis purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant CH₂Cl₂/AcOEt : 15/1. On recueille 1.20 g de la 6,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (95%).

Protocole de préparation de 150 ml du réactif A (1 M Ac₂O ; 10⁻³ M HClO₄) selon Edwards & Rao :

0.0501 ml de HClO₄ à 70% (0.575 mmol) sont dilués dans 50 ml d'AcOEt. 30 ml de cette solution sont ajoutés à une solution de 14.4 ml d'Ac₂O (0.153 mol) dans 105.6 ml AcOEt pour donner 150 ml du réactif A (1 M Ac₂O ; 10⁻³ M HClO₄).

Données analytiques :

C₁₂H₁₂O₄ (220.23). Solide brun. R_f (CH₂Cl₂/MeOH : 20/0.5 ; UV) 0.735.

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, 298K) : 2.16 (d, ⁴J_(3a-4) = 1, 3H, CH₃) ; 3.84 (s, 3H, OCH₃) ; 3.90 (s, 3H, OCH₃) ; 6.03 (q, ⁴J_(4-3a) = 1.0, 1H, H-4) ; 6.24 (d, J_m = 2.3, 1H, ArH-5) ; 6.36 (d, J_m = 2.3, 1H, ArH-7).

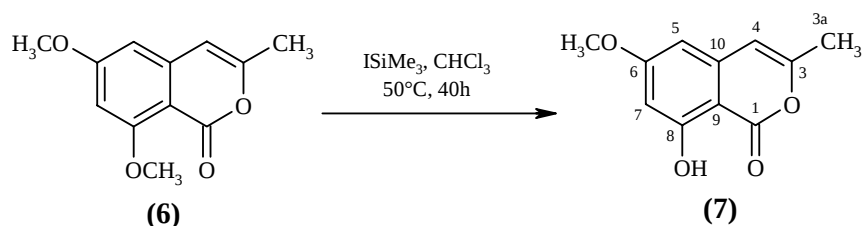
¹³C-NMR (100Hz, CDCl₃, 298K, HETCOR-SR/LR) : 19.82 C(3a) ; 55.97 C(OCH₃) ; 56.59 C(OCH₃) ; 98.46 C(7) ; 99.80 C(5) ; 103.04 C(9) ; 104.08 C(4) ; 142.80 C(10) ; 155.79 C(3) ; 159.97 C(1) ; 163.56 C(8) ; 165.75 C(6).

MS (ESI⁽⁺⁾) : ms 243.1 [M+Na]⁺ ; ms 221.3 [M+H]⁺.

HR-MS (ESI⁽⁺⁾) : ms 243.06256 [M+Na]⁺.

IR (KBR) : 3090vw, 1713vs, 1667m, 1599vs, 1168m, 1057w, 969m, 828w.

Analyses élémentaires : calculées C 65.45, H 5.49 ; trouvées C 65.16, H 5.51.

Synthèse de la 8-hydroxy-6-méthoxy-3-méthylisocoumarine (7) :

Dans un tricol de 250 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 0.7 g de la diméthoxyisocoumarine **6** (3.178 mmol) sont solubilisés dans une solution de 1.25 ml de ISiMe_3 (9.15 mmol) dans 150 ml de CHCl_3 . Ensuite, le mélange réactionnel est chauffé à 50°C pendant 40 heures. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant (Hexane/AcOEt : 2/1 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est refroidi à température ambiante puis lavé une fois à l'aide d'une solution aqueuse de NaHCO_3 saturée. La phase aqueuse résultante est extraite 3 fois au CH_2Cl_2 . Les phases organiques rassemblées sont ensuite séchées au Na_2SO_4 anhydre, filtrées, puis concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. Un solide blanc est obtenu, puis purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant Hexane/AcOEt : 10/1. On recueille 0.6 g de la 8-hydroxy-6-méthoxy-3-méthylisocoumarine (92%).

Données analytiques :

$\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4$ (206.2). Solide blanc. R_f (Hexane/AcOEt : 2/1 ; UV) 0.33.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , 298K) : 2.23 (d, $^4J_{(3a-4)} = 1.0$, 3H, CH_3) ; 3.84 (s, 3H, OCH_3 -6) ; 6.15 (q, $^4J_{(4-3a)} = 1.0$, 1H, H-4) ; 6.27 (d, $J_m = 2.3$, 1H, ArH-5) ; 6.43 (d, $J_m = 2.3$, 1H, ArH-7) ; 11.08 (s, 1H, OH-8).

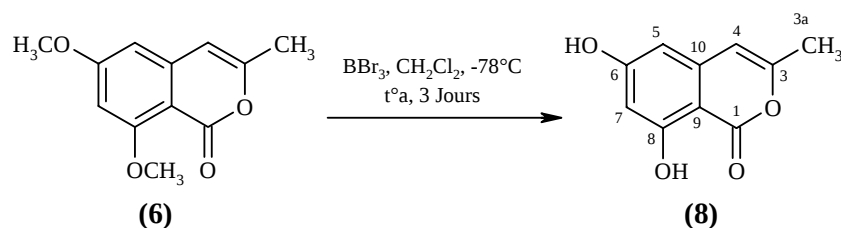
$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR/LR) : 19.79 C(3a) ; 56.03 C(OCH_3) ; 100.11 C(9) ; 100.55 C(7) ; 101.29 C(5) ; 104.96 C(4) ; 139.81 C(10) ; 154.66 C(3) ; 163.97 C(8) ; 166.73 C(1) ; 167.16 C(6).

MS ($\text{EI}^{(+)}$) : ms 206.7 $[\text{M}]^+$.

HR-MS ($\text{ESI}^{(+)}$) : ms 229.04725 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

IR (KBR) : 3435br, 3020vw, 1684vs, 1642s, 1166vs, 1079m, 832w, 686w.

Analyses élémentaires : calculées C 64.08, H 4.89 ; trouvées C 62.27, H 5.03.

Synthèse de la 6,8-dihydroxy-3-méthylisocoumarine (8) :

Dans un tricol de 250 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 0.7 g de la diméthoxyisocoumarine **6** (3.178 mmol) sont solubilisés dans 60 ml de CH_2Cl_2 sec puis porté à -78°C sous agitation à l'aide d'un bain EtOH/azote liquide. Ensuite, 28 ml de BBr_3 (1M dans CH_2Cl_2) (27.96 mmol) sont ajoutés goutte à goutte. A la fin de l'addition, le bain de refroidissement est retiré et le mélange réactionnel est agité pendant 3 jours à température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant (Hexane/AcOEt : 2/1 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est dilué à l' Et_2O puis lavé à l'eau. La phase organique résultante est ensuite séchée au Na_2SO_4 anhydre, filtrée, puis concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. Un solide brun est obtenu, puis purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 10/1. On recueille 0.52 g de la 6,8-dihydroxy-3-méthylisocoumarine (85%).

Données analytiques :

$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$ (192.17). Solide brun. R_f (Hexane/AcOEt : 2/1 ; UV) 0.39.

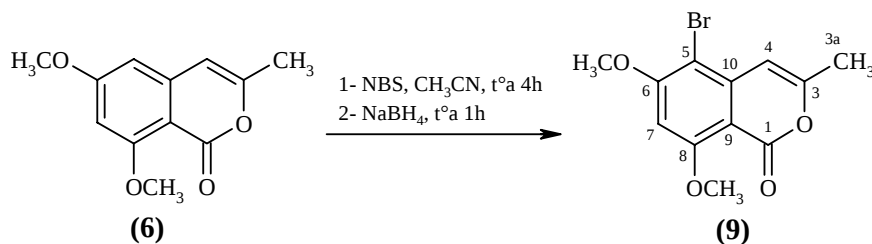
$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, Acétone- d_6 , 298K) : 2.22 (d, $^4J_{(3a-4)} = 1.0$, 3H, CH_3) ; 6.36 (q, $^4J_{(4-3a)} = 1.0$, 1H, H-4) ; 6.37 (d, $J_m = 3$, 1H, ArH-7) ; 6.38 (d, $J_m = 3$, 1H, ArH-5) ; 9.67 (s, 1H, OH-6) ; 11.14 (s, 1H, OH-8).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, Acétone- d_6 , 298K, HETCOR-SR/LR) : 18.78 C(3a) ; 99.07 C(9) ; 101.62 C(7) ; 102.66 C(5) ; 104.56 C(4) ; 140.49 C(10) ; 154.80 C(3) ; 164.06 C(8) ; 165.84 C(6) ; 166.51 C(1).

MS ($\text{ESI}^{(-)}$) : ms 191.1 $[\text{M-H}]^-$; ms 192.2 $[\text{M}]^-$.

HR-MS ($\text{ESI}^{(+)}$) : ms 215.03123 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

IR (KBR) : 3223br, 2980vw, 1674vs, 1626vs, 1181vs, 1076w, 868w, 697m.

Synthèse de la 5-bromo-6,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (9) :

Dans un ballon de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique et sous atmosphère d'argon. 28 mg de NBS (0.158 mmol) sont ajoutés sous agitation à une solution de 30 mg de la diméthoxyisocoumarine **6** (0.136 mmol) solubilisés dans 1.5 ml de CH_3CN . Ensuite, le mélange est agité durant 2 heures à température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/2 ; UV). L'addition, par la suite, de 5.2 mg de NaBH_4 (0.136 mmol) transforme le mélange en suspension, en une solution jaune homogène qui devient blanchâtre au fil du temps. Après 1 heure de réaction, le milieu est dilué à l'eau puis extrait 5 fois à l'AcOEt. Les phases organiques rassemblées sont ensuite séchées au Na_2SO_4 anhydre, filtrées, puis concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. Un solide blanc est obtenu, puis purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 20/1. On recueille 30 mg de la 5-bromo-6,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (74%).

Données analytiques :

C₁₂H₁₁BrO₄ (299.12). Solide blanc. R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/2 ; UV) 0.26.

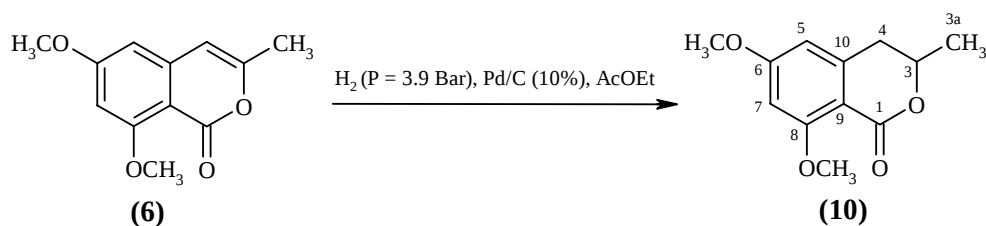
$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , 298K) : 2.26 (d, $^4J_{(3a-4)} = 0.8$, 3H, CH_3) ; 4.02 (s, 6H, $2 \times \text{OCH}_3$) ; 6.45 (s, 1H, ArH-7) ; 6.58 (q, $^4J_{(4-3a)} = 0.8$, 1H, H-4).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR) : 20.31 C(3a) ; 56.80 C(OCH_3) ; 56.90 C(OCH_3) ; 94.67 C(7) ; 98.47 C(5) ; 102.73 C(4) ; 103.56 C(9) ; 140.41 C(10) ; 156.86 C(3) ; 159.28 C(1) ; 161.67 C(8) ; 163.37 C(6).

MS ($\text{ESI}^{(+)}$) : ms 299.1 [$\text{M}^{(79}\text{Br})+\text{H}$] $^+$, ms 301.1 [$\text{M}^{(81}\text{Br})+\text{H}$] $^+$.

HR-MS ($\text{ESI}^{(+)}$) : ms 320.97315 [$\text{M}^{(79}\text{Br})+\text{Na}$] $^+$, ms 322.97144 [$\text{M}^{(81}\text{Br})+\text{Na}$] $^+$.

IR (KBR) : 2921vw, 1724vs, 1667s, 1580vs, 1215vs, 1038m, 972w, 816w.

Synthèse de la 6,8-diméthoxy-3-méthyl-3,4-dihydroisocoumarine (10) :

Une solution de 55 mg de la diméthoxyisocoumarine **6** (0.249 mmol) et 0.11 g de Pd/C à 10% (0.05 mmol) solubilisés dans 9.5 ml d'AcOEt sec est agitée dans un hydrogèneateur sous une pression de 3.9 Bar et à température ambiante pendant 24 heures. A la fin de la réaction, le catalyseur noir en suspension est filtré sur Céelite puis rincé plusieurs fois à l'AcOEt. Le filtrat résultant est par la suite concentré à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 45 mg de la 6,8-diméthoxy-3-méthyl-3,4-dihydroisocoumarine (82%) sous forme de solide blanc.

Données analytiques :

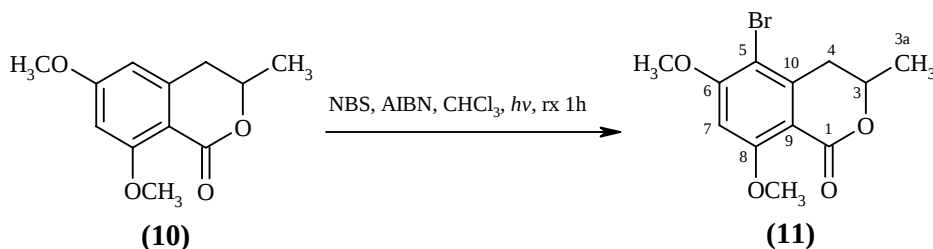
C₁₂H₁₄O₄ (222.24). Solide blanc. R_f (CH₂Cl₂/AcOEt : 15/2 ; UV) 0.27.

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, 298K) : 1.43 (*d*, $^3J_{(3a-3)} = 6.3$, 3H, CH₃-3a) ; 2.77 (*dd*, $J_{AX} = 3.5$, $J_{AB} = 16.1$, 1H-A, CH₂-4) ; 2.84 (*dd*, $J_{BX} = 10.7$, $J_{AB} = 16.1$, 1H-B, CH₂-4) ; 3.84 (*s*, 3H, OCH₃) ; 3.89 (*s*, 3H, OCH₃) ; 4.49 (*dqd*, $J_{XB} = 10.7$, $^3J_{(3-3a)} = 6.3$, $J_{XA} = 3.5$, 1H-X, CH-3) ; 6.28 (*d*, $J_m = 2.3$, 1H, ArH-5) ; 6.38 (*d*, $J_m = 2.3$, 1H, ArH-7).

¹³C-NMR (100Hz, CDCl₃, 298K, HETCOR-SR) : 21.03 C(3a) ; 36.91 C(4) ; 55.92 C(OCH₃) ; 56.51 C(OCH₃) ; 73.91 C(3) ; 98.15 C(7) ; 104.25 C(5) ; 107.14 C(9) ; 144.25 C(10) ; 163.12 C(1) ; 163.50 C(8) ; 164.75 C(6).

MS (APCI⁽⁺⁾) : *m/z* 223.1 [M+H]⁺.

IR (KBR) : 2977w, 2845vw, 1704vs, 1603vs, 1580s, 1464s, 1216m, 1039m, 937w, 822w.

Synthèse de la 5-bromo-6,8-diméthoxy-3-méthyl-3,4-dihydroisocoumarine (11) :

Dans un bicol de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant, d'une lampe UV-180W et sous atmosphère d'argon, 28.7 mg de la 3,4-dihydroisocoumarine **10** (0.129 mmol) sont dissous sous agitation dans 3 ml de CHCl_3 . Ensuite, 5 mg de AIBN (0.026 mmol) et 27.6 mg de NBS (0.155 mmol) sont ajoutés puis chauffés à reflux sous irradiation pendant 1 heure. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/2 ; UV). Après 10 minutes de reflux, un nouveau produit apparaissait mais pratiquement à la même hauteur que le produit de départ. A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est dilué au CH_2Cl_2 puis lavé à l'aide d'une solution aqueuse de NaCl saturée. La phase organique résultante est ensuite séchée au Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le résidu brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/1. On recueille 23 mg de la 5-bromo-6,8-diméthoxy-3-méthyl-3,4-dihydroisocoumarine (60%) sous forme de solide beige.

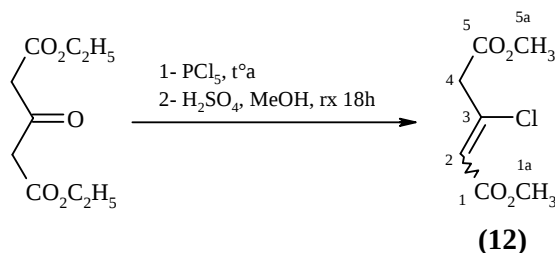
Données analytiques :

$\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{BrO}_4$ (301.14). Solide blanc. R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/2 ; UV) 0.3.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , 298K) : 1.50 (d, $^3J_{(3a-3)} = 6.3$, 3H, CH_3 -3a) ; 2.74 (dd, $J_{\text{AX}} = 11.6$, $J_{\text{AB}} = 16.8$, 1H-A, CH_2 -4) ; 3.24 (dd, $J_{\text{BX}} = 2.8$, $J_{\text{AB}} = 16.8$, 1H-B, CH_2 -4) ; 3.98 (s, 3H, OCH_3) ; 3.99 (s, 3H, OCH_3) ; 4.48 (dq, $J_{\text{XA}} = 11.6$, $^3J_{(3-3a)} = 6.3$, $J_{\text{XB}} = 2.8$, 1H-X, CH-3) ; 6.47 (s, 1H, ArH-7).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR) : 21.06 C(3a) ; 36.93 C(4) ; 56.83 C(2× OCH_3) ; 73.43 C(3) ; 95.63 C(7) ; 102.96 C(5) ; 108.35 C(9) ; 142.93 C(10) ; 160.81 C(1) ; 162.65 C(8) ; 162.97 C(6).

IR (KBR) : 2926vs, 2854m, 1711vs, 1587s, 1465m, 1338s, 1250vs, 1067vs, 939w, 811vw.

Synthèse du 3-chloro-pent-2-enedioate de diméthyle (12) :**Chloration :**

Dans un tricol de 50 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 6.87 g de PCl_5 (33 mmol) sont ajoutés par petite portion tous les 3 minutes sous vive agitation à 5 ml de 1,3-acétonedicarboxylate de diéthyle (27.5 mmol). A la fin de l'addition, le mélange réactionnel est chauffé sous agitation à 40°C dans un bain marie pendant 20 minutes. La solution rouge résultante est ensuite refroidie dans un bain de glace, diluée avec un mélange $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$: 1/1 puis extraite 3 fois au CH_2Cl_2 . Les phases organiques rassemblées sont séchées au Na_2SO_4 anhydre, filtrées, puis concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 5.34 g du dérivé chlorophosphoéther correspondant (§ 3.3.1) sous forme d'une huile rouge.

Trans-estérification :

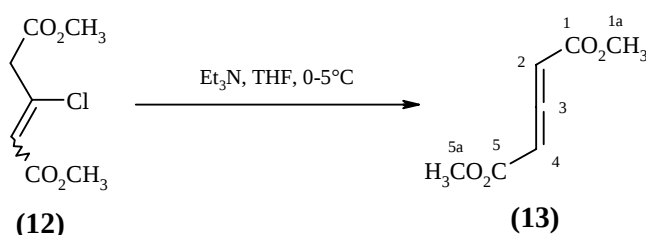
Dans un ballon de 100 ml muni d'un système d'agitation magnétique et d'un réfrigérant, 5.34 g de l'huile rouge résultante sont solubilisés dans une solution de 1.8 ml de H_2SO_4 dans 25 ml de MeOH puis portés à reflux pendant 18 heures. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide d'un éluant (Hexane/AcOEt : 5/2 ; UV). A la fin de la réaction, l'excès du MeOH est évaporé, le résidu est dilué à une solution aqueuse de NaCl saturée puis extrait 6 fois à l' Et_2O . Les phases organiques rassemblées sont lavées une fois à l'aide d'une solution aqueuse de NaHCO_3 saturée et une autre fois à une solution aqueuse de NaCl saturée puis séchées au Na_2SO_4 anhydre, filtrées et concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant Hexane/AcOEt : 10/1. On recueille 3.45 g de 3-chloro-pent-2-enedioate de diméthyle (65%) sous forme d'huile jaunâtre.

Données analytiques :

$C_7H_9ClO_4$ (192.6). Huile jaunâtre. Composition diastéréoisomérique (**E**) 89% : (**Z**) 11%. R_f (Hexane/AcOEt : 5/2 ; UV) 0.4.

1H -NMR (400MHz, $CDCl_3$, 298K) : 3.72 (s, 3H, OCH_3) ; 3.74 (s, 3H, OCH_3) ; 4.11 (s, 2H, CH_2 -4) ; 6.19 (s, 1H, $CH(Z)$ -2) ; 6.26 (s, 1H, $CH(E)$ -2).

^{13}C -NMR (100Hz, $CDCl_3$, 298K, HETCOR-SR) : 41.74 C(4) ; 52.10 C(OCH_3) ; 52.76 C(OCH_3) ; 120.30 C(2-Z) ; 122.03 C(2-E) ; 147.49 C(3) ; 164.94 C(1) ; 168.62 C(5).

Synthèse du penta-2,3-diénedioate de diméthyle (13) :

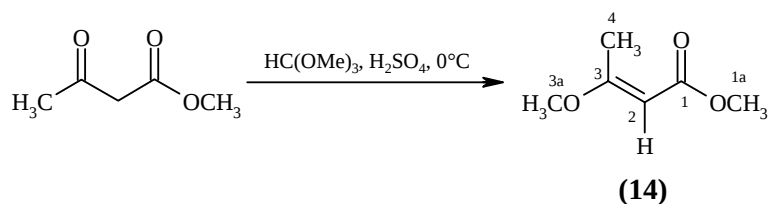
Dans un bicol de 50 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 3.44 g du dérivé chloré **12** (17.88 mmol) sont solubilisés dans 10 ml de THF sec puis porté à 0°C sous agitation à l'aide d'un bain de glace/NaCl. Ensuite, 3 ml de Et_3N (21.5 mmol) sont ajoutés goutte à goutte au mélange réactionnel puis agités pendant 4 heures à la même température jusqu'à la formation d'un précipité. Ce dernier est filtré sur Büchner puis lavé 3 fois à l' Et_2O . Le filtrat est ensuite lavé 3 fois à l'aide d'une solution aqueuse de HCl à 0.1N jusqu'à pH acide puis une fois à l'aide d'une solution aqueuse de NaCl saturée. La phase organique résultante est séchée au Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le résidu brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant Hexane/AcOEt : 20/1. On recueille 2.35 g de penta-2,3-diénedioate de diméthyle (85%) sous forme d'huile rouge.

Données analytiques :

$C_7H_8O_4$ (156.14). Huile rouge. R_f (Hexane/AcOEt : 10/1 ; UV) 0.23.

1H -NMR (400MHz, $CDCl_3$, 298K) : 3.79 (s, 6H, 2(OCH_3)) ; 6.06 (s, 2H, CH -2 et CH -4).

^{13}C -NMR (100Hz, $CDCl_3$, 298K, HETCOR-SR) : 53.02 C(1a et 5a) ; 92.57 C(2 et 4) ; 164.15 C(1 et 5) ; 220.13 C(3).

Synthèse du 3-méthoxy-but-2-énoate de méthyle (14) :

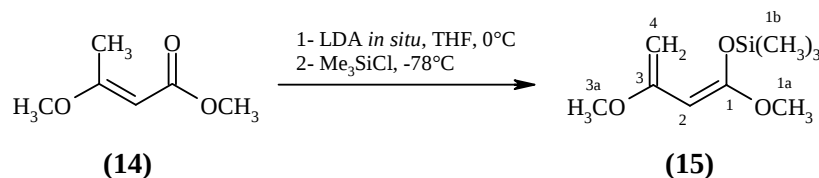
Dans un bicol de 50 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 6.04 ml de HC(OMe)₃ (55.26 mmol) sont ajoutés sous agitation à 5ml d'acétoacétate de méthyle. Le milieu réactionnel est ensuite refroidi à 0°C à l'aide d'un bain de glace/NaCl, puis, 0.1 ml de H₂SO₄ (1.87 mmol) sont additionnés goutte à goutte *via* une seringue. A la fin de l'addition, le mélange est porté à température ambiante sous agitation durant toute la nuit. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide d'un éluant (Hexane/AcOEt : 10/1 ; UV). A la fin de la réaction, la solution est filtrée sur du K₂CO₃ puis purifiée par distillation sous pression réduite 90-95°C (60 mmHg). On recueille 4.6 g de 3-méthoxy-but-2-énoate de méthyle (77%) sous forme d'huile incolore.

Données analytiques :

C₆H₁₀O₃ (130.14). Huile incolore. P_{éb} 90-95°C (60 mmHg). R_f (Hexane/AcOEt : 10/1 ; UV) 0.67.

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, 298K) : 2.27 (s, 3H, CH₃-4); 3.61 (s, 3H, OCH₃-3a) ; 3.65 (s, 3H, OCH₃-1a); 5.01 (s, 1H, CH-2).

¹³C-NMR (100Hz, CDCl₃, 298K, HETCOR-SR) : 19.20 C(4) ; 51.06 C(1a) ; 55.73 C(3a) ; 90.79 C(2) ; 168.65 C(1) ; 173.6 C(3).

Synthèse du (Z)-1,3-diméthoxy-1-[(triméthylsilyl)oxy]buta-1,3-diène (15) :

Dans un bicol de 250 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 3.13 ml de (iPr)₂NH (22 mmol) sont ajoutés à 20 ml de THF sec puis porté à 0°C sous agitation. Ensuite, 13.8 ml de *n*-BuLi (1.6 M dans l'hexane) (22 mmol) sont ajoutés goutte à goutte. Après 20 minutes d'agitation, le milieu réactionnel est refroidi à -

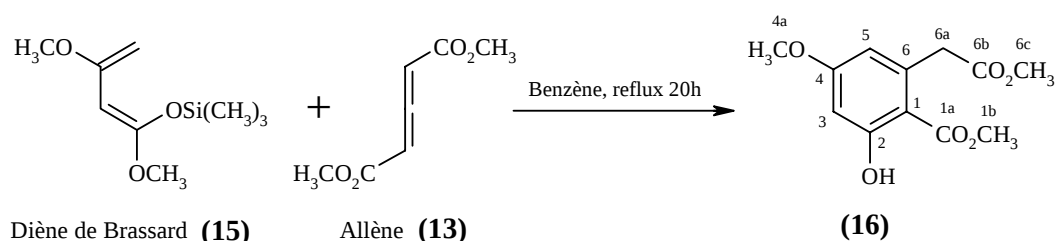
78°C à l'aide d'un bain EtOH/azote liquide. Après 10 minutes, une solution de 2.75 g de 3-méthoxy-but-2-énoate de méthyle (**14**) (21 mmol) solubilisés dans 5 ml de THF sec est ajoutée très lentement et sous contrôle permanent de la température. Après 20 minutes, 3.2 ml de Me₃SiCl (25.4 mmol) sont additionnés goutte à goutte et sous vive agitation. A la fin de l'addition, le bain de refroidissement est retiré et le mélange réactionnel est agité pendant 2h à température ambiante. La solution est diluée avec 30 ml de pentane, filtrée et rincée plusieurs fois sur Célite afin d'éliminer le précipité blanc préformé puis concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le résidu brut obtenu est purifié par distillation sous pression réduite (90-95°C/12 mmHg). On recueille 2.21 g de diène de Brassard (52%) sous forme d'huile incolore.

Données analytiques :

C₉H₁₈O₃Si (202.33). Huile incolore. P_{éb} 90-95°C (12 mmHg). R_f (Hexane/AcOEt : 20/3 ; UV) 0.76.

¹H-NMR (200MHz, CDCl₃, 298K) : 0.26 (s, 9H, Si(CH₃)₃-1b); 3.56 (s, 3H, OCH₃); 3.57 (s, 3H, OCH₃) ; 3.99 (dd, ²J_{4a-4b} = ⁴J_{4a-2} = 2, 1H, Ha-4) ; 4.03 (d, ²J_{4b-4a} = 2, 1H, Hb-4) ; 4.34 (d, ⁴J_{2-4a} = 2, 1H, H-2).

Synthèse du 2-hydroxy-4-méthoxy-6-méthoxycarbonylméthylbenzoate de méthyle (**16**) :



Dans un ballon de 100 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et sous atmosphère d'argon, 0.37 g de l'allène **13** (2.36 mmol) et 0.52 g du diène **15** (2.57 mmol) sont solubilisés dans 10 ml de benzène puis portés à reflux pendant 20 heures. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide d'un éluant (Et₂O/Ligroïne : 1/1 ; UV). A la fin de la réaction, le solvant est distillé à l'aide de l'évaporateur rotatif et le résidu est dissous dans une solution de (THF/HCl concentré : 10 ml/3 gouttes) sous agitation durant 20 minutes. Le mélange réactionnel est ensuite dilué à l'eau puis extrait 3 fois à l'Et₂O. Les phases organiques rassemblées sont lavées une fois à l'aide d'une solution aqueuse de NaCl saturée, séchées au Na₂SO₄ anhydre puis filtrées et concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le

résidu brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant Hexane/AcOEt : 10/1. On recueille 0.27 g de 2-hydroxy-4-méthoxy-6-méthoxycarbonylméthylbenzoate de méthyle (45%) sous forme de solide blanc.

Données analytiques :

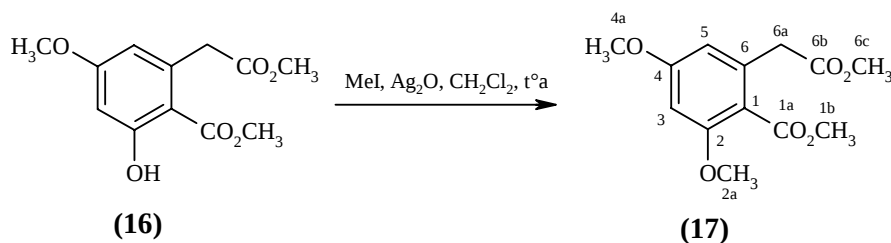
$C_{12}H_{14}O_6$ (254.24). Solide blanc. R_f (Et₂O/Ligroïne : 1/1 ; UV) 0.37.

¹H-NMR (200MHz, CDCl₃, 298K) : 3.69 (s, 3H, CO₂CH₃) ; 3.82 (s, 3H, CO₂CH₃) ; 3.83 (s, 2H, CH₂-6a) ; 3.86 (s, 3H, OCH₃-4a) ; 6.30 (d, J_m = 2.5, 1H, ArH) ; 6.43 (d, J_m = 2.5, 1H, ArH) ; 11.67 (s, OH-6).

MS (ESI⁽⁺⁾) : ms 277.0 [M+Na]⁺.

IR (KBR) : 3012w, 2953w, 1731vs, 1655vs, 1587s, 1434vs, 1335vs, 1264vs, 1165vs, 1002m, 953m, 854m, 615vw.

Synthèse du 2,4-diméthoxy-6-méthoxycarbonylméthylbenzoate de méthyle (17) :

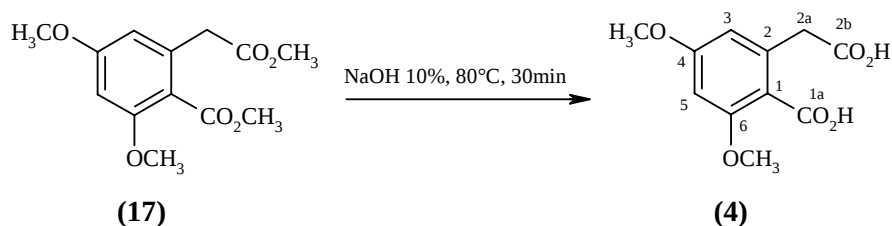


Dans un ballon de 50 ml muni d'un système d'agitation magnétique et sous atmosphère d'argon, 0.12 g du diester **16** (0.47 mmol) sont solubilisés dans 10 ml de CH₂Cl₂ puis 0.5 ml de MeI (8 mmol) et 1.2 g de Ag₂O(I) (5.17 mmol) sont ajoutés. Ensuite, le mélange réactionnel est agité à température ambiante en absence de lumière pendant 24 heures. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide d'un éluant (Et₂O/Ligroïne : 1/1 ; UV). A la fin de la réaction, le solide en suspension est filtré puis rincé plusieurs fois au CH₂Cl₂. Le filtrat est par suite concentré à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 0.13 g de 2,4-diméthoxy-6-méthoxycarbonylméthylbenzoate de méthyle (98%) sous forme de solide blanc.

Données analytiques :

$C_{13}H_{16}O_6$ (268.27). Solide blanc. R_f (Et₂O/Ligroïne : 1/1 ; UV) 0.22.

¹H-NMR (200MHz, CDCl₃, 298K) : 3.67 (s, 2H, CH₂-6a) ; 3.69 (s, 3H, CO₂CH₃) ; 3.82 (s, 3H, CO₂CH₃) ; 3.83 (s, 3H, OCH₃) ; 3.86 (s, 3H, OCH₃) ; 6.40 (d, J_m = 2.2, 1H, ArH) ; 6.42 (d, J_m = 2.2, 1H, ArH).

Synthèse de l'acide 4,6-diméthoxyhomophthalique (4) :

Dans un tricol de 100 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et d'un thermomètre, 0.13 g de diméthoxy-diester **17** (0.48 mmol) sont solubilisés dans 25 ml d'une solution aqueuse de NaOH à 10% puis chauffés sous agitation à 80°C durant 30 minutes. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide d'un éluant (CH₂Cl₂/MeOH : 2/1 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est refroidi dans un bain de glace, acidifié avec du HCl concentré jusqu'à pH = 2, puis dilué avec un mélange AcOEt/H₂O : 1/1. Après décantation, la phase aqueuse est extraite 3 fois à l'AcOEt. Les phases organiques rassemblées sont séchées au Na₂SO₄ anhydre, filtrées et concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 0.1 g de l'acide 4,6-diméthoxyhomophthalique (86%).

Données analytiques :

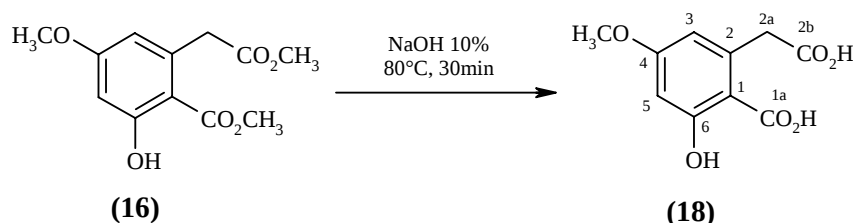
C₁₁H₁₂O₆ (240.21). Solide blanc. R_f (CH₂Cl₂/MeOH : 2/1 ; UV) 0.35.

¹H-NMR (400MHz, Acétone-d₆, 298K) : 3.79 (s, 2H, CH₂-2a) ; 3.86 (s, 3H, OCH₃) ; 3.90 (s, 3H, OCH₃) ; 6.58 (d, *J_m* = 2.3, 1H, ArH-5) ; 6.61 (d, *J_m* = 2.3, 1H, ArH-3).

¹³C-NMR (100Hz, Acétone-d₆, 298K, HETCOR-SR) : 39.48 C(2a) ; 55.36 C(OCH₃) ; 56.03 C(OCH₃) ; 97.58 C(3) ; 109.05 C(5) ; 116.02 C(1) ; 137.22 C(2) ; 159.50 C(6) ; 162.28 C(4) ; 167.86 C(1a) ; 171.53 C(2b).

MS (ESI⁽⁻⁾) : ms 239.0 [M-H]⁻.

IR (KBR) : 3432_{br}, 2924_{vs}, 1711_{vs}, 1607_{vs}, 1438_s, 1284_{vs}, 1085_s, 938_m, 825_w, 643_w.

Synthèse de l'acide 6-hydroxy-4-méthoxyhomophthalique (18) :

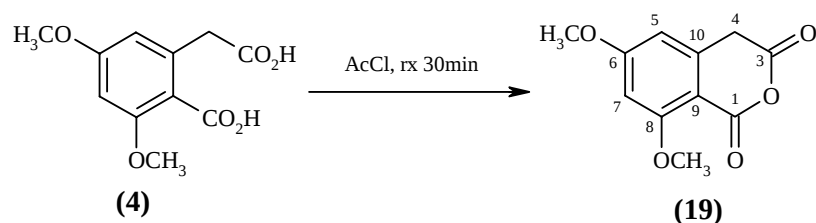
Dans un tricol de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et d'un thermomètre, 0.1 g de l'hydroxy-diester **16** (0.39 mmol) sont solubilisés dans 2 ml d'une solution aqueuse de NaOH à 10% puis chauffés sous agitation à 80°C durant 30 minutes. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide d'un éluant ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 2/1 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est refroidi dans un bain de glace, acidifié avec du HCl concentré jusqu'à $\text{pH} = 2$, puis dilué avec un mélange $\text{Et}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$: 1/1. Après décantation, la phase aqueuse est extraite 3 fois à l' Et_2O . Les phases organiques rassemblées sont séchées au Na_2SO_4 anhydre, filtrées et concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le résidu brut obtenu est purifié par recristallisation à de l'éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Acétone}$. On recueille 0.06 g de l'acide 6-hydroxy-4-méthoxyhomophthalique (68%).

Données analytiques :

$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_6$ (226.19). Cristaux incolores. P_f 188°C R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 2/1 ; UV) 0.32.

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, Acétone- d_6 , 298K) : 3.85 (s, 3H, OCH_3 -4) ; 3.97 (s, 2H, CH_2 -2a) ; 6.41 (d, $J_m = 2.5$, 1H, ArH) ; 6.45 (d, $J_m = 2.5$, 1H, ArH).

MS ($\text{ESI}^{(-)}$) : ms 225.0 $[\text{M-H}]^-$.

Synthèse de la 6,8-diméthoxyisochroman-1,3-dione (19) :

Dans un ballon de 50 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et sous atmosphère d'argon, 0.1 g de l'acide homophthalique **4** (0.41 mmol) sont solubilisés dans 5 ml d' AcCl (70 mmol) puis portés à reflux sous agitation durant 30 minutes. A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est refroidi à température ambiante et l'excès d' AcCl est distillé

à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le résidu brut obtenu est purifié par recristallisation avec l'éluant Acétone/ligroïne. On recueille 0.09 g de la 6,8-diméthoxyisochroman-1,3-dione (98%).

Données analytiques :

C₁₁H₁₀O₅ (222.2). Cristaux incolores.

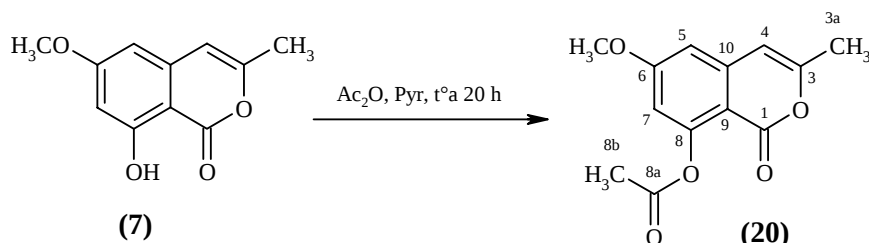
¹H-NMR (200MHz, Acétone-d₆, 298K) : 3.93 (s, 3H, OCH₃) ; 3.94 (s, 3H, OCH₃) ; 4.16 (s, 2H, CH₂-4) ; 6.62 (d, *J_m* = 2.3, 1H, ArH) ; 6.63 (d, *J_m* = 2.3, 1H, ArH).

MS (APCI⁽⁺⁾) : ms 223.1 [M+H]⁺.

IR (KBR) : 2952vw, 1779m, 1741s, 1604vs, 1472w, 1344m 1228m, 961m, 829vw, 686vw.

9.4. Synthèse des 8-hydroxy-3-hydroxyméthyl-6-méthoxyisocoumarine (cytogénine) (24) et 6,8-dihydroxy-3-hydroxyméthylisocoumarine (28) :

Synthèse de la 8-acétoxy-6-méthoxy-3-méthylisocoumarine (20) :



Dans un ballon de 250 ml muni d'un système d'agitation magnétique et sous atmosphère d'argon, 0.2 g de la monohydroxyisocoumarine 7 (0.97 mmol) sont solubilisés dans 1.7 ml de pyridine (21.34 mmol) puis refroidis à l'aide d'un bain de glace. Ensuite, 0.7 ml de Ac_2O (7 mmol) sont ajoutés lentement et sous vive agitation. A la fin de l'addition, le bain de refroidissement est retiré et le mélange réactionnel est agité pendant 20 heures à température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/1 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est dilué à l'eau puis extrait 3 fois à l'AcOEt. Les phases organiques rassemblées sont lavées une fois respectivement à l'aide d'une solution aqueuse de HCl (1N), une solution aqueuse de NaHCO_3 saturée et une solution aqueuse de NaCl saturée puis séchées au Na_2SO_4 anhydre, filtrées et concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le résidu brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 30/1. On recueille 0.230 g de la 8-acétoxy-6-méthoxy-3-méthylisocoumarine (96%) sous forme de solide blanc.

Données analytiques :

$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_5$ (248.24). Solide blanc. R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/1 ; UV) 0.5.

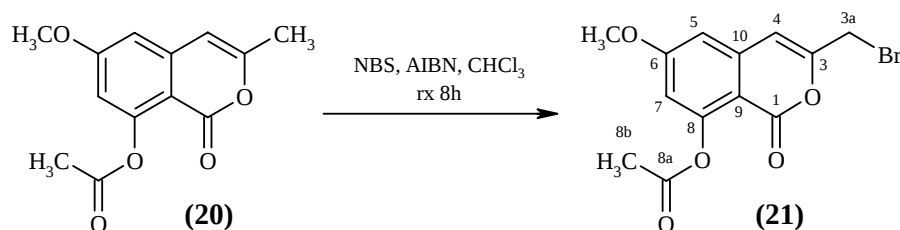
$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , 298K) : 2.23 (d, $^4J_{(3a-4)} = 0.6$, 3H, CH_3 -3a) ; 2.43 (s, 3H, CH_3 -8b) ; 3.90 (s, 3H, OCH_3) ; 6.17 (q, $^4J_{(4-3a)} = 0.6$, 1H, H-4) ; 6.62 (d, $J_m = 2.5$, 1H, ArH-7) ; 6.65 (d, $J_m = 2.5$, 1H, ArH-5).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR) : 19.95 C(3a) ; 21.55 C(8b) ; 56.21 C(OCH_3) ; 103.85 C(4) ; 105.99 C(7) ; 106.53 C(9) ; 110.37 C(5) ; 142.01 C(10) ; 154.08 C(3) ; 156.05 C(1) ; 159.65 C(8) ; 165.23 C(6) ; 170.01 C(8a).

MS (APCI $^{(+)}$) : ms 248.8 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR (KBR) : 2924w, 2851w, 1771m, 1717vs, 1610s, 1367m, 1217s, 1154s, 1050m, 863w, 681vw.

Synthèse de la 8-acétoxy-3-bromométhyl-6-méthoxyisocoumarine (21) :



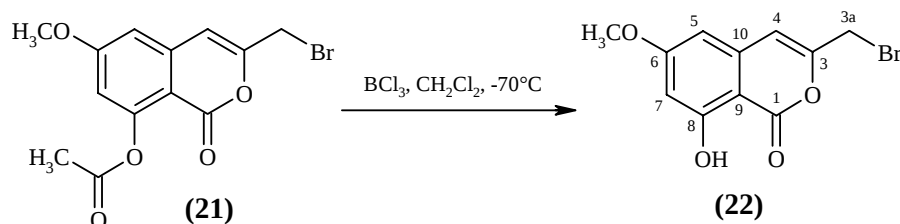
Dans un bicol de 50 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et sous atmosphère d'argon, 0.224 g de l'acétoxyisocoumarine **20** (0.9 mmol) sont dissous sous agitation dans 15 ml de CHCl_3 . Ensuite, 15 mg de AIBN (0.09 mmol) et 0.481 g de NBS (2.7 mmol) sont ajoutés puis portés à reflux pendant 8 heures. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/1 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est dilué au CHCl_3 puis lavé à l'aide d'une solution aqueuse de NaCl saturée. La phase organique résultante est ensuite séchée au Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le résidu brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Hexane}$: 5/1. On recueille 0.15 g de la 8-acétoxy-3-bromométhyl-6-méthoxyisocoumarine (51%) sous forme de solide beige.

Données analytiques :

C₁₃H₁₁BrO₅ (327.13). Solide beige. R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/1 ; UV) 0.59.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , 298K) : 2.42 (s, 3H, CH_3 -8b) ; 3.90 (s, 3H, OCH_3) ; 4.18 (s, 2H, CH_2 -3a) ; 6.50 (s, 1H, H-4) ; 6.70 (d, $J_m = 2.5$, 1H, ArH-7) ; 6.72 (d, $J_m = 2.5$, 1H, ArH-5).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR) : 21.04 C(8b) ; 27.47 C(3a) ; 55.91 C(OCH_3) ; 105.76 C(4) ; 106.95 C(7) ; 107.17 C(9) ; 111.20 C(5) ; 140.16 C(10) ; 156.56 C(3) ; 158.0 C(1) ; 161.06 C(8) ; 164.96 C(6) ; 169.44 C(8a).

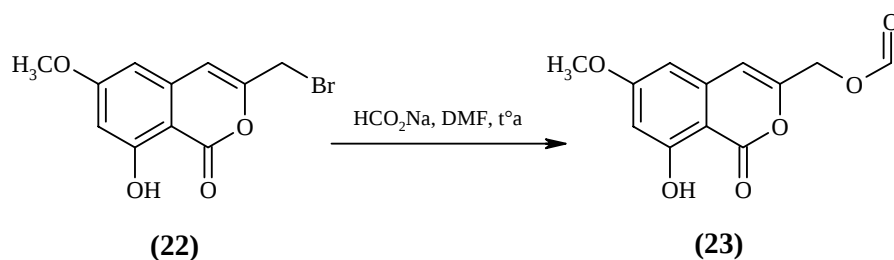
Synthèse de la 3-bromométhyl-8-hydroxy-6-méthoxyisocoumarine (22) :

Dans un bicol de 50 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 0.15 g de l'acétoxybromoisocoumarine **21** (0.46 mmol) sont solubilisés dans 6.5 ml de CH_2Cl_2 sec puis refroidis à -70°C à l'aide d'un bain EtOH/azote liquide. 1.35 ml de BCl_3 (1 M dans CH_2Cl_2) (1.35 mmol) sont ajoutés très lentement *via* une seringue puis agités dans les mêmes conditions durant 10 minutes. Le bain de refroidissement est ensuite enlevé et le mélange réactionnel est agité pendant 6h à température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant (CH_2Cl_2 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est dilué à l'AcOEt puis lavé à l'aide d'une solution aqueuse de NaCl saturée. La phase organique résultante est par la suite séchée au Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 0.13 g de la 3-bromométhyl-8-hydroxy-6-méthoxyisocoumarine (98%) sous forme de solide beige.

Données analytiques :

$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{BrO}_4$ (285.10). Solide beige. R_f (CH_2Cl_2 ; UV) 0.42.

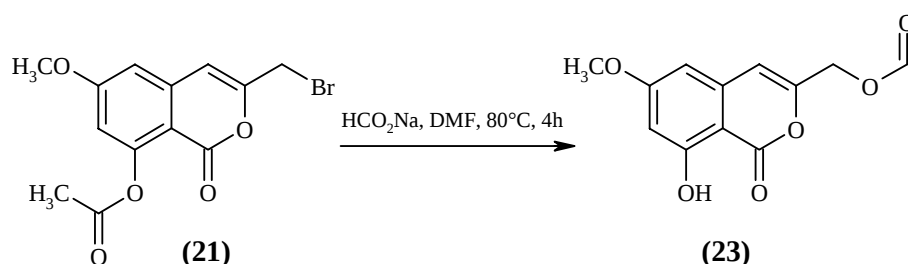
$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3 , 298K) : 3.88 (s, 3H, OCH_3) ; 4.21 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-3a}$) ; 6.40 (d, $J_m = 2.4$, 1H, ArH-7) ; 6.51 (s, 1H, H-4) ; 6.53 (d, $J_m = 2.4$, 1H, ArH-5) ; 11.0 (s, OH-8).

Synthèse de la 3-formyloxyméthyl-8-hydroxy-6-méthoxyisocoumarine (23) :Méthode a :

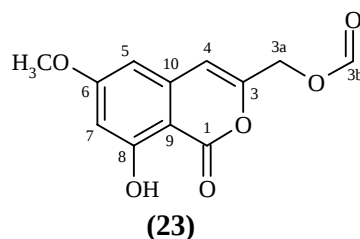
Dans un ballon de 50 ml muni d'un système d'agitation magnétique et sous atmosphère d'argon, 0.14 g de l'hydroxybromoisocoumarine **22** (0.49 mmol) sont solubilisés sous

agitation dans 5 ml de DMF anhydre. Ensuite, 0.167 g de HCO_2Na (2.46 mmol) sont ajoutés au mélange réactionnel et agités toute la nuit à température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant (CH_2Cl_2 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est dilué à l'AcOEt puis lavé à l'aide d'une solution aqueuse de NaCl saturée. La phase organique résultante est ensuite séchée au Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 0.118 g de la 3-formyloxyméthyl-8-hydroxy-6-méthoxyisocoumarine (96%) sous forme de solide blanc.

Méthode b :



Dans un tricol de 50 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 34.2 mg de l'acétoxybromoisocoumarine **21** (0.104 mmol) sont solubilisés sous agitation dans 3 ml de DMF. Ensuite, 47 mg de HCO_2Na (0.69 mmol) sont ajoutés au mélange réactionnel puis portés à 80°C pendant 4 heures. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant (CH_2Cl_2 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est dilué à l'AcOEt puis lavé à l'aide d'une solution aqueuse de NaCl saturée. La phase organique résultante est ensuite séchée au Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. Un solide blanc est obtenu, puis purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant CH_2Cl_2 /Hexane : 10/1. On recueille 18.7 mg de la 3-formyloxyméthyl-8-hydroxy-6-méthoxyisocoumarine (72%).



Données analytiques :

$\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_6$ (250.21). Solide blanc. R_f (CH_2Cl_2 ; UV) 0.44.

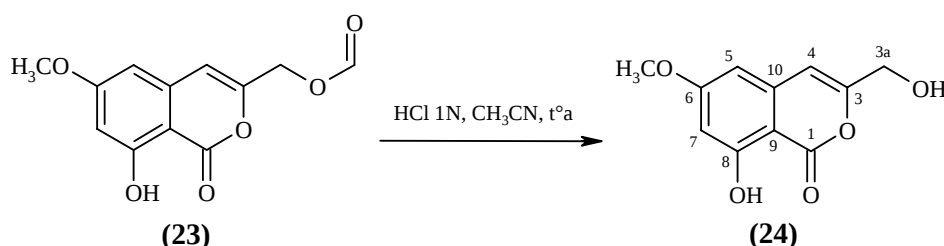
$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , 298K) : 3.90 (s, 3H, OCH_3) ; 4.99 (s, 2H, CH_2 -3a) ; 6.42 (d, J_m = 2.3, 1H, ArH-7) ; 6.53 (s, 1H, H-4) ; 6.55 (d, J_m = 2.3, 1H, ArH-5) ; 8.17 (s, 1H, CHO-3b) ; 11.0 (s, 1H, OH-8).

^{13}C -NMR (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR/LR) : 56.19 C(OCH_3) ; 61.61 C(3a) ; 100.67 C(9) ; 101.80 C(5) ; 103.13 C(7) ; 107.82 C(4) ; 138.21 C(10) ; 150.27 C(3) ; 160.37 C(3b) ; 164.23 C(1) ; 165.75 C(8) ; 167.35 C(6).

HR-MS ($\text{ESI}^{(+)}$) : ms 273.03634 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

IR (KBR) : 3129br, 1728s, 1690vs, 1622m, 1400vs, 1164vs, 1064w, 989vw, 875vw, 639vw.

Synthèse de la 8-hydroxy-3-hydroxyméthyl-6-méthoxyisocoumarine (cytogénine) (24) :



Dans un ballon de 50 ml muni d'un système d'agitation magnétique et sous atmosphère d'argon, 0.12 g de la formylloxyméthylisocoumarine **23** (0.48 mmol) sont solubilisés sous agitation dans 5 ml de CH_3CN . Ensuite, 4.1 ml de HCl 1N (4.1 mmol) sont ajoutés au mélange réactionnel et agités toute la nuit à température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 15/1 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est dilué à l'AcOEt puis lavé à l'aide d'une solution aqueuse de NaCl saturée. La phase organique résultante est ensuite séchée au Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. Un solide blanc est obtenu, puis purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Acétone}$: 15/1. On recueille 71 mg de la 8-hydroxy-3-hydroxyméthyl-6-méthoxyisocoumarine (67%).

Données analytiques :

$\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_5$ (222.2). Solide blanc. R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 15/1 ; UV) 0.41.

^1H -NMR (400MHz, CDCl_3 , 298K) : 2.34 (br, 1H, OH-3a) ; 3.89 (s, 3H, OCH_3) ; 4.48 (d, $^4J_{(3a-4)} = 0.8$, 2H, CH_2 -3a) ; 6.38 (d, $J_m = 2.3$, 1H, ArH-7) ; 6.48 (t, $^4J_{(4-3a)} = 0.8$, 1H, H-4) ; 6.50 (d, $J_m = 2.3$, 1H, ArH-5) ; 11.0 (s, 1H, OH-8).

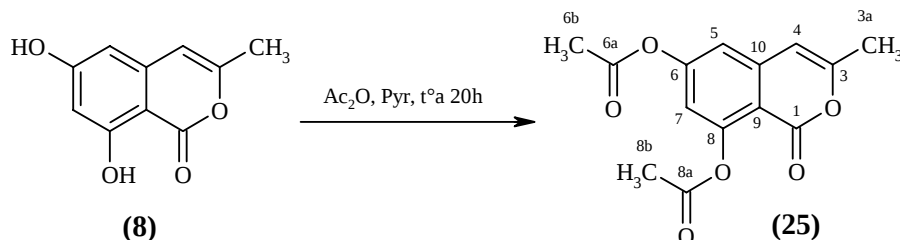
^{13}C -NMR (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR/LR) : 55.72 C(OCH_3) ; 61.25 C(3a) ; 100.09 C(9) ; 100.84 C(5) ; 102.15 C(7) ; 104.07 C(4) ; 138.52 C(10) ; 155.19 C(3) ; 163.69 C(1) ; 165.76 C(8) ; 166.92 C(6).

MS ($\text{ESI}^{(-)}$) : ms 221.4 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

HR-MS ($\text{ESI}^{(+)}$) : ms 245.04206 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

IR (KBR) : 3479br, 2923w, 1683vs, 1622s, 1166s, 1086m, 861w, 690w.

Synthèse de la 6,8-diacétoxy-3-méthylisocoumarine (25) :



Dans un ballon de 250 ml muni d'un système d'agitation magnétique et sous atmosphère d'argon, 0.632 g de la dihydroxyisocoumarine **8** (3.29 mmol) sont solubilisés dans 5.84 ml de pyridine (72.38 mmol) puis refroidis à l'aide d'un bain de glace. Ensuite, 2.27 ml de Ac₂O (24 mmol) sont ajoutés lentement et sous vive agitation. A la fin de l'addition, le bain de refroidissement est retiré et le mélange réactionnel est agité pendant 20 heures à température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant (CH₂Cl₂/AcOEt : 15/1 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est dilué à l'eau puis extrait 3 fois à l'AcOEt. Les phases organiques rassemblées sont lavées une fois respectivement à l'aide d'une solution aqueuse de HCl (1N), une solution aqueuse de NaHCO₃ saturée et une solution aqueuse de NaCl saturée puis séchées au Na₂SO₄ anhydre, filtrées et concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le résidu brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant CH₂Cl₂/AcOEt : 20/1. On recueille 0.882 g de la 6,8-diacétoxy-3-méthylisocoumarine (97%) sous forme de solide jaunâtre.

Données analytiques :

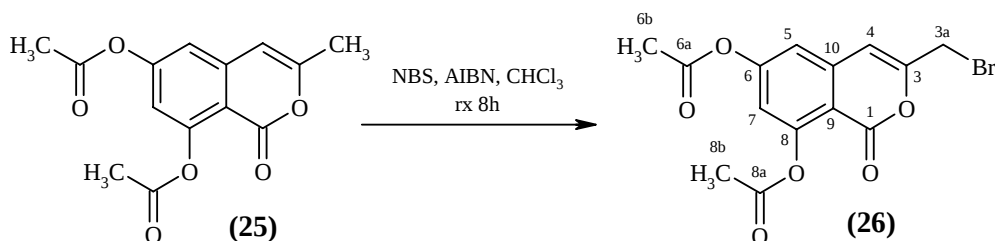
C₁₄H₁₂O₆ (276.25). Solide jaunâtre. R_f (CH₂Cl₂/AcOEt : 15/1 ; UV) 0.44.

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, 298K) : 2.26 (d, ⁴J_(3a-4) = 0.9, 3H, CH₃-3a) ; 2.34 (s, 3H, CH₃-6b) ; 2.43 (s, 3H, CH₃-8b) ; 6.22 (q, ⁴J_(4-3a) = 0.9, 1H, H-4) ; 6.90 (d, J_m = 2.3, 1H, ArH-7) ; 7.04 (d, J_m = 2.3, 1H, ArH-5).

¹³C-NMR (100Hz, CDCl₃, 298K, HETCOR-SR) : 19.95 C(3a) ; 21.47 C(8b) ; 21.60 C(6b) ; 103.67 C(4) ; 110.77 C(9) ; 115.38 C(5) ; 116.33 C(7) ; 141.39 C(10) ; 153.58 C(3) ; 155.90 C(1) ; 156.43 C(8) ; 159.18 C(6) ; 168.45 C(6a ou 8a) ; 169.72 C(8a ou 6a).

MS (APCI⁽⁺⁾) : ms 276.8 [M]⁺.

IR (KBR) : 3076w, 2922vw, 2852vw, 1771vs, 1719vs, 1613s, 1366m, 1186vs, 1136vs, 1043m, 915m, 869w, 684w.

Synthèse de la 3-bromométhyl-6,8-diacétoxyisocoumarine (26) :

Dans un bicol de 250 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et sous atmosphère d'argon, 0.861 g de la diacétoxyisocoumarine **25** (3.11 mmol) sont dissous sous agitation dans 55 ml de CHCl_3 . 0.102 g de AIBN (0.623 mmol) et 1.665 g de NBS (9.35 mmol) sont ajoutés puis portés à reflux pendant 8 heures. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/1 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est dilué au CHCl_3 puis lavé à l'aide d'une solution aqueuse de NaCl saturée. La phase organique résultante est ensuite séchée au Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le résidu brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 50/1. On recueille 0.752 g de la 3-bromométhyl-6,8-diacétoxyisocoumarine (68%) sous forme de solide beige.

Données analytiques :

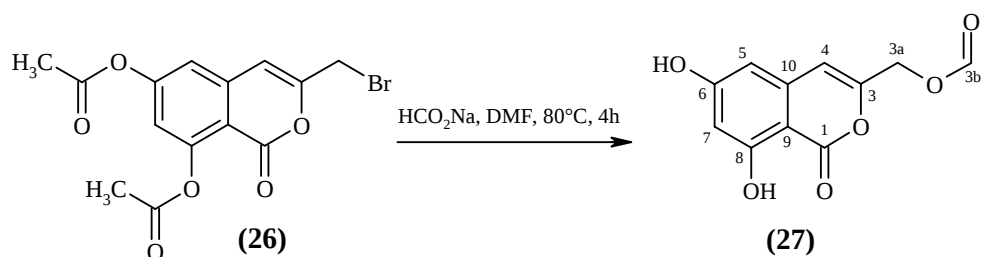
C₁₄H₁₁BrO₆ (355.14). Solide beige. R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/1 ; UV) 0.61.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , 298K) : 2.32 (s, 3H, CH_3 -6b) ; 2.41 (s, 3H, CH_3 -8b) ; 4.17 (s, 2H, CH_2 -3a) ; 6.52 (s, 1H, H-4) ; 6.97 (d, $J_m = 2.2$, 1H, ArH-7) ; 7.08 (d, $J_m = 2.2$, 1H, ArH-5).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR) : 21.46 C(8b) ; 21.60 C(6b) ; 27.83 C(3a) ; 105.99 C(4) ; 111.55 C(9) ; 116.71 C(5) ; 117.87 C(7) ; 140.04 C(10) ; 153.35 C(3) ; 153.65 C(1) ; 156.11 C(8) ; 158.05 C(6) ; 168.40 C(6a ou 8a) ; 169.66 C(8a ou 6a).

MS (APCI⁽⁺⁾) : ms 354.7 [$\text{M}(^{79}\text{Br})$]⁺, ms 356.7 [$\text{M}(^{81}\text{Br})$]⁺.

IR (KBR) : 3043w, 2983vw, 1779vs, 1737vs, 1610s, 1364m, 1186vs, 1133s, 1028s, 911m, 681w.

Synthèse de la 6,8-dihydroxy-3-formyloxyméthylisocoumarine (27) :

Dans un tricol de 100 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 0.345 g de la diacétoxybromoisocoumarine **26** (0.97 mmol) sont solubilisés sous agitation dans 18 ml de DMF. Ensuite, 0.33 g de HCO_2Na (4.85 mmol) sont ajoutés au mélange réactionnel puis portés à 80°C pendant 4 heures. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 20/1 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est dilué à l'AcOEt puis lavé à l'aide d'une solution aqueuse de NaCl saturée. La phase organique résultante est ensuite séchée au Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. Un solide blanc est obtenu, puis purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/1. On recueille 0.202 g de la 6,8-dihydroxy-3-formyloxyméthylisocoumarine (88%).

Données analytiques :

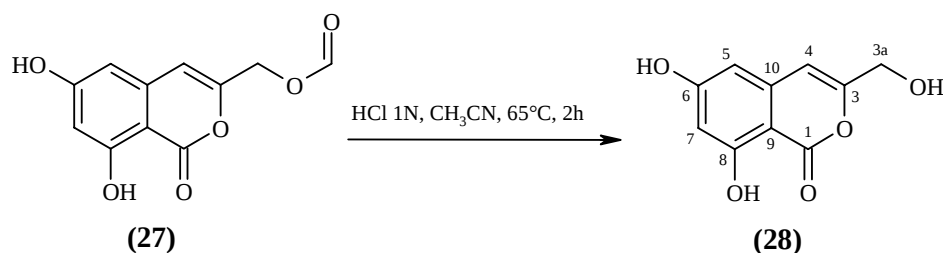
$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_8$ (236.18). Solide blanc. R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 20/1 ; UV) 0.47.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, Acétone- d_6 , 298K) : 5.04 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-3a}$) ; 6.48 (d, $J_m = 2.2$, 1H, ArH-7) ; 6.56 (d, $J_m = 2.2$, 1H, ArH-5) ; 6.78 (s, 1H, H-4) ; 8.30 (s, 1H, CHO-3b) ; 11.05 (s, 1H, OH-8).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, Acétone- d_6 , 298K, HETCOR-SR/LR) : 61.25 C(3a) ; 99.64 C(9) ; 102.89 C(7) ; 104.18 C(5) ; 107.44 C(4) ; 139.11 C(10) ; 150.95 C(3) ; 160.88 C(3b) ; 164.13 C(8) ; 165.74 C(1) ; 165.98 C(6).

MS ($\text{ESI}^{(-)}$) : ms 235.5 $[\text{M-H}]^-$.

IR (KBR) : 3282br, 2963vw, 1724s, 1687vs, 1624s, 14085w, 1392m, 1191vs, 1065m, 970vw, 882vw, 690vw.

Synthèse de la 6,8-dihydroxy-3-hydroxyméthylisocoumarine (28) :

Dans un tricol de 100 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 0.162 g de la formylisocoumarine 27 (0.684 mmol) sont solubilisés sous agitation dans 20 ml de CH_3CN . Ensuite, 5.8 ml de HCl 1N (5.8 mmol) sont ajoutés au mélange réactionnel puis portés à 65°C pendant 2 heures. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 15/1 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est dilué à l'AcOEt puis lavé à l'aide d'une solution aqueuse de NaCl saturée. La phase organique résultante est ensuite séchée au Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. Un solide blanc est obtenu, puis purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 40/1. On recueille 0.110 g de la 6,8-dihydroxy-3-hydroxyméthylisocoumarine (77%).

Données analytiques :

$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_5$ (208.17). Solide blanc. R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 15/1 ; UV) 0.34.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, Acétone- d_6 , 298K) : 3.44 (*br*, 1H, OH-3a) ; 4.40 (*d*, $^4J_{(3a-4)} = 0.8$, 2H, CH_2 -3a) ; 6.40 (*d*, $J_m = 2.2$, 1H, ArH-7) ; 6.47 (*d*, $J_m = 2.2$, 1H, ArH-5) ; 6.59 (*t*, $^4J_{(4-3a)} = 0.8$, 1H, H-4) ; 9.72 (*s*, 1H, OH-6) ; 11.10 (*s*, 1H, OH-8).

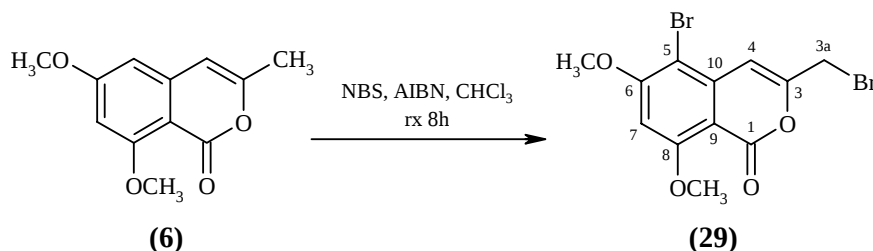
$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, Acétone- d_6 , 298K, HETCOR-SR/LR) : 60.55 C(3a) ; 99.48 C(9) ; 102.13 C(7) ; 103.36 C(4) ; 103.45 C(5) ; 139.96 C(10) ; 157.43 C(3) ; 164.11 C(8) ; 165.91 C(1) ; 166.18 C(6).

MS ($\text{ESI}^{(-)}$) : *ms* 207.3 $[\text{M-H}]^-$.

HR-MS ($\text{ESI}^{(+)}$) : *ms* 231.02670 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

IR (KBR) : 3392*m*, 2924*m*, 2853*w*, 1684*vs*, 1619*s*, 1362*m*, 1169*s*, 1065*w*, 966*w*, 869*w*, 688*w*.

Analyses élémentaires : calculées C 57.70, H 3.87 ; trouvées C 60.08, H 5.01.

Synthèse de la 5-bromo-3-bromométhyl-6,8-diméthoxyisocoumarine (29) :

Dans un bicol de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et sous atmosphère d'argon, 20 mg de la diméthoxyisocoumarine **6** (0.09 mmol) sont dissous sous agitation dans 1.5 ml de CHCl_3 . Ensuite, 1.5 mg de AIBN (9 μmol) et 49 mg de NBS (0.27 mmol) sont ajoutés puis portés à reflux pendant 8 heures. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/1 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est dilué au CHCl_3 puis lavé à l'aide d'une solution aqueuse de NaCl saturée. La phase organique résultante est ensuite séchée au Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le résidu brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant CH_2Cl_2 . On recueille 15.3 mg de la 5-bromo-3-bromométhyl-6,8-diméthoxyisocoumarine (45%) sous forme de solide beige.

Données analytiques :

$\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{Br}_2\text{O}_4$ (378.02). Solide beige. R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/1 ; UV) 0.38.

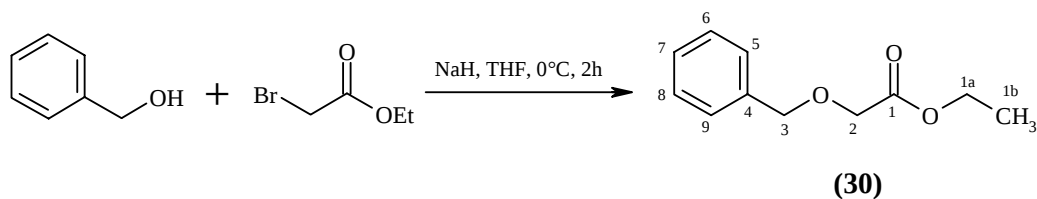
$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , 298K) : 4.05 (s, 6H, $2 \times \text{OCH}_3$) ; 4.23 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-3a}$) ; 6.56 (s, 1H, ArH-7) ; 6.97 (s, 1H, H-4).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR) : 28.21 C(3a) ; 56.99 C(OCH_3) ; 57.05 C(OCH_3) ; 95.96 C(7) ; 99.97 C(5) ; 104.40 C(9) ; 105.23 C(4) ; 139.34 C(10) ; 153.82 C(3) ; 158.10 C(1) ; 162.02 C(8) ; 163.59 C(6).

MS ($\text{ESI}^{(+)}$) : ms 399.0 [$\text{M}^{(79}\text{Br})+\text{Na}$] $^+$, ms 401.0 [$\text{M}^{(80}\text{Br})+\text{Na}$] $^+$, ms 403.0 [$\text{M}^{(81}\text{Br})+\text{Na}$] $^+$.

HR-MS ($\text{ESI}^{(+)}$) : ms 400.88146 [$\text{M}^{(80}\text{Br})+\text{Na}$] $^+$.

IR (KBR) : 3092w, 2920w, 1735vs, 1580vs, 1364m, 1223vs, 1015m, 974m, 835m, 675w.

Synthèse du 2-(benzyloxy)acétate d'éthyle (30) :

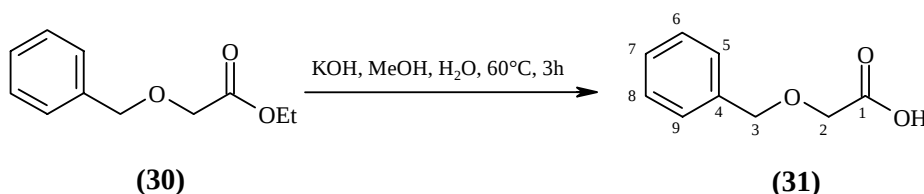
Dans un tricol de 500 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 31.13 g de benzylalcool (0.288 mol) sont solubilisés sous agitation dans 300 ml de THF sec. Ensuite, 1.7 g de NaH (55% dans l'huile) (0.0389 mol) sont ajoutés lentement puis portés à reflux jusqu'à cessation du dégagement gazeux. Le mélange est par la suite refroidi à 0°C à l'aide d'un bain de glace puis une solution de 6 g de bromoacétate d'éthyle (0.036 mol) solubilisés dans 5 ml de THF sec est ajoutée très lentement et sous contrôle rigoureux de la température. A la fin de l'addition, le milieu réactionnel est agité durant 2 heures sous les mêmes conditions. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant (Hexane/AcOEt : 1/1 ; UV). A la fin de la réaction, le THF est distillé sous vide et le résidu résultant est dilué à l'eau puis extrait plusieurs fois à l'AcOEt. Les phases organiques rassemblées sont séchées au Na₂SO₄ anhydre, filtrées et concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. L'huile obtenue est purifiée par distillation sous pression réduite 145-165°C (12 mmHg). On recueille 1.4 g de 2-(benzyloxy)acétate d'éthyle (20%) sous forme d'huile claire.

Données analytiques :

C₁₁H₁₄O₃ (194.23). Huile claire. P_{éb} 145-165°C (12 mmHg). R_f (Hexane/AcOEt : 1/1 ; UV) 0.53.

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, 298K) : 1.32 (t, ³J_(1b-1a) = 7.2, 3H, CH₃-1b) ; 4.12 (s, 2H, CH₂-2) ; 4.26 (q, ³J_(1a-1b) = 7.2, 2H, CH₂-1a) ; 4.67 (s, 2H, CH₂-3) ; 7.37 (m, 5H, ArH).

¹³C-NMR (100Hz, CDCl₃, 298K, HETCOR-SR) : 14.63 C(1b) ; 61.32 C(1a) ; 67.64 C(2) ; 73.76 C(3) ; 128.45 C(7) ; 128.51 C(5 et 9) ; 128.92 C(6 et 8) ; 137.52 C(4) ; 170.80 C(1).

Synthèse de l'acide 2-(benzyloxy)acétique (31) :

Dans un tricol de 50 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et d'un thermomètre, 1.4 g du benzyloxyester **30** (7.23 mmol) sont solubilisés dans une solution de 0.485 g de KOH (8.64 mmol) dans 5 ml d'un mélange (MeOH/H₂O : 3/2). Le mélange réactionnel est ensuite agité à 60°C pendant 3 heures puis à température ambiante toute la nuit. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant (Hexane/AcOEt : 1/1 ; UV). A la fin de la réaction, le MeOH est distillé sous vide et le résidu résultant est dilué à l'eau puis extrait 1 fois à l'Et₂O. Après décantation, la phase aqueuse est acidifiée avec du HCl concentré puis extraite 4 fois à l'Et₂O. Les phases organiques rassemblées sont séchées au Na₂SO₄ anhydre, filtrées et concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 0.95 g de l'acide 2-(benzyloxy)acétique (80%) sous forme d'huile claire.

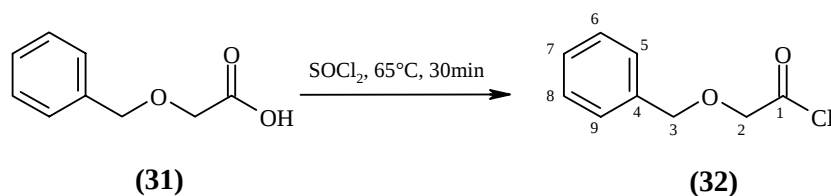
Données analytiques :

C₉H₁₀O₃ (166.18). Huile claire. R_f (Hexane/AcOEt : 1/1 ; UV) 0.27.

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, 298K) : 4.19 (s, 2H, CH₂-2) ; 4.68 (s, 2H, CH₂-3) ; 7.39 (m, 5H, ArH) ; 9.78 (br, 1H, OH-1).

¹³C-NMR (100Hz, CDCl₃, 298K, HETCOR-SR) : 66.96 C(2) ; 73.88 C(3) ; 128.57 C(5 et 9) ; 128.69 C(7) ; 129.04 C(6 et 8) ; 137.0 C(4) ; 170.07 C(1).

IR (KBR) : 3033br, 1730vs, 1455m, 1208s, 1121vs, 747m, 699s.

Synthèse du chlorure de 2-(benzyloxy)acétyle (32) :

Dans un bicol de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 0.8 ml de SOCl₂ (10.2 mmol) sont ajoutés lentement et sous vive agitation à 1.13 g du benzyloxyacide **31** (6.8 mmol) préalablement refroidi à 0°C. Ensuite, le

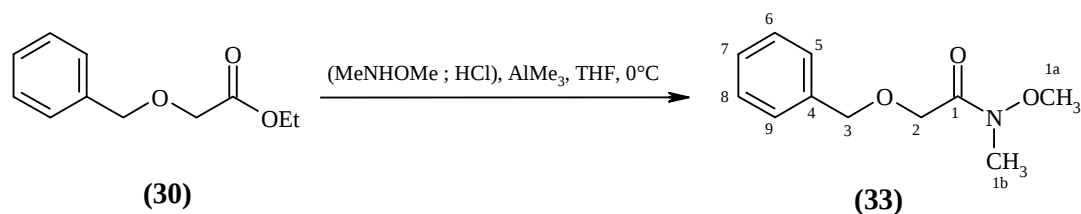
mélange est chauffé à 65°C durant 30 minutes. A la fin de la réaction, l'excès du SOCl_2 est distillé à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 1.18 g du chlorure de 2-(benzyloxy)acétyle (95%) sous forme d'huile légèrement jaunâtre stockée sous argon à -18°C.

Données analytiques :

$\text{C}_9\text{H}_9\text{ClO}_2$ (184.62). Huile légèrement jaunâtre. R_f (Hexane/AcOEt : 1/1 ; UV) 0.49.

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3 , 298K) : 4.45 (s, 2H, CH_2 -2) ; 4.68 (s, 2H, CH_2 -3) ; 7.39 (m, 5H, ArH).

Synthèse de 2-(benzyloxy)-N-méthoxy-N-méthylacétamide (33) :

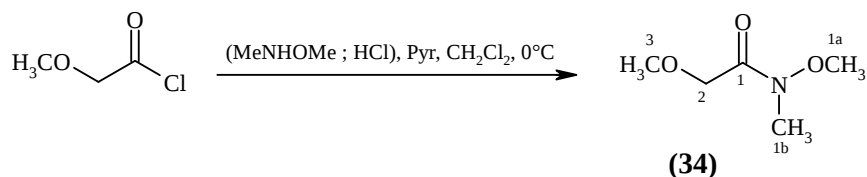


Dans un bicol de 50 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 0.452 g de (MeNHOMe ; HCl) (4.63 mmol) sont solubilisés sous agitation dans 8 ml de THF sec puis refroidis à 0°C à l'aide d'un bain de glace. Ensuite, 2.32 ml de AlMe_3 sont ajoutés lentement à la solution précédente puis agités 30 minutes à température ambiante. Enfin, une solution de 0.5 g de benzyloxyester **30** (2.57 mmol) solubilisés dans 2 ml de THF sec est additionnée à 0°C au mélange réactionnel puis agités de nouveau durant 30 minutes à température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant (Hexane/AcOEt : 3/1 ; UV). A la fin de la réaction, le THF est évaporé sous pression réduite et le résidu résultant est dilué à l'eau puis neutralisé avec du HCl 1N. Après multiples extractions au CH_2Cl_2 , les phases organiques rassemblées sont séchées au Na_2SO_4 anhydre, filtrées et concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 0.53 g de 2-(benzyloxy)-N-méthoxy-N-méthylacétamide (99%) sous forme d'huile claire.

Données analytiques :

$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_3$ (209.25). Huile claire. R_f (Hexane/AcOEt : 3/1 ; UV) 0.37.

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3 , 298K) : 3.20 (s, 3H, CH_3 -1b) ; 3.64 (s, 3H, CH_3 -1a) ; 4.29 (s, 2H, CH_2 -2) ; 4.68 (s, 2H, CH_2 -3) ; 7.37 (m, 5H, ArH).

Synthèse de 2,N-diméthoxy-N-méthylacétamide (34) :

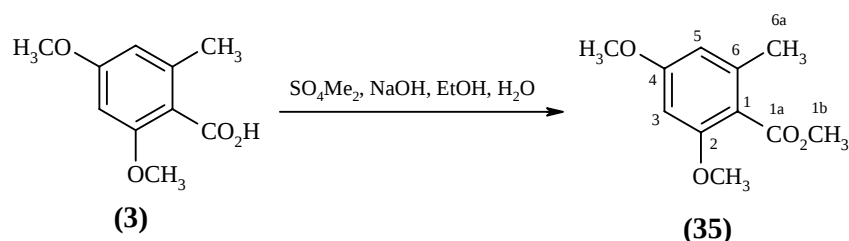
Dans un bicol de 50 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 0.324 g de (MeNHOMe ; HCl) (3.32 mmol) sont solubilisés sous agitation dans 4 ml de CH₂Cl₂ sec puis refroidis à 0°C à l'aide d'un bain de glace. Ensuite, 0.3 g de chlorure de méthoxyacétyle (2.76 mmol) et 0.47 ml de pyridine (5.8 ml) sont ajoutés lentement et successivement sous vive agitation. Le milieu réactionnel est par la suite agité pendant 3 heures à température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant (Hexane/AcOEt : 2/1 ; UV). A la fin de la réaction, le mélange est dilué à l'eau puis extrait 4 fois à l'Et₂O. Les phases organiques rassemblées sont séchées au Na₂SO₄ anhydre, filtrées et concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 0.22 g de 2,N-diméthoxy-N-méthylacétamide (60%) sous forme d'huile claire.

Données analytiques :

C₅H₁₁NO₃ (133.15). Huile claire. R_f (Hexane/AcOEt : 2/1 ; UV) 0.16.

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, 298K) : 3.21 (s, 3H, CH₃-1b) ; 3.48 (s, 3H, CH₃-3) ; 3.70 (s, 3H, CH₃-1a) ; 4.23 (s, 2H, CH₂-2).

¹³C-NMR (100Hz, CDCl₃, 298K, HETCOR-SR) : 32.71 C(1b) ; 59.81 C(3) ; 61.81 C(1a) ; 70.18 C(2) ; 172.0 C(1).

Synthèse de 2,4-diméthoxy-6-méthylbenzoate de méthyle (35) :

Dans un bicol de 50 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et sous atmosphère d'argon, 0.5 g de l'acide diméthoxybenzoïque **3** (2.54 mmol) sont dissous sous agitation et à reflux dans 5 ml d'EtOH. Ensuite, 2.7 ml de SO₄Me₂ (28.3 mmol) et 2.7 ml d'une solution aqueuse de 1.3 g de NaOH (32.5 mmol) sont additionnés simultanément *via*

seringues de telle façon à garder un reflux moyen malgré l'arrêt du chauffage. A la fin de l'addition, le mélange est agité durant 15 minutes à température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant (Hexane/AcOEt : 2/1 ; UV). Le milieu est par la suite basifié à l'aide d'une solution aqueuse de NH_3 à 5% jusqu'à $\text{pH} = 12$ puis extrait 4 fois au CH_2Cl_2 . Les phases organiques rassemblées sont séchées au Na_2SO_4 anhydre, filtrées et concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 0.523 g de 2,4-diméthoxy-6-méthylbenzoate de méthyle (98%) sous forme de solide blanc.

Données analytiques :

$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_4$ (210.23). Solide blanc. R_f (Hexane/AcOEt : 2/1 ; UV) 0.32.

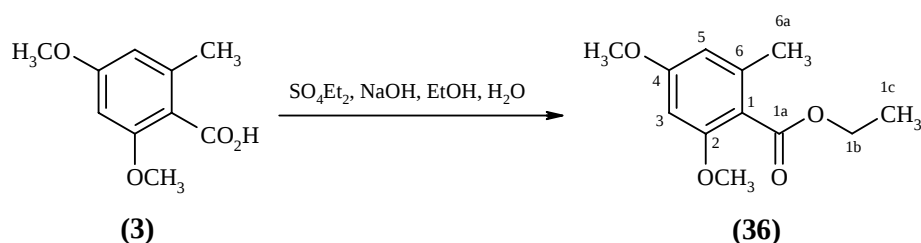
$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , 298K) : 2.30 (s, 3H, CH_3 -6a) ; 3.81 (s, 3H, OCH_3) ; 3.82 (s, 3H, OCH_3) ; 3.90 (s, 3H, OCH_3 -1b) ; 6.33 (d, $J_m = 2.5$, 1H, ArH) ; 6.34 (d, $J_m = 2.5$, 1H, ArH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR) : 20.35 C(6a) ; 52.44 C(1b) ; 55.75 C(OCH_3) ; 56.29 C(OCH_3) ; 96.55 C(CH-Ar) ; 107.03 C(CH-Ar) ; 116.76 C(1) ; 138.67 C(6) ; 158.60 C(2) ; 161.76 C(4) ; 169.13 C(1a).

MS ($\text{ESI}^{(+)}$) : ms 210.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR (KBR) : 2950w, 1726vs, 1606s, 1468m, 1326s, 1267s, 1158s, 1053m, 936w, 844w, 640vw.

Synthèse de 2,4-diméthoxy-6-méthylbenzoate d'éthyle (36) :



Dans un bicol de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et sous atmosphère d'argon, 0.2 g de l'acide diméthoxybenzoïque **3** (1.02 mmol) sont dissous sous agitation et à reflux dans 2 ml d'EtOH. Ensuite, 1.47 ml de SO_4Et_2 (11.21 mmol) et 1.2 ml d'une solution aqueuse de 0.52 g de NaOH (12.95 mmol) sont additionnés simultanément *via* seringues de telle façon à garder un reflux moyen malgré l'arrêt du chauffage. A la fin de l'addition, un bloc formé par un précipité blanc est dissous suite au prolongement du reflux durant 30 minutes. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant (Hexane/AcOEt : 2/1 ; UV). Le milieu est par la suite basifié à l'aide d'une solution aqueuse de NH_3 à 5% jusqu'à $\text{pH} = 12$ puis extrait 4 fois au CH_2Cl_2 . Les phases organiques

rassemblées sont séchées au Na₂SO₄ anhydre, filtrées et concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 0.14 g de 2,4-diméthoxy-6-méthylbenzoate d'éthyle (65%) sous forme de solide blanc.

Données analytiques :

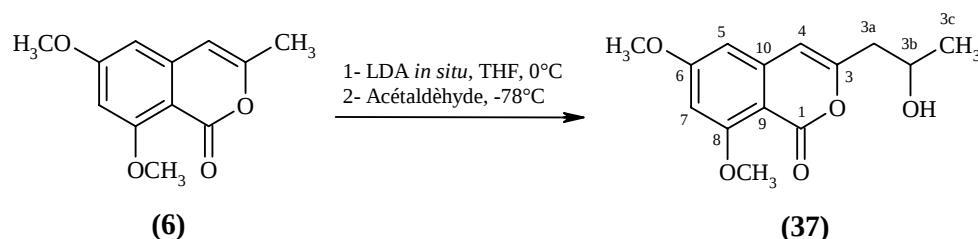
C₁₂H₁₆O₄ (224.26). Solide blanc. R_f (Hexane/AcOEt : 2/1 ; UV) 0.41.

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, 298K) : 1.39 (t, ³J_(1c-1b) = 7.2, 3H, CH₃-1c) ; 2.32 (s, 3H, CH₃-6a) ; 3.82 (s, 3H, OCH₃) ; 3.83 (s, 3H, OCH₃) ; 4.39 (q, ³J_(1b-1c) = 7.2, 2H, CH₂-1b) ; 6.34 (s, 2H, 2×ArH).

¹³C-NMR (100Hz, CDCl₃, 298K, HETCOR-SR) : 14.70 C(1c) ; 20.26 C(6a) ; 55.75 C(OCH₃) ; 56.29 C(OCH₃) ; 61.32 C(1b) ; 96.64 C(CH-Ar) ; 107.03 C(CH-Ar) ; 117.18 C(1) ; 138.44 C(6) ; 158.53 C(2) ; 161.66 C(4) ; 168.64 C(1a).

9.5. Synthèse racémique de la (R,S)-6,8-dihydroxy-3-(2-hydroxypropyle)isocoumarine (38) ((±)-orthosporine) :

Synthèse de la (R,S) 6,8-diméthoxy-3-(2-hydroxypropyle)isocoumarine (37) :



Dans un bicol de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 0.06 ml de $(iPr)_2NH$ (0.409 mmol) sont ajoutés à 1.5 ml de THF sec puis refroidis à 0°C sous agitation. Ensuite, 0.164 ml de $n-BuLi$ (2.5 M dans l'hexane) (0.409 mmol) sont ajoutés goutte à goutte. Après 10 minutes d'agitation, le milieu réactionnel est refroidi à -78°C à l'aide d'un bain EtOH/azote liquide. Après 10 minutes, une solution de 60 mg de la 6,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (**6**) solubilisés dans 2 ml de THF sec est ajoutée très lentement et sous contrôle permanent de la température. La solution de couleur violette foncée est agitée pendant 10 minutes à la même température puis devient brune dès l'ajout de 0.02 ml de l'acétaldéhyde (0.327 mmol). A la fin de l'addition, le bain de refroidissement est retiré et le mélange réactionnel est immédiatement neutralisé à l'aide d'une solution aqueuse saturée de NH_4Cl , dilué à l'eau puis acidifié à l'aide d'une solution aqueuse de HCl 1N. Après multiples extractions à l'AcOEt, les phases organiques rassemblées sont séchées au Na_2SO_4 anhydre, filtrées, puis concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. Un solide jaune collant est obtenu, il est purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant CH_2Cl_2 /Acétone : 8/1. On recueille, 43 mg de la (R,S) 6,8-diméthoxy-3-(2-hydroxypropyle)isocoumarine (60%).

Données analytiques :

$C_{14}H_{16}O_5$ (264.28). Solide jaune collant. R_f (CH_2Cl_2 /Acétone : 2/1 ; UV) 0.32.

1H -NMR (400MHz, $CDCl_3$, 298K) : 1.25 (d, $^3J_{(3c-3b)} = 6.3$, 3H, CH_3 -3c) ; 2.50 (dd, $J_{AX} = 8.0$, $J_{AB} = 14.4$, 1H-A, CH_2 -3a) ; 2.57 (dd, $J_{BX} = 4.4$, $J_{AB} = 14.4$, 1H-B, CH_2 -3a) ; 2.80 (br, 1H, OH-3b) ; 3.83 (s, 3H, OCH_3) ; 3.87 (s, 3H, OCH_3) ; 4.25 (dq, $J_{XA} = 8.0$, $^3J_{(3b-3c)} = 6.3$, $J_{XB} = 4.4$, 1H-X, CH -3b) ; 6.14 (s, 1H, H-4) ; 6.24 (d, $J_m = 2.3$, 1H, ArH-5) ; 6.31 (d, $J_m = 2.3$, 1H, ArH-7).

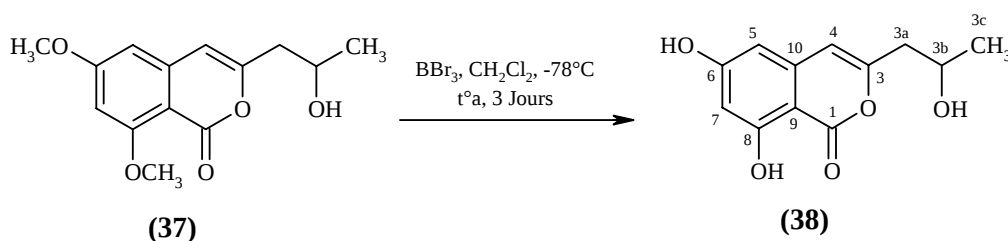
^{13}C -NMR (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR/LR) : 23.54 C(3c) ; 43.55 C(3a) ; 55.97 C(OCH₃-6) ; 56.49 C(OCH₃-8) ; 65.56 C(3b) ; 98.56 C(7) ; 100.10 C(5) ; 103.15 C(9) ; 105.50 C(4) ; 142.44 C(10) ; 156.40 C(3) ; 159.97 C(1) ; 163.45 C(8) ; 165.70 C(6).

MS (APCI⁽⁺⁾) : ms 265.1 [M+H]⁺ ; ms 247.0 [M-H₂O+H]⁺ ; ms 219.0 [M-H₂O-(CH-CH₃)+H]⁺ ; ms 205.0 [M-H₂O-(HC=CH-CH₃)]⁺ ; ms 176.9 [M-H₂O-(HC=CH-CH₃)-CO]⁺ ; ms 149.0 [M-H₂O-(HC=CH-CH₃)-2CO]⁺.

HR-MS (ESI⁽⁺⁾) : ms 287.08897 [M+Na]⁺.

IR (KBR) : 3441br, 2971w, 2934w, 1711vs, 1663m, 1602vs, 1570s, 1428m, 1373s, 1244s, 1164s, 1056m, 940w, 837w, 692w, 579vw.

Synthèse de la (R,S) 6,8-dihydroxy-3-(2-hydroxypropyle)isocoumarine ($\pm$)orthosporine (38) :



Dans un tricol de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 11.5 mg de la diméthoxyisocoumarine **37** (0.0435 mmol) sont solubilisés dans 1 ml de CH_2Cl_2 sec puis porté à -78°C sous agitation à l'aide d'un bain EtOH/azote liquide. Ensuite, 0.4 ml de BBr_3 (1M in CH_2Cl_2) (0.4 mmol) sont ajoutés goutte à goutte. A la fin de l'addition, le bain de refroidissement est retiré et le mélange réactionnel est agité pendant 3 jours à température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide d'un éluant ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/2 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est dilué à l' Et_2O puis lavé à l'eau. La phase organique résultante est ensuite séchée au Na_2SO_4 anhydre, filtrée, puis concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. Un solide blanc est obtenu, puis purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 20/1. On recueille 5 mg de la (R,S) 6,8-dihydroxy-3-(2-hydroxypropyle)isocoumarine (50%).

Données analytiques :

$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_5$ (236.23). Solide blanc. R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/2 ; UV) 0.38.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , 298K) : 1.82 (*d*, $^3J_{(3c-3b)} = 6.7$, 3H, $\text{CH}_3\text{-3c}$) ; 2.96 (*dd*, $J_{\text{AX}} = 8.5$, $J_{\text{AB}} = 15.0$, 1H-A, $\text{CH}_2\text{-3a}$) ; 3.03 (*dd*, $J_{\text{BX}} = 4.8$, $J_{\text{AB}} = 15.0$, 1H-B, $\text{CH}_2\text{-3a}$) ; 4.49 (*dqd*, $J_{\text{XA}} = 8.5$, $^3J_{(3b-3c)} = 6.7$, $J_{\text{XB}} = 4.8$, 1H-X, CH-3b) ; 5.89 (*s*, 1H, OH-6) ; 6.30 (*s*, 1H, H-4) ; 6.34 (*d*, $J_m = 2.3$, 1H, ArH-5) ; 6.45 (*d*, $J_m = 2.3$, 1H, ArH-7) ; 11.06 (*s*, 1H, OH-8).

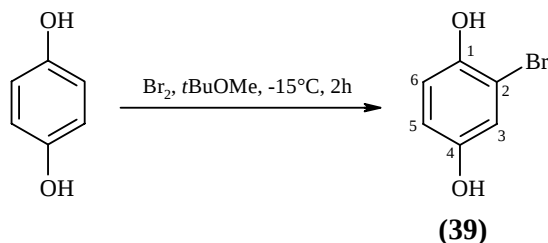
$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR/LR) : 26.49 C(3c) ; 45.19 C(3a) ; 45.70 C(3b) ; 100.66 C(9) ; 102.85 C(7) ; 103.20 C(5) ; 106.74 C(4) ; 139.66 C(10) ; 154.25 C(3) ; 163.68 C(6) ; 164.29 C(8) ; 166.32 C(1).

MS (APCI⁽⁺⁾) : *m/z* 219.1 [$\text{M-H}_2\text{O}+\text{H}$]⁺.

IR (KBR) : 3213*br*, 2923*w*, 2853*vw*, 1675*vs*, 1645*s*, 1617*vs*, 1485*m*, 1391*s*, 1242*s*, 1152*m*, 1066*w*, 859*vw*, 695*m*, 526*vw*.

9.6. Essais de synthèse de la 3-méthyl-3,5,8-trihydroxy-3,4-dihydroisocoumarine (55) :

Synthèse du 2-bromo-1,4-dihydroxybenzène (39) :



Dans un bicol de 100 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 3 g d'hydroquinone (27.2 mmol) sont solubilisés sous agitation dans 25ml de *t*BuOMe. Le milieu réactionnel est ensuite refroidi à -15°C à l'aide d'un bain de glace/NaCl, puis, 1.41 ml de Br₂ (55 mmol) sont additionnés goutte à goutte *via* une seringue. A la fin de l'addition, le mélange est agité dans les mêmes conditions pendant 2h. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide d'un éluant (Hexane/AcOEt : 1/1 ; UV). A la fin de la réaction, la solution orange est concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le résidu brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant Hexane/AcOEt : 6/1. On recueille 3.79 g de 2-bromo-1,4-dihydroxybenzène (75%) sous forme de solide blanc.

Données analytiques :

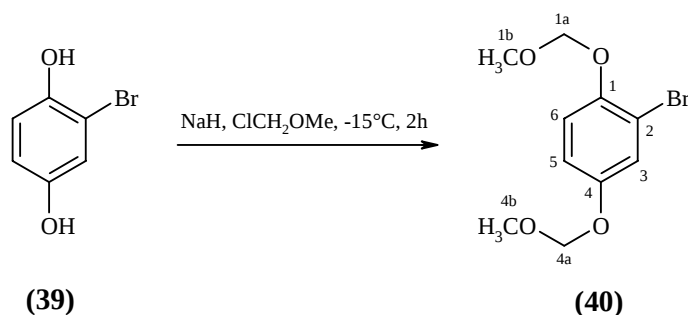
C₆H₅BrO₂ (189.01). Solide blanc. R_f (Hexane/AcOEt : 1/1 ; UV) 0.66.

¹H-NMR (400MHz, Acétone-d₆, 298K) : 6.72 (*dd*, *J_m* = 2.9, *J_o* = 8.8, 1H, ArH-5) ; 6.86 (*d*, *J_o* = 8.8, 1H, ArH-6) ; 7.01 (*d*, *J_m* = 2.9, 1H, ArH-3) ; 8.10 (*s*, 2H, OH-1 et OH-4).

¹³C-NMR (100Hz, Acétone-d₆, 298K, HETCOR-SR) : 109.74 C(2) ; 115.90 C(5) ; 117.25 C(6) ; 119.51 C(3) ; 147.42 C(1) ; 151.37 C(4).

MS (ESI⁽⁻⁾) : *ms* 187.3 [M(⁷⁹Br)-H]⁻, *ms* 189.0 [M(⁸¹Br)-H]⁻.

IR (KBR) : 3279*br*, 2970*w*, 1452*vs*, 1362*m*, 1229*s*, 1200*vs*, 1036*m*, 855*m*, 773*s*, 571*vw*.

Synthèse du 1,4-bis(méthoxyméthoxy)-2-bromobenzène (40) :

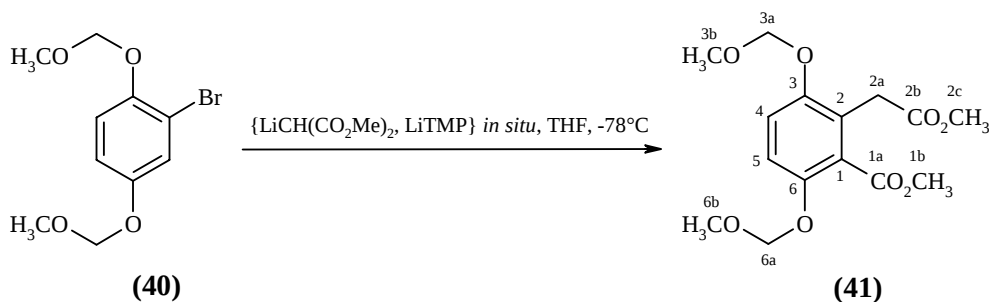
Dans un bicol de 100 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 1.22 g de NaH (~50% dans l'huile) (25.5 mmol) lavés plusieurs fois avec du pentane puis filtrés et séchés, sont solubilisés sous agitation à température ambiante dans 12 ml de DMF. Le milieu réactionnel est ensuite refroidi à 0°C à l'aide d'un bain de glace/NaCl, puis, une solution de 2 g de bromohydroquinone **39** (10.58 mmol) solubilisés dans 20 ml de DMF est additionnée goutte à goutte *via* une seringue au mélange réactionnel. Après 10 minutes d'agitation à 0°C, la solution prend une couleur verte-jaune qui caractérise la formation des alcoolates. Ensuite, 1.95 ml de ClCH₂OMe (25.5 mmol) sont ajoutés très lentement et sous contrôle permanent de la température. A la fin de l'addition, le bain de refroidissement est retiré et le mélange réactionnel est agité pendant 2h à température ambiante puis dilué à l'eau. Le mélange est ensuite extrait 6 fois à l'AcOEt et les phases organiques résultantes sont lavées une fois à l'aide d'une solution aqueuse de NaCl saturée, séchées au Na₂SO₄ anhydre, filtrées, puis concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 2.90 g de 2-bromo-1,4-bis(méthoxyméthoxy)benzène sous forme d'huile légèrement jaunâtre (99 %).

Données analytiques :

C₁₀H₁₃BrO₄ (277.12). Huile légèrement jaunâtre. R_f(CH₂Cl₂/AcOEt : 15/1 ; UV) 0.65.

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, 298K) : 3.47 (s, 3H, OCH₃) ; 3.53 (s, 3H, OCH₃) ; 5.11 (s, 2H, CH₂) ; 5.17 (s, 2H, CH₂) ; 6.94 (dd, *J_m* = 2.9, *J_o* = 9.0, 1H, ArH-5) ; 7.08 (d, *J_o* = 9.0, 1H, ArH-6) ; 7.29 (d, *J_m* = 2.9, 1H, ArH-3).

¹³C-NMR (100Hz, CDCl₃, 298K, HETCOR-SR) : 56.36 C(CH₃) ; 56.72 C(CH₃) ; 95.43 C(CH₂) ; 96.23 C(CH₂) ; 113.74 C(2) ; 116.79 C(5) ; 117.89 C(6) ; 121.81 C(3) ; 149.30 C(1) ; 152.98 C(4).

Synthèse du 3,6-bis(méthoxyméthoxy)-2-méthoxycarbonylméthylbenzoate de méthyle (41) :

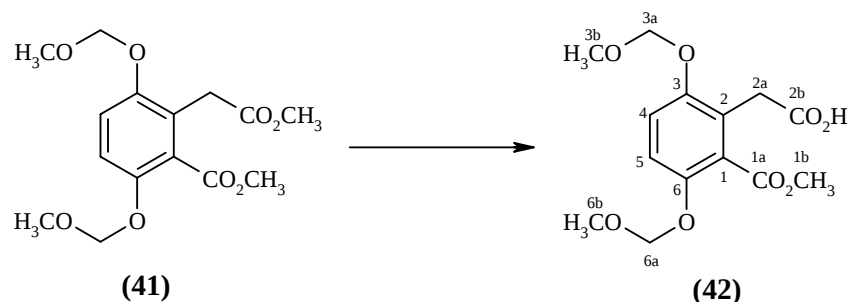
Dans un bicol de 250 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 3.34 ml de HTMP (19.6 mmol) sont ajoutés à 50 ml de THF sec puis refroidis à -78°C sous agitation à l'aide d'un bain EtOH/azote liquide. Ensuite, 7.68 ml de *n*-BuLi (2.5 M dans l'hexane) (19.2 mmol) sont ajoutés goutte à goutte *via* une seringue et sous contrôle permanent de la température puis agités pendant 10 minutes avant l'addition de 1.1 ml de $\text{CH}_2(\text{CO}_2\text{Me})_2$ (9.6 mmol). Après 20 minutes, une solution de 2.215 g de bromobenzène **40** (8 mmol) solubilisés dans 20 ml de THF sec est ajoutée très lentement et dans les mêmes conditions. A la fin de l'addition, la solution de couleur bromâtre est agitée pendant 10 minutes avant de la laisser revenir progressivement à température ambiante. Le mélange est ensuite dilué à l'eau puis extrait 5 fois à l'AcOEt. Les phases organiques rassemblées sont lavées une fois à l'aide d'une solution de NaCl saturée, séchées au Na_2SO_4 anhydre puis filtrées et concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant Hexane/AcOEt : 3/1. On recueille 2.43 g de 3,6-bis(méthoxyméthoxy)-2-méthoxycarbonylméthylbenzoate de méthyle (93%) sous forme d'huile claire.

Données analytiques :

$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_8$ (328.32). Huile claire. R_f (Hexane/AcOEt : 1/1 ; UV) 0.35.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , 298K) : 3.45 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-MOM}$) ; 3.47 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-MOM}$) ; 3.67 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-2c}$) ; 3.68 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-2a}$) ; 3.89 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-1b}$) ; 5.12 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-MOM}$) ; 5.14 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-MOM}$) ; 7.05 (d, $J_o = 9.1$, 1H, ArH-5) ; 7.13 (d, $J_o = 9.1$, 1H, ArH-4).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR) : 33.37 C(2a) ; 52.38 C(2c) ; 52.70 C(1b) ; 56.37 C($\text{CH}_3\text{-MOM}$) ; 56.51 C($\text{CH}_3\text{-MOM}$) ; 95.39 C($\text{CH}_2\text{-MOM}$) ; 95.96 C($\text{CH}_2\text{-MOM}$) ; 116.03 C(5) ; 116.97 C(4) ; 123.08 C(1) ; 126.60 C(2) ; 149.25 C(3) ; 150.70 C(6) ; 167.91 C(1a) ; 171.53 C(2b).

Synthèse du 3,6-bis(méthoxyméthoxy)-2-carboxyméthylbenzoate de méthyle (42) :

Nombre d'équivalents de KOH	Solvant	Température	Temps de réaction	Rendement
2.5	MeOH/H ₂ O:2/1	reflux	30 minutes	65%
2.5	MeOH/H ₂ O:2/1	reflux	2 heures	77%
10	MeOH/H ₂ O:2/1	reflux	2 heures	53%
20	MeOH/H ₂ O:2/1	25°C	16 heures	81%
-	NaOH 10%	60°C	30 minutes	71%
20	THF/H ₂ O:2/1	reflux	30 minutes	25%

Dans un tricol de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et d'un thermomètre, 0.1 g du diester **41** (0.3 mmol) sont solubilisés soit dans une solution de KOH (2.5 ; 10 ou 20 équivalents) dans 5 ml d'un mélange (MeOH ou THF/H₂O), soit dans une solution aqueuse de NaOH à 10%. Ensuite, le mélange réactionnel est porté à la température et pendant le temps indiqués au tableau. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide d'un éluant (Hexane/AcOEt : 1/2 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est refroidi dans un bain de glace puis acidifié à l'aide de HCl 5N. Il est ensuite dilué à l'eau puis extrait 4 fois à l'Et₂O. Les phases organiques rassemblées sont séchées au Na₂SO₄ anhydre, filtrées, puis concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille le 3,6-bis(méthoxyméthoxy)-2-carboxyméthylbenzoate de méthyle sous forme de solide blanc.

Données analytiques :

C₁₄H₁₈O₈ (314.29). Solide blanc. R_f (Hexane/AcOEt : 1/2 ; UV) 0.29.

¹H-NMR (400MHz, Acétone-d₆, 298K) : 3.44 (s, 6H, 2×CH₃-MOM) ; 3.64 (s, 2H, CH₂-2a) ; 3.86 (s, 3H, CH₃-1b) ; 5.15 (s, 2H, CH₂-MOM) ; 5.19 (s, 2H, CH₂-MOM) ; 7.09 (d, J_o = 9.1, 1H, ArH-5) ; 7.17 (d, J_o = 9.1, 1H, ArH-4).

¹³C-NMR (100Hz, Acétone-d₆, 298K, HETCOR-SR) : 32.69 C(2a) ; 51.85 C(1b) ; 55.65 C(CH₃-MOM) ; 55.72 C(CH₃-MOM) ; 95.29 C(CH₂-MOM) ; 95.72 C(CH₂-MOM) ; 115.70

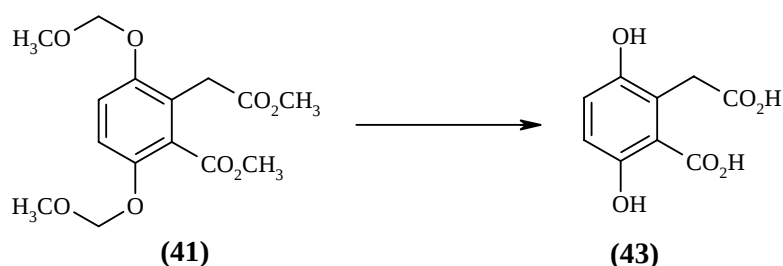
C(5) ; 116.65 C(4) ; 123.60 C(1) ; 127.28 C(2) ; 148.93 C(3) ; 150.81 C(6) ; 167.45 C(1a) ; 171.04 C(2b).

MS (ESI⁽⁺⁾) : ms 650.9 [2M+Na]⁺.

IR (KBR) : 3370_{br}, 2956_w, 2924_w, 1735_{vs}, 1716_s, 1482_m, 1256_s, 1157_m, 1019_{vs}, 949_m, 817_w, 709_{vw}, 631_{vw}.

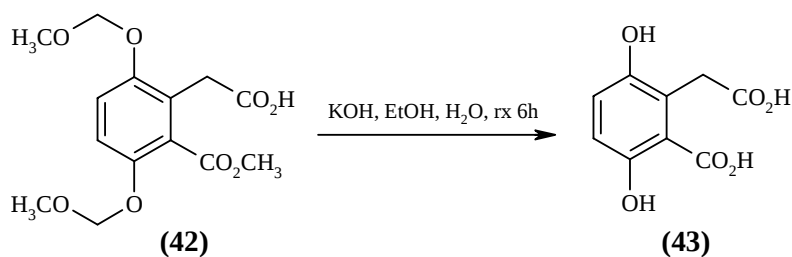
Synthèse de l'acide 3,6-dihydroxyhomophthalique (43) :

Méthode a :

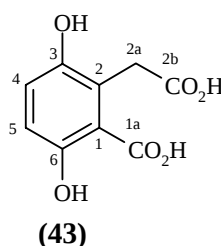


Nombre d'équivalents de KOH	Solvant	Température	Temps de réaction	Rendement
20	MeOH/H ₂ O:2/1	reflux	2 heures	61%
20	MeOH/H ₂ O:2/1	reflux	30 minutes	82%
20	MeOH/H ₂ O:2/1	reflux	15 minutes	56%
6	EtOH/H ₂ O:3/1	reflux	16 heures	85%

Dans un tricol de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique et d'un réfrigérant, 0.1 g du diester **41** (0.3 mmol) sont solubilisés dans une solution de KOH (6 à 20 équivalents) dans 5 ml de solvant (MeOH ou EtOH/H₂O). Ensuite, le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant le temps indiqué dans le tableau. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide d'un éluant (MeOH/Hexane : 2/1 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est refroidi dans un bain de glace, puis acidifié à l'aide de HCl 5N. Il est ensuite dilué à l'eau puis extrait 4 fois à l'Et₂O. Les phases organiques rassemblées sont séchées au Na₂SO₄ anhydre, filtrées, puis concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille l'acide 3,6-dihydroxyhomophthalique sous forme d'un solide blanc.

Méthode b :

Dans un tricol de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique et d'un réfrigérant, 56.3 mg du monoester **42** (0.18 mmol) sont solubilisés dans une solution de 60.3 mg de KOH (1.07 mmol) dans 3.5 ml d'un mélange (EtOH/H₂O : 3/1). Ensuite, le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 6 heures. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide d'un éluant (MeOH/Hexane : 2/1 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est refroidi dans un bain de glace puis acidifier à l'aide de HCl 5N. Il est ensuite dilué à l'eau puis extrait 4 fois à l'Et₂O. Les phases organiques rassemblées sont séchées au Na₂SO₄ anhydre, filtrées, puis concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille l'acide 3,6-dihydroxyhomophthalique sous forme d'un solide blanc.

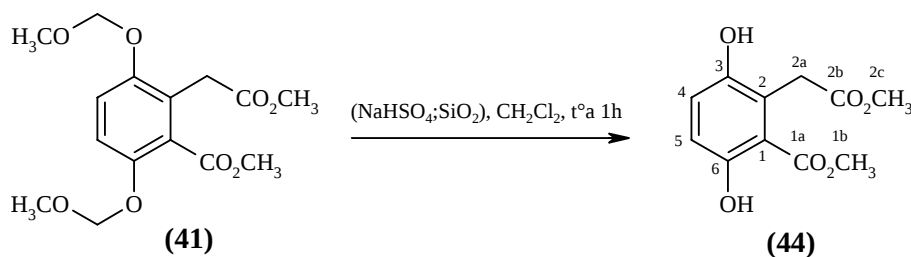
Données analytiques :

C₉H₈O₆ (212.16). Solide blanc. R_f (MeOH/Hexane : 2/1 ; UV) 0.1.

¹H-NMR (200MHz, Acétone-d₆, 298K) : 4.12 (s, 2H, CH₂-2a) ; 6.96 (d, J_o = 9.0, 1H, ArH) ; 7.35 (d, J_o = 9.0, 1H, ArH) ; 11.0 (br, OH-6).

MS (ESI⁽⁺⁾) : ms 250.1 [M-OH+OMe+Na+H]⁺.

IR (KBR) : 3249.8br, 2924w, 1809vs, 1670vs, 1473m, 1431s, 1256w, 1173s, 1103m, 952m, 860w, 715w, 581vw.

Synthèse de l'acide 3,6-bis(méthoxyméthoxy)homophtalique (44) :

Dans un ballon de 50 ml muni d'un système d'agitation magnétique et sous atmosphère d'argon, 0.2 g du diester **41** (0.609 mmol) sont solubilisés dans 6 ml de CH_2Cl_2 . Ensuite, 0.244 du catalyseur hétérogène ($\text{NaHSO}_4;\text{SiO}_2$) (1.35 mmol) préalablement préparé, sont ajoutés puis agités pendant 1 heure à température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide d'un éluant (AcOEt/Hexane : 2/1 ; UV). A la fin de la réaction, le catalyseur est filtré puis rincé avec du CH_2Cl_2 . Le filtrat récupéré est concentré à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 0.12 g de l'acide 3,6-bis(méthoxyméthoxy)homophtalique sous forme d'un solide beige (82%).

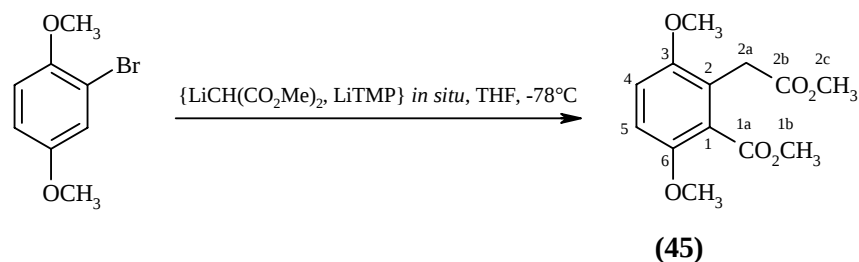
Protocole de préparation du catalyseur hétérogène ($\text{NaHSO}_4;\text{SiO}_2$) :

Dans un bécher de 100 ml muni d'un système d'agitation magnétique, 3.6 g de NaHSO_4 (0.03 mol) sont ajoutés à 20 ml d' H_2O puis agités vigoureusement jusqu'à solubilisation totale. Ensuite, 10 g de SiO_2 (0.166 mol) sont ajoutés sous agitation puis chauffés à 40°C durant une dizaine de minutes, jusqu'à la formation d'un solide blanc gluant. Le catalyseur est ensuite placé pour activation dans l'étuve à 120°C pendant 48 heures.

Données analytiques :

$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_6$ (240.21). Solide beige. R_f (AcOEt/Hexane : 2/1 ; UV) 0.58.

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3 , 298K) : 3.95 (s, 2H, CH_2 -2a) ; 4.01 (s, 6H, $2\times\text{OCH}_3$) ; 6.87 (d, $J_o = 9.0$, 1H, ArH) ; 7.05 (d, $J_o = 9.0$, 1H, ArH) ; 10.57 (s, OH-6).

Synthèse du 3,6-diméthoxy-2-méthoxycarbonylméthylbenzoate de méthyle (45) :

Nombre d'équivalents de HTMP	Nombre d'équivalents de <i>n</i> -BuLi (2.5 M)	Nombre d'équivalents de CH ₂ (CO ₂ Me) ₂	Rendement
2.45	2.4	1.2	25%
1.5	3	2	42%

Dans un bicol de 250 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 3.53 ml de HTMP (20.73 mmol) sont ajoutés à 20 ml de THF sec puis refroidis à 0°C sous agitation. Ensuite, 16.6 ml de *n*-BuLi (2.5 M dans l'hexane) (41.46 mmol) sont ajoutés goutte à goutte *via* une seringue et sous contrôle permanent de la température puis agités pendant 10 minutes. Le mélange est ensuite porté à -78°C à l'aide d'un bain EtOH/azote liquide puis agité durant 10 minutes avant l'addition d'une solution de 3.16 ml de CH₂(CO₂Me)₂ (27.64 mmol) dans 15 ml de THF sec. Après 30 minutes, une solution de 3 g de bromobenzène (13.82 mmol) solubilisés dans 10 ml de THF sec est ajoutée très lentement et dans les mêmes conditions. A la fin de l'addition, la solution de couleur bromâtre est agitée pendant 1 heure à -78°C. Ensuite, le mélange est immédiatement neutralisé à l'aide d'une solution aqueuse saturée de NH₄Cl, dilué à l'eau puis acidifié à l'aide d'une solution aqueuse de HCl 1N. Après multiples extractions à l'AcOEt, les phases organiques rassemblées sont séchées au Na₂SO₄ anhydre puis filtrées et concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant Hexane/AcOEt : 3/1. On recueille 1.56 g de 3,6-diméthoxy-2-méthoxycarbonylméthylbenzoate de méthyle (42%) sous forme d'huile claire.

Données analytiques :

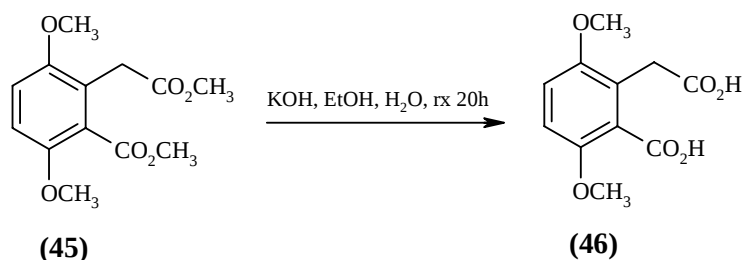
C₁₃H₁₆O₆ (268.27). Huile claire. R_f (Hexane/AcOEt : 1/1 ; UV) 0.37.

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, 298K) : 3.66 (s, 2H, CH₂-2a) ; 3.69 (s, 3H, CH₃-2c) ; 3.80 (s, 3H, OCH₃) ; 3.81 (s, 3H, OCH₃) ; 3.91 (s, 3H, CH₃-1b) ; 6.85 (d, *J*_o = 9.0, 1H, ArH-5) ; 6.91 (d, *J*_o = 9.0, 1H, ArH-4).

^{13}C -NMR (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR) : 33.25 C(2a) ; 52.39 C(2c) ; 52.73 C(1b) ; 56.77 C(OCH_3) ; 56.87 C(OCH_3) ; 111.47 C(5) ; 113.12 C(4) ; 122.65 C(1) ; 125.46 C(2) ; 150.93 C(3) ; 152.19 C(6) ; 168.12 C(1a) ; 171.69 C(2b).

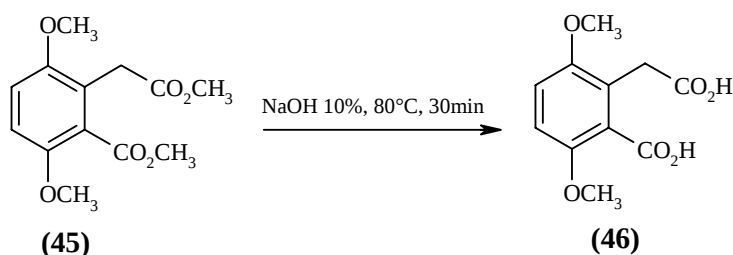
Synthèse de l'acide 3,6-diméthoxyhomophtalique (46) :

Méthode a :

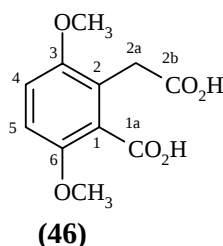


Nombre d'équivalents de KOH	Solvant	Température	Temps de réaction	Rendement
20	MeOH/H ₂ O:2/1	reflux	5 heures	58%
6,10	EtOH/H ₂ O:3/1	reflux	20 heures	99%

Dans un tricol de 50 ml muni d'un système d'agitation magnétique et d'un réfrigérant, 0.35 g du diester **45** (1.3 mmol) sont solubilisés dans une solution de 0.448 g de KOH (8 mmol) dans 15 ml d'un mélange (EtOH/H₂O : 3/1). Ensuite, le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 20 heures. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide d'un éluant ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Acétone}$: 1/1 ; UV). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est refroidi dans un bain de glace, dilué à l'aide d'un mélange ($\text{H}_2\text{O}/\text{Et}_2\text{O}$: 1/1) puis acidifié avec du HCl 5N. Après décantation, la phase aqueuse résultante est extraite 4 fois à l' Et_2O et les phases organiques rassemblées sont séchées au Na_2SO_4 anhydre, filtrées, puis concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 0.323 g de l'acide 3,6-diméthoxyhomophtalique (99%) sous forme d'un solide blanc.

Méthode b :

Dans un tricol de 100 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et d'un thermomètre, 0.16 g du diester **45** (0.6 mmol) sont solubilisés dans 20 ml d'une solution aqueuse de NaOH à 10% puis chauffés sous agitation à 80°C durant 30 minutes. A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est refroidi dans un bain de glace, dilué à l'aide d'un mélange (H₂O/Et₂O : 1/1) puis acidifier avec du HCl 5N. Après décantation, la phase aqueuse résultante est extraite 4 fois à l'Et₂O et les phases organiques rassemblées sont séchées au Na₂SO₄ anhydre, filtrées, puis concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 60 mg de l'acide 3,6-diméthoxyhomophtalique (**46**) sous forme d'un solide blanc.

Données analytiques :

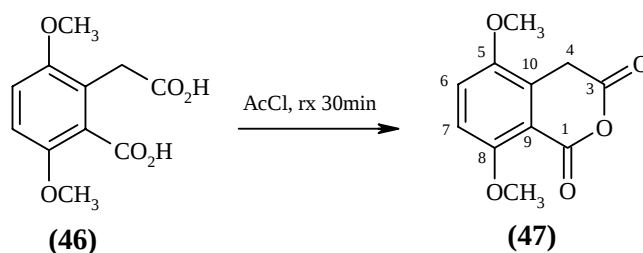
C₁₁H₁₂O₆ (240.21). Solide blanc. R_f (CH₂Cl₂/MeOH : 15/1 ; UV) 0.14.

¹H-NMR (400MHz, Acétone-d₆, 298K) : 3.70 (s, 2H, CH₂-2a) ; 3.79 (s, 3H, OCH₃) ; 3.80 (s, 3H, OCH₃) ; 6.96 (d, J_o = 9.0, 1H, ArH-5) ; 7.02 (d, J_o = 9.0, 1H, ArH-4).

¹³C-NMR (100Hz, Acétone-d₆, 298K, HETCOR-SR) : 32.70 C(2a) ; 56.13 C(OCH₃) ; 56.22 C(OCH₃) ; 111.42 C(5) ; 112.73 C(4) ; 122.65 C(1) ; 126.48 C(2) ; 150.65 C(3) ; 152.44 C(6) ; 168.15 C(1a) ; 171.70 C(2b).

MS (ESI⁽⁻⁾) : ms 239.1 [M-H]⁻.

IR (KBR) : 3375.2br, 3016m, 2956m, 2840w, 1718vs, 1660w, 1602w, 1486s, 1267s, 1212s, 1064s, 908w, 813w, 718w, 693w.

Synthèse de la 5,8-diméthoxyisochroman-1,3-dione (47) :

Dans un tricol de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant et sous atmosphère d'argon, 38.3 mg de l'acide homophtalique **46** (0.16 mmol) sont dissous sous agitation dans 4 ml de AcCl (56 mmol). Le mélange est ensuite chauffé à reflux pendant 30 minutes. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant (CH₂Cl₂/MeOH : 15/1 ; UV). A la fin de la réaction, l'excès de AcCl est distillé à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le solide beige résultant est purifié par recristallisation à l'aide du solvant Acétone/Et₂O. On recueille 17 mg de la 5,8-diméthoxyisochroman-1,3-dione (50%).

Données analytiques :

C₁₁H₁₀O₅ (222.2). Solide beige. R_f (CH₂Cl₂/MeOH : 15/1 ; UV) 0.1.

¹H-NMR (400MHz, Acétone-d₆, 298K) : 3.91 (s, 3H, OCH₃) ; 3.92 (s, 3H, OCH₃) ; 4.03 (s, 2H, CH₂-4) ; 7.15 (d, *J_o* = 9.1, 1H, ArH-7) ; 7.39 (d, *J_o* = 9.1, 1H, ArH-6).

¹³C-NMR (100Hz, Acétone-d₆, 298K, HETCOR-SR) : 29.74 C(4) ; 56.16 C(OCH₃) ; 56.23 C(OCH₃) ; 111.38 C(9) ; 112.08 C(7) ; 118.08 C(6) ; 126.06 C(10) ; 149.55 C(1) ; 155.76 C(5) ; 157.32 C(8) ; 165.77 C(3).

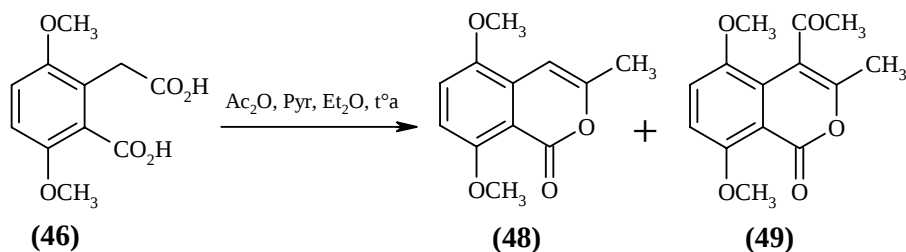
MS (ESI⁽⁻⁾) : ms 221.0 [M-H]⁻, ms 222.0 [M]⁻.

HR-MS (ESI⁽⁺⁾) : ms 245.04208 [M+Na]⁺.

IR (KBR) : 2950vw, 2845vw, 1786vs, 1752vs, 1591w, 1490s, 1273vs, 1179m, 1076s, 1008vs, 965w, 826w, 722vw.

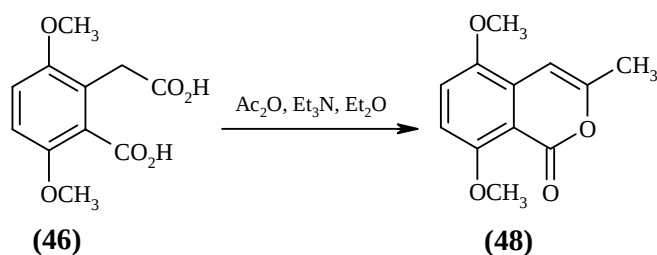
Synthèse de la 5,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (48) et la 4-acétyl-5,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (49) :

Méthode a :



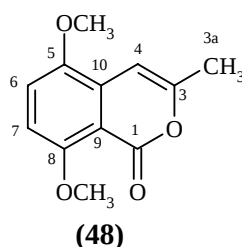
Nombre d'équivalents de Pyridine	Nombre d'équivalents de Ac_2O	Rendement 48	Rendement 49
2.4	11.6	5%	28%
1.5	5	20%	23%
2	2	40%	-

Dans un ballon de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique et sous atmosphère d'argon, 0.147 g de l'acide homophthalique **46** (0.614 mmol) sont solubilisés dans 0.3 ml de Ac_2O (3.07 mmol). Ensuite, 0.075 ml de pyridine (0.92 mmol) sont ajoutés lentement *via* une seringue et sous vive agitation. A la fin de l'addition, la solution devient homogène et prend une coloration jaune. Le milieu réactionnel est ensuite dilué à l' Et_2O puis agité pendant 30 minutes. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/2 ; UV). A la fin de la réaction, le mélange est lavé 1 fois à l'aide d'une solution aqueuse de NaHCO_3 saturée puis 1 fois à l'aide d'une solution aqueuse de HCl 1N. La phase organique résultante est ensuite séchée au Na_2SO_4 anhydre, filtrée, puis concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le résidu brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 20/1. On recueille 25 mg de la 5,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine sous forme de solide blanc légèrement jaunâtre (A : 20%) et 37 mg de la 4-acétoxy-5,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine sous forme de solide beige (B : 23%). A la fin, la phase aqueuse de NaHCO_3 saturée est acidifiée avec du HCl concentré et extraite à l' Et_2O puis séchée au Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif, ce qui a permis de récupérer 28.5 mg de produit de départ n'ayant pas réagit.

Méthode b :

Nombre d'équivalents de Et ₃ N	Nombre d'équivalents de Ac ₂ O	Rendement 48
3	2	57%

Dans un ballon de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique et sous atmosphère d'argon, 96.2 mg de l'acide homophtalique **46** (0.4 mmol) sont solubilisés sous agitation dans 1 ml d'Et₂O sec puis refroidis à l'aide d'un bain de glace. Ensuite, 0.08 ml de Ac₂O (0.8 mmol) et 0.17 ml de Et₃N (1.2 mmol) sont ajoutés respectivement et lentement *via* une seringue sous vive agitation. A la fin de l'addition, la solution jaune résultante est agitée pendant 30 minutes à température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant (CH₂Cl₂/AcOEt : 15/2 ; UV). A la fin de la réaction, le mélange est lavé 1 fois à l'aide d'une solution aqueuse de NaHCO₃ saturée puis 1 fois à l'aide d'une solution aqueuse de HCl 1N. La phase organique résultante est ensuite séchée au Na₂SO₄ anhydre, filtrée, puis concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le résidu brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant CH₂Cl₂/AcOEt : 20/1. On recueille 50 mg de la 5,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine sous forme de solide blanc légèrement jaunâtre (57%). A la fin, la phase aqueuse de NaHCO₃ saturée est acidifiée avec du HCl concentré et extraite à l'Et₂O puis séchée au Na₂SO₄ anhydre, filtrée et concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif, dans le but de récupérer le reste de produit de départ n'ayant pas réagit.

Données analytiques :

C₁₂H₁₂O₄ (220.23). Solide blanc légèrement jaunâtre. R_f (CH₂Cl₂/AcOEt : 15/2 ; UV) 0.41.

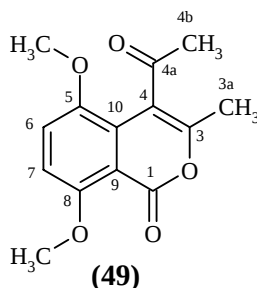
$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , 298K) : 2.26 (d, $^4J_{(3a-4)} = 1.0$, 3H, CH_3 -3a) ; 3.87 (s, 3H, OCH_3) ; 3.95 (s, 3H, OCH_3) ; 6.58 (q, $^4J_{(4-3a)} = 1.0$, 1H, H-4) ; 6.82 (d, $J_o = 9.0$, 1H, ArH-7) ; 7.09 (d, $J_o = 9.0$, 1H, ArH-6).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR) : 20.11 C(3a) ; 56.64 C(OCH_3) ; 56.86 C(OCH_3) ; 97.97 C(4) ; 109.36 C(7) ; 109.69 C(9) ; 116.46 C(6) ; 130.79 C(10) ; 147.29 C(3) ; 155.13 C(1) ; 155.52 C(5) ; 160.21 C(8).

MS ($\text{ESI}^{(+)}$) : ms 462.9 $[\text{2M}+\text{Na}]^+$.

HR-MS ($\text{ESI}^{(+)}$) : ms 243.06227 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

IR (KBR) : 2924vs, 2853m, 1732s, 1667w, 1587w, 1487m, 1442s, 1279m, 1156m, 1077w, 1001w, 978w, 798w, 711vw.



Données analytiques :

C₁₄H₁₄O₅ (262.26). Solide beige. R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/2 ; UV) 0.29.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , 298K) : 2.20 (s, 3H, CH_3 -3a) ; 2.40 (s, 3H, CH_3 -4b) ; 3.78 (s, 3H, OCH_3) ; 3.97 (s, 3H, OCH_3) ; 6.95 (d, $J_o = 9.0$, 1H, ArH-7) ; 7.20 (d, $J_o = 9.0$, 1H, ArH-6).

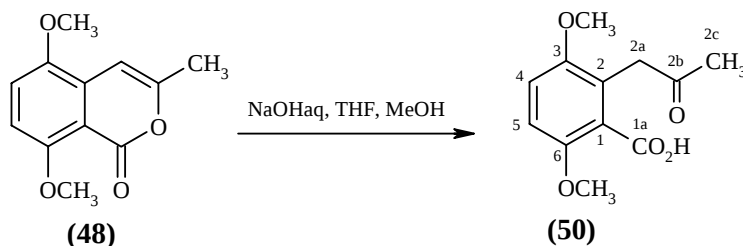
$^{13}\text{C-NMR}$ (100Hz, CDCl_3 , 298K, HETCOR-SR) : 17.67 C(3a) ; 32.47 C(4b) ; 57.06 C(OCH_3) ; 57.40 C(OCH_3) ; 109.76 C(9) ; 111.14 C(7) ; 116.36 C(4) ; 119.38 C(6) ; 128.19 C(10) ; 146.76 C(3) ; 151.71 C(1) ; 156.62 C(5) ; 158.56 C(8) ; 201.50 C(4a).

MS ($\text{ESI}^{(+)}$) : ms 262.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HR-MS ($\text{ESI}^{(+)}$) : ms 285.07402 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

IR (KBR) : 2919vw, 2845vw, 1744vs, 1704vs, 1638m, 1588m, 1483s, 1275s, 1033m, 980m, 812m, 728vw, 670vw.

Analyses élémentaires : calculées C 64.12, H 5.38 ; trouvées C 63.21, H 5.50.

Synthèse de l'acide 3,6-diméthoxy-2-(2-oxopropyl)benzoïque (50) :

Dans un bêcher, 30 mg de NaOH (0.75 mmol) sont solubilisés sous agitation dans un mélange de 7.7 ml de (H₂O/THF/MeOH : 1/4/1) puis refroidis à l'aide d'un bain de glace. Ensuite, 0.77 ml de cette solution sont ajoutés sous agitation à 13.8 mg de l'isocoumarine **48** (0.062 mmol) préalablement placés dans un ballon de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un thermomètre et en présence d'un bain de glace. Le mélange de couleur jaune est agité à 0°C durant 10 minutes. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant (CH₂Cl₂/MeOH : 15/1 ; UV). A la fin de la réaction, le mélange est dilué à l'eau, acidifié à l'aide de HCl 1N puis extrait 3 fois à l'AcOEt. Les phases organiques rassemblées sont séchées au Na₂SO₄ anhydre, filtrées, puis concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 10.8 mg de l'acide 3,6-diméthoxy-2-(2-oxopropyl)benzoïque (72%) sous forme de solide beige.

Données analytiques :

C₁₂H₁₄O₅ (238.24). Solide beige. R_f (CH₂Cl₂/MeOH : 15/1 ; UV) 0.22.

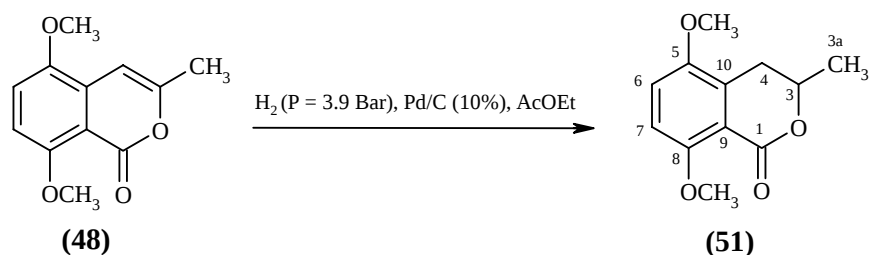
¹H-NMR (400MHz, Acétone-d₆, 298K) : 2.10 (s, 3H, CH₃-2c) ; 3.69 (s, 2H, CH₂-2a) ; 3.79 (s, 3H, OCH₃) ; 3.81 (s, 3H, OCH₃) ; 6.98 (d, J_o = 9.0, 1H, ArH-5) ; 7.04 (d, J_o = 9.0, 1H, ArH-4).

¹³C-NMR (100Hz, Acétone-d₆, 298K, HETCOR-SR) : 30.11 C(2c) ; 42.21 C(2a) ; 56.0 C(OCH₃) ; 56.16 C(OCH₃) ; 111.22 C(5) ; 112.52 C(4) ; 123.37 C(1) ; 126.56 C(2) ; 150.65 C(3) ; 152.21 C(6) ; 167.89 C(1a) ; 204.20 C(2b).

MS (ESI⁽⁺⁾) : ms 238.9 [M]⁺, ms 221.1 [M-H₂O+H]⁺.

HR-MS (ESI⁽⁺⁾) : ms 261.07333 [M+Na]⁺.

IR (KBR) : 3250br, 2924m, 1723vs, 1690m, 1483m, 1459m, 1263s, 1085m, 1065m, 948vw, 812w, 716w, 585vw.

Synthèse de la 5,8-diméthoxy-3-méthyl-3,4-dihydroisocoumarine (51) :

Une solution de 0.207 g de l'isocoumarine **48** (0.939 mmol) et 0.41 g de Pd/C à 10% (0.375 mmol) solubilisés dans 35 ml d'AcOEt sec est agitée dans un hydrogénéateur sous une pression de 3.9 Bar et à température ambiante pendant 24 heures. A la fin de la réaction, le catalyseur noir en suspension est filtré sur Céelite puis rincé plusieurs fois à l'AcOEt. Le filtrat résultant est par la suite concentré à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 0.191 g de la 5,8-diméthoxy-3-méthyl-3,4-dihydroisocoumarine (92%) sous forme de solide blanc.

Données analytiques :

C₁₂H₁₄O₄ (222.24). Solide blanc. R_f (CH₂Cl₂/AcOEt : 15/2 ; UV) 0.4.

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, 298K) : 1.42 (d, ³J_(3a-3) = 6.3, 3H, CH₃-3a) ; 2.50 (dd, $J_{AX} = 11.6$, $J_{AB} = 16.9$, 1H-A, CH₂-4) ; 3.09 (dd, $J_{BX} = 2.9$, $J_{AB} = 16.9$, 1H-B, CH₂-4) ; 3.76 (s, 3H, OCH₃) ; 3.84 (s, 3H, OCH₃) ; 4.43 (dq, $J_{XAB} = 11.6$, ³J_(3-3a) = 6.3, ³J_{XBA} = 2.9, 1H-X, CH-3) ; 6.81 (d, $J_o = 9.1$, 1H, ArH-7) ; 6.99 (d, $J_o = 9.1$, 1H, ArH-6).

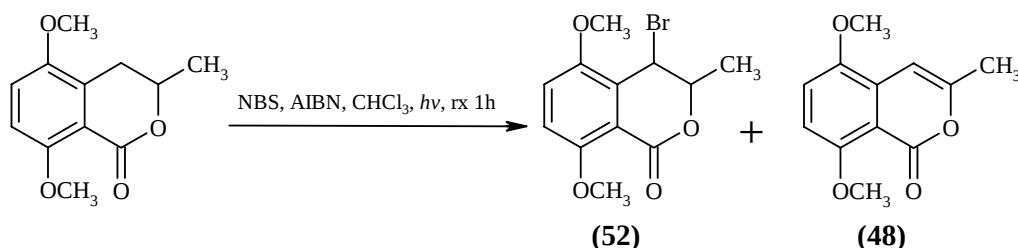
¹³C-NMR (100Hz, CDCl₃, 298K, HETCOR-SR) : 21.13 C(3a) ; 29.73 C(4) ; 56.43 C(OCH₃) ; 56.78 C(OCH₃) ; 74.42 C(3) ; 111.28 C(7) ; 114.82 C(9) ; 116.55 C(6) ; 130.62 C(10) ; 149.27 C(8) ; 155.28 C(5) ; 163.16 C(1).

MS (ESI⁽⁺⁾) : ms 222.9 [M+H]⁺.

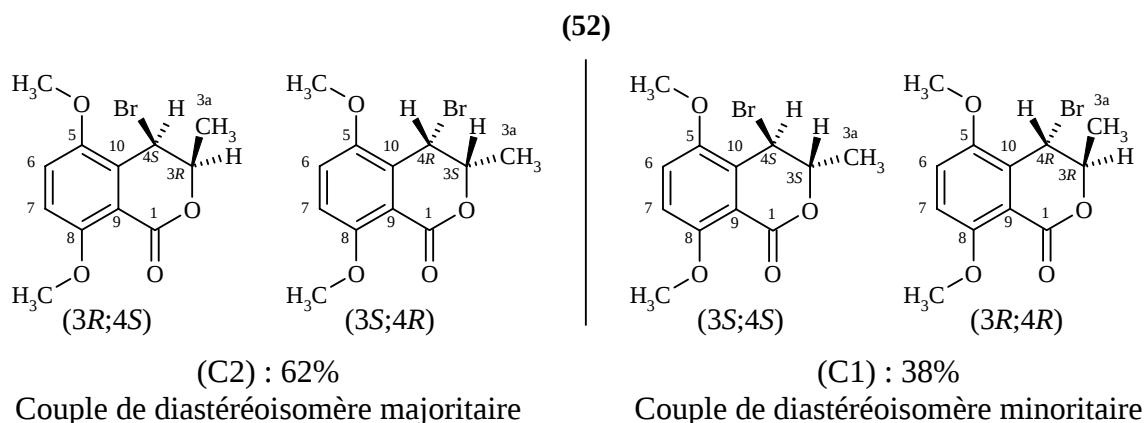
HR-MS (ESI⁽⁺⁾) : ms 245.07824 [M+Na]⁺.

IR (KBR) : 2937w, 2839w, 1713vs, 1590w, 1487s, 1269s, 1081s, 961m, 821w, 718w, 593vw.

Analyses élémentaires : calculées C 64.85, H 6.35 ; trouvées C 64.50, H 6.47.

Synthèse de la 4-bromo-5,8-diméthoxy-3-méthyl-3,4-dihydroisocoumarine (52) :

Dans un bicol de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un réfrigérant, d'une lampe UV-180W et sous atmosphère d'argon, 20 mg de la 3,4-dihydroisocoumarine **51** (0.09 mmol) sont dissous sous agitation dans 2 ml de CHCl_3 . Ensuite, 6 mg de AIBN (0.036 mmol) et 19.41 mg de NBS (0.109 mmol) sont ajoutés puis chauffés à reflux sous irradiation pendant 1 heure. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 15/2 ; UV). Après 30 minutes de reflux, un nouveau produit apparaissait au côté du produit de départ mais qui se dégradait au fil du temps en faveur d'un deuxième nouveau produit. A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est dilué au CH_2Cl_2 puis lavé à l'aide d'une solution aqueuse de NaCl saturée. La phase organique résultante est ensuite séchée au Na_2SO_4 anhydre, filtrée et concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif. Le résidu brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice à l'aide de l'éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$: 30/1. On recueille 6 mg de la 4-bromo-5,8-diméthoxy-3-méthyl-3,4-dihydroisocoumarine (**52** : 25%) sous forme de solide légèrement jaunâtre, 3 mg de la 5,8-diméthoxy-3-méthylisocoumarine (**48** : 15%) et 4 mg du produit de départ n'ayant pas réagit.

Données analytiques :

C₁₂H₁₃BrO₄ (301.14). Solide légèrement jaunâtre. Composition diastéréoisomérique 62% : 38%. R_f (CH₂Cl₂/AcOEt : 15/2 ; UV) 0.49.

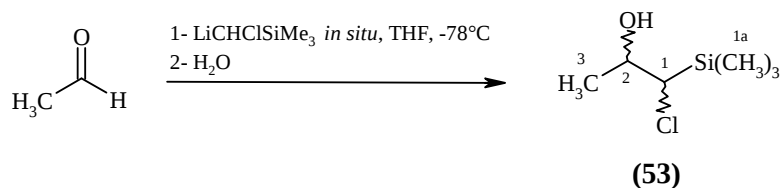
¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, 298K) : 1.35 (*d*, ³*J*_(3a-3) = 6.9, 3H, CH₃-3a/(C1)) ; 1.59 (*d*, ³*J*_(3a-3) = 6.3, 3H, CH₃-3a/(C2)) ; 3.93 (*s*, 3H, OCH₃) ; 3.94 (*s*, 3H, OCH₃) ; 4.39 (*qd*, ³*J*_(3-3a) = 6.3, ³*J*₍₃₋₄₎ = 1.8, CH-3/(C2)) ; 5.03 (*qd*, ³*J*_(3-3a) = 6.9, ³*J*₍₃₋₄₎ = 1.3, CH-3/(C1)) ; 5.41 (*d*, ³*J*₍₄₋₃₎ = 1.8, CH-4/(C2)) ; 5.46 (*d*, ³*J*₍₄₋₃₎ = 1.3, CH-4/(C1)) ; 7.02 (*d*, *J*_o = 9.2, 1H, ArH-7/(C2)) ; 7.04 (*d*, *J*_o = 9.2, 1H, ArH-7/(C1)) ; 7.14 (*d*, *J*_o = 9.2, 1H, ArH-6/(C2)) ; 7.15 (*d*, *J*_o = 9.2, 1H, ArH-6/(C1)).

¹³C-NMR (100Hz, CDCl₃, 298K, HETCOR-SR/LR) : 19.9 C(3a/(C1)) ; 20.08 C(3a/(C2)) ; 41.04 C(4/(C1)) ; 44.97 C(4/(C2)) ; 56.82 C(OCH₃) ; 57.06 C(OCH₃) ; 74.93 C(3/(C2)) ; 79.37 C(3/(C1)) ; 109.1 C(9/(C1)) ; 113.3 C(9/(C2)) ; 114.31 C(7/(C1)) ; 114.32 C(7/(C2)) ; 117.69 C(6/(C1)) ; 117.85 C(6/(C2)) ; 128.35 C(10/(C1)) ; 131.18 C(10/(C2)) ; 148.31 C(8/(C1)) ; 149.6 C(8/(C2)) ; 155.4 C(5/(C1)) ; 155.5 C(5/(C2)) ; 159.97 C(1/(C1)) ; 161.64 C(1/(C2)).

MS (APCI⁽⁺⁾) : *m/z* 221.1 [M-Br]⁺, *m/z* 300.9 [M(⁷⁹Br)]⁺, *m/z* 302.9 [M(⁸¹Br)]⁺.

HR-MS (ESI⁽⁺⁾) : *m/z* 322.98927 [M(⁷⁹Br)+Na]⁺, *m/z* 324.98717 [M(⁸¹Br)+Na]⁺.

IR (KBR) : 2838vw, 1729vs, 1590m, 1490s, 1268s, 1050w, 816vw, 728vw, 666vw.

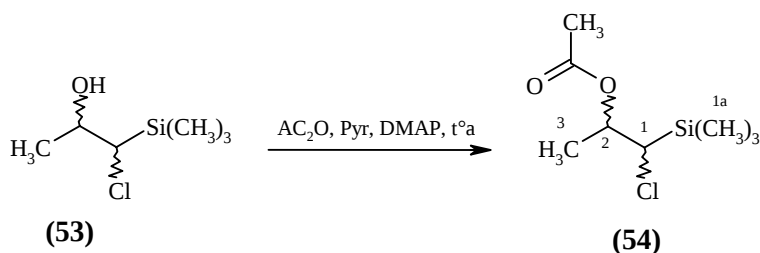
Synthèse du 1-chloro-1-triméthylsilylpropan-2-ol (53) :

Dans un bicol de 50 ml muni d'un système d'agitation magnétique, d'un thermomètre et sous atmosphère d'argon, 1 ml de $\text{ClCH}_2\text{SiMe}_3$ (7 mmol) sont ajoutés à 9 ml de THF sec puis refroidis à -78°C sous agitation à l'aide d'un bain EtOH/azote liquide. Ensuite, 6 ml de *sec*-BuLi (1.3 M dans l'hexane) (7.7 mmol) et 1.06 ml de TMEDA (7 mmol) sont ajoutés successivement et goutte à goutte *via* seringues sous contrôle permanent de la température puis agités dans les mêmes conditions pendant 30 minutes. A la fin, 0.3 ml d'acétaldéhyde fraîchement distillé (5 mmol) sont additionnés lentement et sous vive agitation, puis agités durant 2 heures entre -60 et -45°C . Ensuite, le mélange est immédiatement neutralisé à l'aide d'une solution aqueuse saturée de NH_4Cl puis dilué à l'eau. Après multiples extractions à l'AcOEt, les phases organiques rassemblées sont lavées une fois à l'eau, séchées au Na_2SO_4 anhydre, filtrées et concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 0.37 g de 1-chloro-1-triméthylsilylpropan-2-ol (32%) sous forme d'huile claire.

Données analytiques :

$\text{C}_6\text{H}_{15}\text{ClOSi}$ (166.72). Huile claire. Composition diastéréoisomérique 57% : 43%. R_f (Hexane/AcOEt : 5/2 ; Acide phosphomolybdique) 0.77 et 0.72.

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3 , 298K) : 0.09 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ -1a, 43%) ; 0.16 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ -1a, 57%) ; 1.26 (d, $^3J_{(3-2)} = 6.2$, 3H, CH_3 -3, 43%) ; 1.32 (d, $^3J_{(3-2)} = 6.2$, 3H, CH_3 -3, 57%) ; 2.18 (br, 1H, OH) ; 3.28 (d, $^3J_{(1-2)} = 4.8$, 1H, CH-1, 57%) ; 3.52 (d, $^3J_{(1-2)} = 4.8$, 1H, CH-1, 43%) ; 4.11 (m, 1H, CH-2).

Synthèse de l'acétate de 1-chloro-1-triméthylsilylpropan-2-yl (54) :

Dans un ballon de 25 ml muni d'un système d'agitation magnétique et sous atmosphère d'argon, 0.1 g de l'alcool précédent **53** (0.6 mmol) sont solubilisés dans 1.8 ml de pyridine (22.25 mmol) puis refroidis à l'aide d'un bain de glace. Ensuite, 0.1 ml de Ac_2O (0.9 mmol) et 0.4 mg de 4-diméthylaminopyridine (DMAP) (3.1 μmol) sont ajoutés successivement et sous vive agitation. A la fin de l'addition, le bain de refroidissement est retiré et le mélange réactionnel est agité pendant toute la nuit à température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie par CCM à l'aide de l'éluant (Hexane/ AcOEt : 10/1 ; Acide phosphomolybdique). A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est dilué à l'eau puis extrait 3 fois à l' AcOEt . Les phases organiques rassemblées sont lavées une fois respectivement à l'aide d'une solution aqueuse de HCl (1N), une solution aqueuse de NaHCO_3 saturée et une solution aqueuse de NaCl saturée puis séchées au Na_2SO_4 anhydre, filtrées et concentrées à l'aide de l'évaporateur rotatif. On recueille 0.03 g de l'acétate de 1-chloro-1-triméthylsilylpropan-2-yl (25%) sous forme d'huile légèrement jaunâtre.

Données analytiques :

$\text{C}_8\text{H}_{17}\text{ClO}_2\text{Si}$ (208.76). Huile légèrement jaunâtre. Composition diastéréoisomérique 56% : 44%. R_f (Hexane/ AcOEt : 10/1 ; Acide phosphomolybdique) 0.35 et 0.31.

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3 , 298K) : 0.18 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ -1a) ; 1.34 (d, $^3J_{(3-2)} = 6.6$, 3H, CH_3 -3, 44%) ; 1.39 (d, $^3J_{(3-2)} = 6.2$, 3H, CH_3 -3, 56%) ; 2.06 (s, 3H, CH_3CO , 56%) ; 2.11 (s, 3H, CH_3CO , 44%) ; 3.31 (d, $^3J_{(1-2)} = 4.0$, 1H, CH-1, 56%) ; 3.53 (d, $^3J_{(1-2)} = 4.0$, 1H, CH-1, 44%) ; 5.23 (m, 1H, CH-2).

Bibliographie

- (1) Bolay, A.; Mauri, G. *Revue Horticole Suisse* **1988**, 61, 77-86.
- (2) Pontis, R. E. *Phytopathology* **1951**, 41, 178-184.
- (3) Gremaud, G. *Thèse Université de Neuchâtel* **1994**.
- (4) Gremaud, G.; Tabacchi, R. *Phytochemistry* **1996**, 42, 1547-1549.
- (5) Burki, N. *Thèse Université de Neuchâtel* **1996**.
- (6) Michel, A. *Thèse Université de Neuchâtel* **2001**.
- (7) Hunt, J. *Lloydia* **1956**, 19, 1-58.
- (8) Halsted, B. D. *New Jersey Agricultural Experiment Station Bulletin* **1890**, 76, 32.
- (9) Chevaugnon, J. *Supplément colonial n° 2 à la revue de Mycologie, tome XXII* **1957**, 45-60.
- (10) Webster, R. K.; Butler, E. E. *Canadian Journal of Botany* **1967**, 45, 1457.
- (11) Ake, S.; Darbon, H.; Grillet, L.; Lambert, C. *Phytochemistry* **1992**, 31, 1199-1202.
- (12) Pazzagli, L.; Cappugi, G.; Manao, G.; Camici, G.; Santini, A.; Scala, A. *Journal of Biological Chemistry* **1999**, 274, 24959-24964.
- (13) Takai, S. *Nature* **1974**, 252, 124-126.
- (14) Moller, W. J.; Devay, J. E. *Phytopathology* **1968**, 58, 1499.
- (15) Couché, E. *Thèse Université de Neuchâtel* **2001**.
- (16) Ichihara, A.; Hashimoto, M.; Hirai, T.; Takeda, I.; Sasamura, Y.; Sakamura, S.; Sato, R.; Tajimi, A. *Chemistry Letters* **1989**, 1495-1498.
- (17) Hallock, Y. F.; Clardy, J.; Kenfield, D. S.; Strobel, G. *Phytochemistry* **1988**, 27, 3123-3125.
- (18) Harris, J. P.; Mantle, P. G. *Phytochemistry* **2001**, 57, 165-169.
- (19) Kumagai, H.; Masuda, T.; Ohsono, M.; Hattori, S.; Naganawa, H.; Sawa, T.; Hamada, M.; Ishizuka, M.; Takeuchi, T. *Journal of Antibiotics* **1990**, 43, 1505-1507.
- (20) Abe, C.; Hirano, S.; Wakazono, K.; Mase, T.; Yamamoto, R.; Matsufuji, M.; Sakata, N.; Agata, N.; Iguchi, H.; Ishizuka, M.; Takeuchi, T. *International Journal of Tissue Reactions-Experimental and Clinical Aspects* **1995**, 17, 175-180.
- (21) Hirano, S.; Wakazono, K.; Agata, N.; Mase, T.; Yamamoto, R.; Matsufuji, M.; Sakata, N.; Iguchi, H.; Tone, H.; Ishizuka, M.; Takeuchi, T.; Abe, C. *International Journal of Tissue Reactions-Experimental and Clinical Aspects* **1994**, 16, 155-162.
- (22) Matsumoto, N.; Nakashima, T.; Isshiki, K.; Kuboki, H.; Hirano, S.; Kumagai, H.; Yoshioka, T.; Ishizuka, M.; Takeuchi, T. *Journal of Antibiotics* **2001**, 54, 285-296.

- (23) Curtis, R. F. *Experientia* **1968**, 24, 1187.
- (24) Kam, C. M.; Fujikawa, K.; Powers, J. C. *Biochemistry* **1988**, 27, 2547-2557.
- (25) Torssell, K. B. G. *Natural product chemistry, A mecanistic biosynthetic and ecological approach*, Swedish Pharmaceutical Press, Stockholm **1997**.
- (26) Kumagai, H.; Amemiya, M.; Naganawa, H.; SAWA, T.; Ishizuka, M.; Takeuchi, T. *Journal of Antibiotics* **1994**, 47, 440-446.
- (27) Brereton, R. G.; Garson, M. J.; Staunton, J. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* **1984**, 1027-1033.
- (28) Holker, J. S. E.; Young, K. *Journal of the Chemical Society-Chemical Communications* **1975**, 525-526.
- (29) Kameda, K.; Aoki, H.; Tanaka, H.; Nakimi, M. *Agricultural and Biological Chemistry* **1973**, 37, 2137-2146.
- (30) Curtis, R. F.; Hassall, C. H.; Harries, P. C. *Journal of the Chemical Society* **1964**, 5382-5385.
- (31) Lewis, C. N.; Spargo, P. L.; Staunton, J. *Synthesis-Stuttgart* **1986**, 944-946.
- (32) Henderson, G. B.; Hill, R. A. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* **1982**, 1111-1115.
- (33) Grouve, J. F.; Pople, M. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* **1979**, 337-343.
- (34) Hauser, F. M.; Rhee, R. P. *Journal of Organic Chemistry* **1977**, 42, 4155-4157.
- (35) Hauser, F. M.; Rhee, R. *Synthesis-Stuttgart* **1977**, 245-246.
- (36) Carter, R. H.; Colyer, R. M.; Hill, R. A.; Staunton, J. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* **1976**, 1438-1441.
- (37) Slates, H. L.; Weber, S.; Wendler, N. L. *Chimia* **1967**, 21, 468.
- (38) Kendall, J. K.; Fisher, T. H.; Schultz, H. P.; Schultz, T. P. *Journal of Organic Chemistry* **1989**, 54, 4218-4220.
- (39) Lewis, C. N.; Staunton, J.; Sunter, D. C. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* **1988**, 747-754.
- (40) Mali, R. S.; Babu, K. N. *Journal of Organic Chemistry* **1998**, 63, 2488-2492.
- (41) Turner, W. B. *Fungal Metabolites*, Academic Press, London and New York **1972**.
- (42) Hauser, F. M.; Rhee, R. P. *Journal of Organic Chemistry* **1978**, 43, 178-180.
- (43) Carpenter, T. A.; Evans, G. E.; Leeper, F. J.; Staunton, J.; Wilkinson, M. R. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* **1984**, 1043-1051.
- (44) Dodd, J. H.; Garigipati, R. S.; Weinreb, S. M. *Journal of Organic Chemistry* **1982**, 47, 4045-4049.
- (45) Hauser, F. M.; Rhee, R. *Journal of the American Chemical Society* **1977**, 99, 4533-4534.
- (46) Nahm, S.; Weinreb, S. M. *Tetrahedron Letters* **1981**, 22, 3815-3818.
- (47) Caliskan, E.; Cameron, D. W.; Griffiths, P. G. *Australian Journal of Chemistry* **1999**, 52, 1013-1020.
- (48) Yamamoto, M.; Kusunoki, Y. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1981**, 29, 2832-2836.

- (49) Yamamoto, M.; Kusunoki, Y. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1981**, 29, 1214-1220.
- (50) Krohn, K.; Vitz, J. *European Journal of Organic Chemistry* **2004**, 209-219.
- (51) Lombo, F.; Kunzel, E.; Prado, L.; Brana, A. F.; Bindseil, K. U.; Frevert, J.; Bearden, D.; Mendez, C.; Salas, J. A.; Rohr, J. *Angewandte Chemie-International Edition* **2000**, 39, 796.
- (52) Jones, E. R. H.; Mansfield, G. H.; Whiting, M. C. *Journal of the Chemical Society* **1954**, 3208-3212.
- (53) Makulec, F.; Malachowski, R.; Manitus, L. *Chemische Zentralblatt* **1929**, 1328.
- (54) Ingold, C. K.; Nickolls, L. C. *Journal of the Chemical Society* **1922**, 121, 1638-1648.
- (55) Van Der Zenden, J. M. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas et de la Belgique* **1935**, 54, 289-293.
- (56) Craig, J. C.; Moyle, M. *Journal of the Chemical Society* **1963**, 5356-5360.
- (57) Buchi, G.; Carlson, J. A. *Journal of the American Chemical Society* **1969**, 91, 6470-6473.
- (58) Node, M.; Fujiwara, T.; Ichihashi, S.; Nishide, K. *Tetrahedron Letters* **1998**, 39, 6331-6334.
- (59) Fujisawa, T.; Mori, T.; Fukumoto, K.; Sato, T. *Chemistry Letters* **1982**, 1891-1894.
- (60) Isobe, T.; Isikawa, T. *Journal of Organic Chemistry* **1999**, 64, 6984-6988.
- (61) Bryson, T. A.; Dolak, T. M. *Organic Syntheses* **1977**, 57, 62-65.
- (62) Pascual, C.; Meier, J.; Simon, W. *Helvetica Chimica Acta* **1966**, 49, 164-168.
- (63) Savard, J.; Brassard, P. *Tetrahedron Letters* **1979**, 4911-4914.
- (64) Ainsworth, C.; Chen, F.; Kuo, Y. N. *Journal of Organometallic Chemistry* **1972**, 46, 59.
- (65) Ainsworth, C.; Kuo, Y. N. *Journal of Organometallic Chemistry* **1972**, 46, 73.
- (66) Kuo, Y. N.; Chen, F.; Ainsworth, C.; Bloomfield, J. J. *Journal of the Chemical Society D-Chemical Communications* **1971**, 136.
- (67) Rathke, M. W.; Sullivan, D. F. *Synthetic Communications* **1973**, 3, 67-72.
- (68) Roberge, G.; Brassard, P. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* **1978**, 1041-1046.
- (69) Grandmaison, J. L.; Brassard, P. *Journal of Organic Chemistry* **1978**, 43, 1435-1438.
- (70) Boeckman, R. K.; Delton, M. H.; Nagasaka, T.; Watanabe, T. *Journal of Organic Chemistry* **1977**, 42, 2946-2948.
- (71) Banville, J.; Brassard, P. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* **1976**, 1852-1856.
- (72) Banville, J.; Brassard, P. *Journal of Organic Chemistry* **1976**, 41, 3018-3020.
- (73) Banville, J.; Grandmaison, J. L.; Lang, G.; Brassard, P. *Canadian Journal of Chemistry-Revue Canadienne de Chimie* **1974**, 52, 80-87.
- (74) Yamamoto, K.; Suzuki, S.; Tsuji, J. *Chemistry Letters* **1978**, 649-652.
- (75) Rathke, M. W.; Lindert, A. *Journal of the American Chemical Society* **1971**, 93, 2318.

- (76) Olofson, R. A.; Doughert. *CM Journal of the American Chemical Society* **1973**, 95, 582-584.
- (77) Krüger, C. R.; Rochow, E. G. *Journal of Organometallic Chemistry* **1964**, 1, 476.
- (78) Savard, J.; Brassard, P. *Tetrahedron* **1984**, 40, 3455-3464.
- (79) Casey, C. P.; Jones, C. R.; Tukada, H. *Journal of Organic Chemistry* **1981**, 46, 2089-2092.
- (80) Lutsenko, I. F.; Baukov, Y. I.; Burlache.GS; Khasapov, B. N. *Journal of Organometallic Chemistry* **1966**, 5, 20.
- (81) Bell, S. H.; Cameron, D. W.; Feutrill, G. I.; Skelton, B. W.; White, A. H. *Tetrahedron Letters* **1985**, 26, 6519-6522.
- (82) Aderson, G.; Feutrill, G. I.; Read, R. W.; Cameron, D. W. *Tetrahedron Letters* **1981**, 22, 4347-4348.
- (83) Brook, P. R.; Devadas, B.; Sammes, P. G. *Journal of Chemical Research-S* **1982**, 134-135.
- (84) Midland, M. M.; Koops, R. W. *Journal of Organic Chemistry* **1990**, 55, 5058-5065.
- (85) Coleman, R. S.; Grant, E. B. *Journal of the American Chemical Society* **1995**, 117, 10889-10904.
- (86) Van, T. N.; D'hooghe, M.; Pattyn, S.; De Kimpe, N. *Synlett* **2004**, 1913-1916.
- (87) Houk, K. N.; LIN, Y. T.; Brown, F. K. *Journal of the American Chemical Society* **1986**, 108, 554-556.
- (88) Carruthers, W. *Cycloaddition Reaction in Organic Synthesis*, Pergamon Press, New York **1990**.
- (89) Oppolzer, W. "Intermolecular Diels-Alder Reactions", *Comprehensive Organic Synthesis*, Pergamon Press, New York **1991**, 5, 315-400.
- (90) Cary, F. A.; Sundberg, R. J. "Les réactions concertées", *Chimie Organique Avancée, Tome 1, Structure moléculaire et mécanismes réactionnels*, De Boeck et Larcier, Bruxelles **1997**, 595-650.
- (91) Houk, K. N. *Tetrahedron Letters* **1970**, 2621.
- (92) Houk, K. N.; Paddonrow, M. N.; Rondan, N. G.; Wu, Y. D.; Brown, F. K.; Spellmeyer, D. C.; Metz, J. T.; Li, Y.; Loncharich, R. J. *Science* **1986**, 231, 1108-1117.
- (93) Vollhardt, K. N. C. *Traité de Chimie Organique*, De Boeck Université, Bruxelles **1995**.
- (94) Danishefski, S.; Yan, C. F.; Singh, R. K.; Gammill, R. B.; Mccurry, P. M.; Fritsch, N.; Clardy, J. *Journal of the American Chemical Society* **1979**, 101, 7001-7008.
- (95) Hollingworth, G. J. *Comprehensive Organic Functional Group Transformations*, Pergamon, Oxford, New York and Tokyo **1995**, 3, 92.
- (96) Olah, G. A.; Kuhn, S. J. *Friedel Crafts and Related Reactions*, Interscience Publishers, New York, London and Sidney **1964**, III/2, 1191.
- (97) Truce, W. E. *Organic Reactions*, Wiley, New York **1957**, 9, 37.
- (98) Solladie, G.; Rubio, A.; Carreno, M. C.; Ruano, J. L. G. *Tetrahedron-Asymmetry* **1990**, 1, 187-198.
- (99) Jones, G.; Stanforth, S. P. *Organic Reactions*, Wiley, New York, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapore, and Toronto **2000**, 56, 355.
- (100) Seybold, G. *Journal für Praktische Chemie-Chemiker-Zeitung* **1996**, 338, 392-396.

- (101) Xie, L.; Takeuchi, Y.; Cosentino, L. M.; McPhail, A. T.; Lee, K. H. *Journal of Medicinal Chemistry* **2001**, *44*, 664-671.
- (102) Downie, I. M.; Earle, M. J.; Heaney, H.; Shuhaibar, K. F. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 4015-4034.
- (103) Cheung, G. K.; Downie, I. M.; Earle, M. J.; Heaney, H.; Fathy, M.; Matough, S.; Shuhaibar, K. F.; Thomas, D. *Synlett* **1992**, 77-78.
- (104) Zhao, M. Z.; Li, J.; Mano, E.; Song, Z. G.; Tschaen, D. M.; Grabowski, E. J. J.; Reider, P. J. *Journal of Organic Chemistry* **1999**, *64*, 2564-2566.
- (105) Birman, V. B.; Rawal, V. H. *Journal of Organic Chemistry* **1998**, *63*, 9146-9147.
- (106) Crimmins, M. T.; Alawar, R. S.; Vallin, I. M.; Hollis, W. G.; OMahony, R.; Lever, J. G.; BankaitisDavis, D. M. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, *118*, 7513-7528.
- (107) Dalcanale, E.; Montanari, F. *Journal of Organic Chemistry* **1986**, *51*, 567-569.
- (108) Kraus, G. A.; Roth, B. *Journal of Organic Chemistry* **1980**, *45*, 4825-4830.
- (109) Kraus, G. A.; Taschner, M. J. *Journal of Organic Chemistry* **1980**, *45*, 1175-1176.
- (110) Lindgren, B. O.; Nilsson, T. *Acta Chemica Scandinavica* **1973**, *27*, 888-890.
- (111) Holst, G. *Chemical Reviews* **1954**, *54*, 169-194.
- (112) Bayle, J. P.; Perez, F.; Courtieu, J. *Bulletin de la Societe Chimique de France* **1990**, 565-567.
- (113) Fang, X. Q.; Bandarage, U. K.; Wang, T.; Schroeder, J. D.; Garvey, D. S. *Synlett* **2003**, 489-492.
- (114) Tsuchida, T.; Kuroda, A.; Nagai, H.; Yoshida, M.; Nakashima, T.; Konuki, K.; Isshiki, K.; Nakamura, H.; Takeuchi, T. *Journal of Antibiotics* **2003**, *56*, 38-41.
- (115) Kim, S.; Fan, G. J.; Lee, J.; Lee, J. J.; Kim, D. *Journal of Organic Chemistry* **2002**, *67*, 3127-3130.
- (116) Saeed, A. *Monatshefte fur Chemie* **2003**, *134*, 457-463.
- (117) Raistrick, H.; Stickings, C. E. *Biochemical Journal* **1951**, *48*, 53-66.
- (118) Sassa, T.; Aoki, H.; Munakata, K. *Tetrahedron Letters* **1968**, 5703.
- (119) Money, T.; Comer, F. W.; Webster, G. R. B.; Wright, I. G.; Scott, A. I. *Tetrahedron* **1967**, *23*, 3435.
- (120) Colombo, L.; Gennari, C.; Santandrea, M.; Narisano, E.; Scolastico, C. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* **1980**, 136-140.
- (121) Ramacciotti, A.; Fiaschi, R.; Napolitano, E. *Journal of Organic Chemistry* **1996**, *61*, 5371-5374.
- (122) Speranza, G.; Manotto, P.; Cassara, P.; Monti, D. *Phytochemistry* **1993**, *33*, 175-178.
- (123) Edwards, B. E.; Rao, P. N. *Journal of Organic Chemistry* **1966**, *31*, 324.
- (124) Barton, D. H. R.; Evans, R. M.; Hamlet, J. C.; Jones, P. G.; Walker, T. *Journal of the Chemical Society* **1954**, 747-751.
- (125) Berkoz, B.; Djerassi, C.; Chavez, E. P. *Journal of the Chemical Society* **1962**, 1323.
- (126) Hartshorn, M. P.; Jnes, E. R. H. *Journal of the Chemical Society* **1962**, 1312.

- (127) Schenk, G. H.; Fritz, J. S. *Analytical Chemistry* **1960**, 32, 987-990.
- (128) Whitman, B.; Schwenk, E. *Journal of the American Chemical Society* **1946**, 68, 1865-1866.
- (129) Velluz, L.; Amiard, G.; Cerede, J.; Torelli, V.; Nomine, G. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l' Academie des Sciences* **1963**, 257, 3086.
- (130) Jung, M. E.; Lyster, M. A. *Journal of the American Chemical Society* **1977**, 99, 968-969.
- (131) Jung, M. E.; Lyster, M. A. *Journal of Organic Chemistry* **1977**, 42, 3761-3764.
- (132) Gerecke, M.; Borer, R.; Brossi, A. *Helvetica Chimica Acta* **1976**, 59, 2551-2557.
- (133) Vickery, E. H.; Pahler, L. F.; Eisenbraun, E. J. *Journal of Organic Chemistry* **1979**, 44, 4444-4446.
- (134) Hemingway, R. W.; McGraw, G. W.; Barras, S. J. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1977**, 25, 717-722.
- (135) McGraw, G. W.; Hemingway, R. W. *Phytochemistry* **1977**, 16, 1315-1316.
- (136) Ayer, W. A.; Browne, L. M.; Feng, M. C.; Orszanska, H.; Saeedighomi, H. *Canadian Journal of Chemistry-Revue Canadienne de Chimie* **1986**, 64, 904-909.
- (137) Nicolet-Dit-Felix, B. *Thèse Université de Neuchâtel* **1999**.
- (138) Gremaud, G.; Tabacchi, R. *Natural Products Letters* **1994**, 5, 95-103.
- (139) Ryoichi, M.; Takeo, Y.; Hiroshi, T.; Rokuro, O.; Hiroyuki, K.; Tsutomu, S.; Masaaki, I.; Tomio, T. *Japanese Kokai Tokyo Koho, 05163263, Heisei* **1993**.
- (140) Rama, N. H.; Iqbal, R.; Zamani, K.; Ziaulhaq, M. *Journal of the Chemical Society of Pakistan* **1998**, 20, 285-289.
- (141) Rama, N. H.; Iqbal, R.; Zamani, K.; Malik, A. *Journal of the Chemical Society of Pakistan* **1998**, 20, 62-65.
- (142) Kaji, H.; Yamada, M.; Nozawa, K.; Kawai, K.; Nakajima, S. *Organic Preparations and Procedures International* **1986**, 18, 253-262.
- (143) Kukla, M. J.; Fortunato, J. M. *Journal of Organic Chemistry* **1984**, 49, 5003-5006.
- (144) Deshpande, V. H.; Rai, B.; Khan, R. A. *Tetrahedron* **1996**, 52, 7159-7162.
- (145) Sato, M.; Sakaki, J.; Sugita, Y.; Yasuda, S.; Sakoda, H.; Kaneko, C. *Tetrahedron* **1991**, 47, 5689-5708.
- (146) Evans, D. A.; Chapman, K. T.; Carreira, E. M. *Journal of the American Chemical Society* **1988**, 110, 3560-3578.
- (147) Gimbert, Y.; Chevenier, E.; Green, A. E.; Massadier, C.; Piettre, A. *European Patent Applications, 1300403* **2003**.
- (148) Das, S.; Bhowmick, T.; Punniyamurthy, T.; Dey, D.; Nath, J.; Chaudhuri, M. K. *Tetrahedron Letters* **2003**, 44, 4915-4917.
- (149) Venkatathri, N.; Hegde, S. G.; Sivasanker, S. *Journal of the Chemical Society-Chemical Communications* **1995**, 151-152.
- (150) Bhakta, C. *Journal of the Indian Chemical Society* **1985**, 62, 380-382.

- (151) Chatterjea, J. N.; Mukherjee, S. K.; Bhakta, C. *Indian Journal of Chemistry Section B-Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry* **1981**, 20, 359-361.
- (152) Raina, S.; Srivastava, K. K.; Kumar, E. S.; Singh, V. K. *Synthetic Communications* **1996**, 26, 121-125.
- (153) Nomoto, S.; Mori, K. *Liebigs Annalen-Recueil* **1997**, 721-723.
- (154) Ziegler, K.; Spath, A.; Schaaf, E.; Schumann, W.; Winkelmann, E. *Annalen* **1942**, 551, 80-119.
- (155) Bloomfield, G. F. *Journal of the Chemical Society* **1944**, 114-120.
- (156) Adam, J.; Gosselain, P. A.; Goldfinger, P. *Nature* **1953**, 171, 704-705.
- (157) Adam, J.; Gosselain, P. A.; Goldfinger, P. *Bulletin des Societes Chimiques Belges* **1956**, 65, 523.
- (158) Kooyman, E. C.; Van Helden, R.; Bickel, A. F. *Koninkl.Ned.Akad.Wetenschap.Proc.* **1953**, B56, 75-82.
- (159) Russell, G. A.; Desmond, K. M.; Deboer, C. *Journal of the American Chemical Society* **1963**, 85, 365.
- (160) Russell, G. A.; Desmond, K. M. *Journal of the American Chemical Society* **1963**, 85, 3139.
- (161) Walling, C.; Rieger, A. L.; Tanner, D. D. *Journal of the American Chemical Society* **1963**, 85, 3129.
- (162) Walling, C.; Rieger, A. L. *Journal of the American Chemical Society* **1963**, 85, 3134.
- (163) Pearson, R. E. *Ph.D.Thesis, University of Illinois* **1963**.
- (164) Pearson, R. E.; Martin, J. C. *Journal of the American Chemical Society* **1963**, 85, 354.
- (165) Hedaya, E.; Hinman, R. L.; Schomake, V.; Theodoro, S.; Kyle, L. M. *Journal of the American Chemical Society* **1967**, 89, 4875.
- (166) Koeing, T.; Brewer, W. *Journal of the American Chemical Society* **1964**, 86, 2728.
- (167) Incremona, J. H.; Martin, J. C. *Journal of the American Chemical Society* **1970**, 92, 627.
- (168) Saeed, A. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2004**, 41, 975-978.
- (169) Lutz-Kutschera, G.; Engelmeier, D.; Hadacek, F.; Werner, A.; Greger, H.; Hofer, O. *Monatshefte fur Chemie* **2003**, 134, 1195-1206.
- (170) Sviridov, S. I. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii* **1991**, 471-475.
- (171) Viseux, E. M. E.; Parsons, P. J.; Pavey, J. B. J. *Synlett* **2003**, 861-863.
- (172) Reichardt, C.; Budnik, U.; Harms, K.; Schafer, G.; Stein, J. *Liebigs Annalen* **1995**, 329-340.
- (173) Chase, C. E.; Jarstfer, M. B.; Arif, A. M.; West, F. G. *Tetrahedron Letters* **1995**, 36, 8531-8534.
- (174) Arnold, R. T.; Kulenovic, S. T. *Synthetic Communications* **1977**, 7, 223-232.
- (175) Reformatsky, S. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft* **1887**, 20, 1210.
- (176) Furstner, A. *Synthesis-Stuttgart* **1989**, 571-590.
- (177) Devys, M.; Barbier, M.; Bousquet, J. F.; Kollmann, A. *Phytochemistry* **1994**, 35, 825-826.
- (178) Devys, M.; Bousquet, J. F.; Kollmann, A.; Barbier, M. *Phytochemistry* **1980**, 19, 2221-2222.

- (179) Anh, N. H.; Ripperger, H.; Porzel, A.; VanSung, T.; Adam, G. *Phytochemistry* **1997**, *44*, 549-551.
- (180) Bertelli, L.; Fiaschi, R.; Napolitano, E. *Gazzetta Chimica Italiana* **1993**, *123*, 669-672.
- (181) Choukchoubraham, N.; Asakawa, Y.; Lepoittevin, J. P. *Tetrahedron Letters* **1994**, *35*, 3949-3952.
- (182) Napolitano, E. *Gazzetta Chimica Italiana* **1991**, *121*, 455-456.
- (183) Kolb, H. C.; Vannieuwenhze, M. S.; Sharpless, K. B. *Chemical Reviews* **1994**, *94*, 2483-2547.
- (184) Hashiyama, T.; Morikawa, K.; Sharpless, K. B. *Journal of Organic Chemistry* **1992**, *57*, 5067-5068.
- (185) Gao, Y.; Hanson, R. M.; Klunder, J. M.; Ko, S. Y.; Masamune, H.; Sharpless, K. B. *Journal of the American Chemical Society* **1987**, *109*, 5765-5780.
- (186) Zhu, Y. M.; Tu, Y.; Yu, H. W.; Shi, Y. *Tetrahedron Letters* **1998**, *39*, 7819-7822.
- (187) Zhu, Y. M.; Shu, L. H.; Tu, Y.; Shi, Y. *Journal of Organic Chemistry* **2001**, *66*, 1818-1826.
- (188) Wang, Z. X.; Tu, Y.; Frohn, M.; Zhang, J. R.; Shi, Y. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, *119*, 11224-11235.
- (189) Wang, Z. X.; Shi, Y. A. *Journal of Organic Chemistry* **1997**, *62*, 8622-8623.
- (190) Warren, J. D.; Shi, Y. *Journal of Organic Chemistry* **1999**, *64*, 7675-7677.
- (191) Concellon, J. M.; Bernad, P. L.; Bardales, E. *Organic Letters* **2001**, *3*, 937-939.
- (192) Barluenga, J.; AlvarezGarcia, L. J.; Romanelli, G. P.; Gonzalez, J. M. *Tetrahedron Letters* **1997**, *38*, 6763-6766.
- (193) Guyot, M.; Molho, D. *Tetrahedron Letters* **1973**, 3433-3436.
- (194) Shair, M. D.; Yoon, T. Y.; Mosny, K. K.; Chou, T. C.; Danishefsky, S. J. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, *118*, 9509-9525.
- (195) Kita, Y.; Higuchi, K.; Yoshida, Y.; Iio, K.; Kitagaki, S.; Ueda, K.; Akai, S.; Fujioka, H. *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123*, 3214-3222.
- (196) Ukita, T.; Nakamura, Y.; Kubo, A.; Yamamoto, Y.; Moritani, Y.; Saruta, K.; Higashijima, T.; Kotera, J.; Takagi, M.; Kikkawa, K.; Omori, K. *Journal of Medicinal Chemistry* **2001**, *44*, 2204-2218.
- (197) Jankowska, R.; Mhehe, G. L.; Liu, H. J. *Chemical Communications* **1999**, 1581-1582.
- (198) Liu, H. J.; Yip, J.; Shia, K. S. *Tetrahedron Letters* **1997**, *38*, 2253-2256.
- (199) Shu, C. K.; Lawrence, B. M. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1995**, *43*, 782-784.
- (200) Langlois, D. P.; Wolff, H. *Journal of the American Chemical Society* **1948**, *70*, 2624-2626.
- (201) Kropp, P. J.; Daus, K. A.; Tubergen, M. W.; Kepler, K. D.; Wilson, V. P.; Craig, S. L.; Baillargeon, M. M.; Breton, G. W. *Journal of the American Chemical Society* **1993**, *115*, 3071-3079.
- (202) Kropp, P. J.; Daus, K. A.; Crawford, S. D.; Tubergen, M. W.; Kepler, K. D.; Craig, S. L.; Wilson, V. P. *Journal of the American Chemical Society* **1990**, *112*, 7433-7434.
- (203) Hill, R. A.; Carter, R. H.; Staunton, J. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* **1981**, 2570-2576.

- (204) Rodrigues-Heerklotz, K. F.; Drandarov, K.; Heerklotz, J.; Hesse, M.; Werner, C. *Helvetica Chimica Acta* **2001**, *84*, 3766-3772.
- (205) Park, S. H.; Stierle, A.; Strobel, G. A. *Phytochemistry* **1994**, *35*, 101-106.
- (206) Sugawara, F.; Strobel, G.; Fisher, L. E.; Vanduyne, G. D.; Clardy, J. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1985**, *82*, 8291-8294.
- (207) Hadacek, F.; Greger, H. *Phytochemical Analysis* **2000**, *11*, 137-147.
- (208) Sato, K.; Kira, M.; Sakurai, H. *Tetrahedron Letters* **1989**, *30*, 4375-4378.
- (209) Vedejs, E. V.; Pribish, J. R. *Journal of Organic Chemistry* **1988**, *53*, 1593-1599.

