

### 139. Synthèse partielle et propriétés oncostatiques des pseudo-tubulosines, analogues de l'émétine et de la tubulosine

par Elisabeth Seguin et Michel Koch

Laboratoire de Pharmacognosie de l'Université René-Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, 4, avenue de l'Observatoire, F-75006 Paris

et Evelyne Chenu et Marcel Hayat

Institut de Cancérologie et d'Immunogénétique, Groupe Hospitalier Paul Brousse, 14-16, avenue Paul-Vaillant-Couturier, F-94800 Villejuif

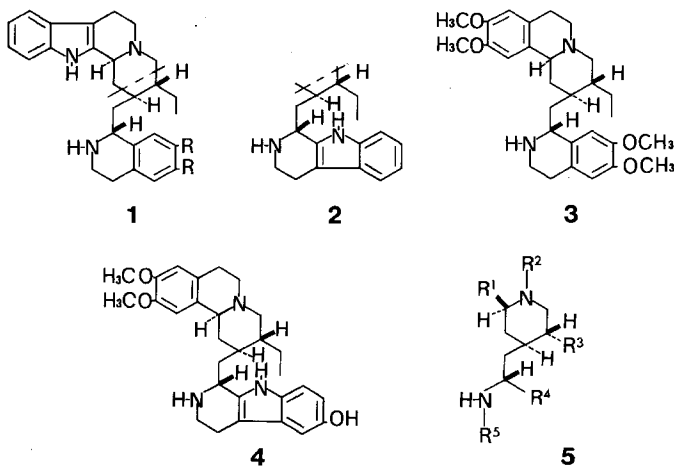
(21.I.80)

#### Partial Synthesis and Oncostatic Properties of Pseudotubulosines, Analogues of Emetine and Tubulosine

##### Summary

Pseudotubulosines, structural analogues of emetine and tubulosine, have been synthesized by either *Pictet-Spengler* or *Bischler-Napieralski* condensation from dihydrocorynantheal or corynantheidal. Spectral data, cytotoxic and oncostatic properties of these new alkaloids are described.

Dans une note préliminaire [1] nous avons rapporté la synthèse partielle des «pseudotubulosines»<sup>1)</sup> **1**, alcaloïdes apparentés à l'ochrolifuanine A (**2**) [2] [3], à l'émétine (**3**) [4] et à la tubulosine (**4**) [4] [5]. Il s'agit d'alcaloïdes d'un type



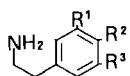
<sup>1)</sup> Quatre de ces composés ont été décrits ultérieurement par *J. Le Men et al.*, *Heterocycles* **6**, 1895 (1977).

nouveau non encore rencontré à l'état naturel, mais susceptible d'exister dans le règne végétal. Ils peuvent en effet résulter d'une biogénèse analogue à celle des trois autres types d'alcaloïdes [6]. Une activité biologique intéressante pourrait être espérée de ces molécules présentant dans leur structure le même enchaînement 5 que l'émétine et la tubulosine, et auquel est liée selon *Grollman* [7] l'activité inhibitrice de la biosynthèse protéique présentée par ces alcaloïdes.

Afin de vérifier ces propriétés éventuelles et l'influence de divers facteurs structuraux, des «pseudotubulosines» ont été préparées, différant par la configuration en C(17) et C(20), et par les substituants sur la partie tétrahydroisoquinoléique de la molécule. Le présent mémoire décrit l'obtention, les caractéristiques physiques et spectrales et la recherche des propriétés cytotoxiques (test «*allium*») et antitumorales (leucémie «L 1210») de ces alcaloïdes.

Les «pseudotubulosines» ont été préparées par synthèse partielle selon les méthodes de *Pictet-Spengler* [8] et de *Bischler-Napieralski* [9], utilisées dans les séries de l'ochrolifuanine, de l'émétine et de la tubulosine [4] [10] [11].

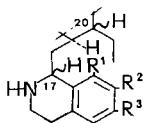
La condensation selon *Pictet-Spengler* entre une phényléthylamine 6-11 et l'aldéhyde correspondant à la partie corynane de la molécule permet d'accéder en une seule étape aux dérivés souhaités. Les aldéhydes sont le dihydrocorynanthéal (12b) possédant en C(20) la même configuration que l'atome de carbone homologue de l'émétine et la tubulosine, et le corynanthéidal (12a) avec la configuration inverse. Ces aldéhydes sont aisément obtenus [3] par action de l'acide chlorhydrique sur la dihydrocorynanthéine (13b) ou la corynanthéidine (13a) [12], abondants à l'état naturel.



- 6  $R^1 = R^2 = R^3 = H$   
 7  $R^1 = H \quad R^2 = R^3 = OCH_3$   
 8  $R^1 = H \quad R^2 = R^3 = OH$   
 9  $R^1 = H \quad R^2 = OH \quad R^3 = OCH_3$   
 10  $R^1 = R^2 = R^3 = OCH_3$   
 11  $R^1 = R^3 = H \quad R^2 = OH$



- 12  $R = C H_2 C H O$  } a 20.  $\alpha$ -H  
 13  $R = (E)-C (C O_2 C H_3) = C H O C H_3$  } b  $\beta$



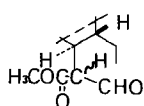
- 14  $R^1 = H \quad R^2 = R^3 = OCH_3$  } a 17.  $\alpha$ -H 20.  $\beta$ -H  
 } b  $\beta$   $\beta$   
 } c  $\beta$   $\alpha$   
 } d  $\alpha$   $\alpha$   
 15  $R^1 = H \quad R^2 = R^3 = OH$   
 16  $R^1 = H \quad R^2 = OH \quad R^3 = OCH_3$  } a  $\alpha$   $\beta$   
 } b  $\alpha$   $\beta$   
 17  $R^1 = R^2 = R^3 = OCH_3$

Les conditions optimales de la condensation sont très variables selon l'amine utilisée: avec la dopamine (8), la cyclisation est totale en milieu acétique dilué, alors que l'homovératrylamine (7) ne réagit pas dans les mêmes conditions.

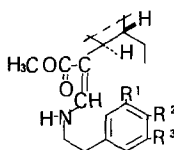
En revanche, la réaction est totale en présence d'acide chlorhydrique concentré avec l'homovératrylamine (7), la mescaline (10) et l'hydroxy-4-méthoxy-3-phényl-éthylamine (9). Avec la phényléthylamine (6) et la tyramine (11), la cyclisation n'a pas été possible (milieu aqueux, tampon phosphate pH6, acide acétique dilué, acide phosphorique concentré, acide chlorhydrique à diverses dilutions).

Dans tous les cas où la cyclisation est réalisée (14a-d, 15a-d, 16a-b, 17a-b), elle conduit à un mélange de diastéréoisomères en C(17) (avec la configuration *R* en C(17) légèrement prédominante dans tous les cas); ce mélange a pu être séparé par chromatographie sur colonne de silice, ou exceptionnellement (15a, b) par cristallisation fractionnée. Toutefois, les composés 15c, d n'ont pu être séparés qu'à l'état de dérivés méthylés 14c, d.

L'absence de réactivité observée dans le cas de la phényléthylamine (6) et de la tyramine (11) s'explique aisément. En effet, la réaction de *Pictet-Spengler* résulte d'une attaque électrophile favorisée par un accroissement de la densité électronique au niveau du site aromatique de cyclisation [8]. Dans la phényléthylamine (6) et dans la tyramine (11), ce site ne subit qu'une activation négligeable. L'utilisation d'un aldéhyde  $\beta$ -carbonylé, susceptible de fournir une base de *Schiff* stabilisée par conjugaison avec le groupement carbonyle, devrait pallier cette difficulté et conduire en milieu acide aux dérivés cyclisés. La déméthyl-dihydrocorynanthéine (18) répond à ce critère et est d'un accès facile, étant obtenue par action de l'acide chlorhydrique gazeux sur une solution acétonique de dihydrocorynanthéine (13b) [13]. Après cyclisation, le groupement méthoxycarbonyle ayant favorisé l'obtention initiale de la base de *Schiff*, est éliminé par saponification de l'ester et décarboxylation de l'acide formé. Le composé 18 présente effectivement une grande réactivité vis-à-vis des amines: l'obtention des bases de *Schiff* 19-23 est pratiquement instantanée en présence de quantités équimoléculaires des phényléthylamines 6-10 dans le méthanol. Cependant aucune réaction n'est observée avec la tyramine (11). L'étude spectrale des bases de *Schiff* 19-23 montre un équilibre entre les formes imine et énamine conjuguée, cette dernière prédominant dans tous les cas. Le spectre IR. présente une bande de forte intensité vers  $1670-1675\text{ cm}^{-1}$  traduisant l'existence d'un groupement ester conjugué.



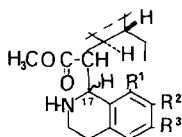
18


 19  $R^1 = R^2 = R^3 = H$ 

 20  $R^1 = H \quad R^2 = R^3 = OCH_3$ 

 21  $R^1 = H \quad R^2 = R^3 = OH$ 

 22  $R^1 = H \quad R^2 = OH \quad R^3 = OCH_3$ 

 23  $R^1 = R^2 = R^3 = OCH_3$ 

 24  $R^1 = H \quad R^2 = R^3 = OCH_3$ 

 25  $R^1 = H \quad R^2 = R^3 = OH$ 

 26  $R^1 = H \quad R^2 = OH \quad R^3 = OCH_3$ 

 27  $R^1 = R^2 = R^3 = OCH_3$ 

 a  $17-\alpha-H$ 

 b  $\beta$ 

Sous l'action de l'acide chlorhydrique concentré, à froid, les bases de *Schiff* 20-23 se cyclisent pour conduire, avec un rendement pratiquement quantitatif, au mélange des épimères en C(17), séparés par chromatographie sur colonne de

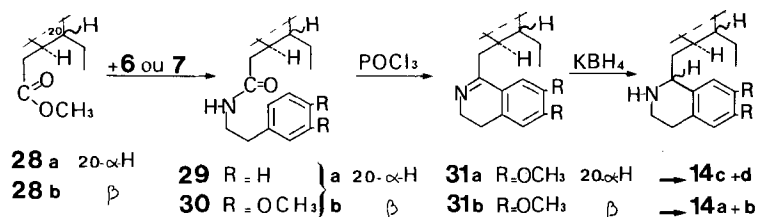
silice. L'obtention des dérivés cyclisés **24a, b-27a, b**, est confirmée par l'analyse de leurs spectres. En spectrométrie de masse, l'intensité du pic moléculaire est beaucoup plus faible pour les formes cyclisées que pour les bases de *Schiff* correspondantes (stabilisation de ces dernières par conjugaison). De plus, le pic de base se trouve à  $m/z=252$  pour les bases de *Schiff* (rupture en *a* de la double liaison), mais à  $m/z=325$  dans les produits cyclisés (rupture en *a* du cycle).

Dans le spectre IR., la bande correspondant à la vibration de valence du groupe méthoxycarbonyle est déplacée vers  $1730\text{ cm}^{-1}$ . Dans le spectre  $^1\text{H-RMN}$ , apparaissent le signal de H-C(17) (vers 4,5 ppm), celui d'un proton échangeable contre  $\text{D}_2\text{O}$  à 2-3 ppm attribuable au NH isoquinoléique (masqué sur le spectre de la base de *Schiff*), tandis que la disparition du signal d'un proton aromatique vers 6,5 ppm est constatée.

La mise en œuvre de la déméthylidihydrocorynanthéine (**18**) n'a cependant pas permis la synthèse de pseudotubulosines autres que celles obtenues à partir du dihydrocorynanthéal (**12b**), la condensation avec la tyramine (**11**) s'étant révélée impossible. Avec la phényléthylamine (**6**) la base de *Schiff* obtenue n'a pu être cyclisée.

La synthèse partielle des pseudotubulosines selon la méthode de *Bischler-Napieralski* [9] nécessite trois étapes: préparation des amides, cyclisation et réduction.

Les amides sont préparées par action d'un excès d'amine sur le dihydrocorynanthoate<sup>2)</sup> (**28b**) ou le corynanthédate (méthyle<sup>2)</sup>) (**28a**) de méthyle<sup>2)</sup> vers  $180^\circ$  en présence d'un catalyseur, l'hydroxy-2-pyridine [15]. Dans ces conditions les composés **29a, b-30a, b** sont obtenus. En revanche, la dopamine et la tyramine ne réagissent pas<sup>3)</sup>.



La cyclisation des amides **30a, b** en présence d'oxychlorure de phosphore conduit aux composés **31a, b**, avec des rendements pratiquement quantitatifs. Par contre, il n'a pas été possible de cycliser les amides **29a, b** ( $\text{POCl}_3$ ,  $\text{PCl}_5$ , acide polyphosphorique, à différentes températures, dans différents solvants).

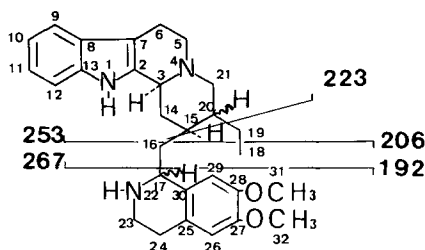
La réduction des dérivés cyclisés par le borohydrure de potassium conduit aux pseudotubulosines **14a-d**, avec un rendement pratiquement quantitatif. Chaque couple d'épimères est séparé comme précédemment.

*Caractéristiques physiques et spectrales.* La structure des pseudotubulosines est confirmée par l'étude de leurs spectres UV., IR.,  $^1\text{H-}$  et  $^{13}\text{C-RMN}$ . et de masse.

<sup>2)</sup> Esters obtenus directement à partir des aldéhydes correspondants **12a, b**, par oxydation à l'aide du réactif de Jones [14].

<sup>3)</sup> Dans le xylène à  $140^\circ$ .

La configuration en C(17) de chaque épimère est établie par DC. Les caractéristiques spectrales de ces molécules sont très voisines. Nous n'analyserons à titre d'exemple que celles des composés **14a-d**. Les spectres UV. de type indolique (éthanol neutre,  $\lambda_{\text{max}}$  nm: 226, 282, épaulement à 290) sont peu modifiés en milieu acide ou alcalin. Les spectres IR. présentent des bandes à 3380 (NH), 2840, 2800 et 2760 («bandes de *Bohlmann*» [16]), 1610 (indole) et  $750\text{ cm}^{-1}$  (aromatique *o*-disubstitué). En spectrométrie de masse on observe une fragmentation analogue à celle déjà décrite pour les alcaloïdes apparentés: émétine (**3**), tubulosine (**4**) et ochrolifuanine (**2**) [3] [17] (voir *Schéma*).



Les spectres  $^1\text{H}$ -RMN. présentent 2 *s* élargis échangeables par deutériation vers 8,5 ppm (NH indolique) et vers 2 ppm (NH isoquinoléique); 1 *t* ( $J=6\text{ Hz}$ ) vers 1 ppm ( $\text{CH}_3\text{-C}(18)$ ); 2 (ou 1) *s* vers 3,80 ppm (2  $\text{OCH}_3$ ); 1 *d* $\times$ *d* vers 4 ppm ( $\text{H-C}(17)$ ); 2 *s* vers 6,50 ppm ( $\text{H-C}(26)$  et  $\text{H-C}(29)$ ) confirmant la création d'une liaison entre C(17) et C(30) lors de la cyclisation; enfin un massif de 4 H aromatiques ( $\text{H-C}(9\text{-}12)$ ) entre 7 et 7,50 ppm.

Les spectres  $^{13}\text{C}$ -RMN. des pseudotubulosines **14a-d** sont analysés en fonction de la multiplicité des signaux dans les spectres en découplage partiel, et par comparaison avec ceux de modèles de type tétrahydroisoquinoléine et corynane [18] [19] et ainsi qu'avec ceux de l'ochrolifuanine et de l'émétine [20]. Les attributions de certains atomes de carbone homologues, C(3), C(17) et C(15), C(20) ou de déplacements chimiques très voisins C(16), C(23) sont confirmées par examen des spectres enregistrés en présence d'un complexe de terre rare ( $\text{Yb}(\text{fod})_3$ ) qui se fixe préférentiellement (et même uniquement à faible concentration) sur N(22). Celui-ci est en effet plus basique que l'azote tertiaire de l'enchaînement *trans*-quinolizidine et que l'azote indolique. Les déplacements chimiques exprimés en ppm par rapport au TMS sont rassemblés dans le *Tableau 1*.

La stéréochimie des pseudotubulosines au niveau des atomes de carbone 3, 15 et 20 est celle des matières premières utilisées pour leur synthèse. Seule la configuration en C(17) demeure indéterminée et ne peut être précisée par  $^1\text{H}$ - ou  $^{13}\text{C}$ -RMN., les variations observées lors de l'inversion de configuration de ce centre chiral n'étant pas significatives. En revanche, la configuration en C(17) peut être déduite sans ambiguïté de l'examen des courbes de DC. [1]. Celles-ci traduisent la sommation de la contribution positive du C(3) (3 *a*H) et de celle du C(17) qui est soit positive (17-*a*-H=(17 *S*), ex.: **14a**, **14d**), soit négative (17- $\beta$ -H=(17 *R*), ex.: **14b**, **14c**).

*Cytotoxicité* (test *Allium*). La cytotoxicité des pseudotubulosines **14a-d**, **15a-b** a été étudiée sur les cellules proliférantes des extrémités méristématiques des

Tableau 1. Déplacements chimiques du  $^{13}\text{C}$  des pseudotubulosines **14a-d** (ppm/TMS)

	<b>14a</b>	<b>14b</b>	<b>14c</b>	<b>14d</b>		<b>14a</b>	<b>14b</b>	<b>14c</b>	<b>14d</b>
C(2)	135,1	135,3	135,8	135,6	C(18)	11,1	11,1	12,7	12,7
C(3)	59,9	59,8	60,5	60,7	C(19)	23,8	23,5	18,4	17,7
C(5)	53,2	53,2	53,5	53,5	C(20)	42,8	42,2	40,9	37,9
C(6)	21,7	21,8	21,9	21,9	C(21)	60,4	60,5	58,1	57,9
C(7)	107,6	107,5	107,7	107,9	C(23)	40,6	40,1	41,8	40,6
C(8)	127,4	127,3	127,4	127,5	C(24)	27,9	29,2	29,3	29,4
C(9)	117,9	117,9	117,9	118,0	C(25)	125,9	126,6	126,9	127,1
C(10)	121,0	120,9	120,9	121,0	C(26)	111,8	111,8	111,8	111,9
C(11)	119,0	118,9	119,0	119,2	C(27)	147,9 <sup>a</sup>	147,2	147,2	147,4
C(12)	111,0	110,8	110,7	110,8	C(28)	147,5 <sup>a</sup>	147,2	147,2	147,4
C(13)	136,2	136,3	136,1	136,1	C(29)	109,6	109,2	109,4	109,4
C(14)	37,4	34,8	30,9	33,2	C(30)	130,3	132,2	132,1	132,1
C(15)	39,4	36,3	36,2	36,8	C(31)	55,9 <sup>b</sup>	55,7 <sup>a</sup>	55,9	55,9 <sup>a</sup>
C(16)	40,0	39,5	39,9	39,8	C(32)	56,1 <sup>b</sup>	55,5 <sup>a</sup>	55,9	56,1 <sup>a</sup>
C(17)	55,2	51,3	52,3	52,4					

<sup>a</sup>) et <sup>b</sup>). Les attributions peuvent être interverties sur la même colonne.

racines d'ail (*Allium sativum* L.) selon quatre critères: les variations des index mitotiques, la répartition des quatre principales phases de la mitose, les conditions de réversibilité du traitement et l'apparition éventuelle du phénomène des «anaphases à pôles flottants» [22] [23] particulier à la tubulosine et à certaines molécules apparentées [24] [25]. Nous avons déjà indiqué [21] que toutes les pseudotubulosines sont actives sur ce test. On retrouve les manifestations habituelles de l'inhibition de la protéogénèse. Mais ces phénomènes sont beaucoup moins importants que ceux observés avec la tubulosine base utilisée comme référence. Aucune différence significative de cytotoxicité ne peut être relevée entre les six composés, bien que deux d'entre eux **14b** et **15b** présentent l'enchaînement **5** de *Grollman*.

*Activité oncostatique* (leucémie L 1210). Les six pseudotubulosines **14a-d**, **15a-b** ont été essayées sur la leucémie L 1210 de la souris afin de déterminer leur activité oncostatique (*cf.* partie expérimentale). La DL 50 aiguë a été déterminée graphiquement pour chaque produit en tenant compte du pourcentage d'animaux morts par toxicité (*Tabl.* 2). Les résultats de l'activité oncostatique sont rassemblés dans le *Tableau* 3. Les résultats ont été exprimés par:

$$I = \frac{\text{survie médiane en jours du groupe traité}}{\text{survie médiane en jours du groupe témoin}} \times 100$$

Les survies de chaque groupe traité et du groupe témoin ont été comparées statistiquement par le test non-paramétrique W de *Wilcoxon*. Si I est supérieur à 125 et que la différence de survie entre les deux groupes traité et témoin est statistiquement significative, le composé étudié est considéré comme actif.

Tableau 2. Détermination de la DL 50 aiguë des pseudotubulosines **14a-d**, **15a-b**

	DL 50 (mg/kg)		DL 50 (mg/kg)
<b>14a</b>	13	<b>14d</b>	6
<b>14b</b>	13	<b>15a</b>	9
<b>14c</b>	6	<b>15b</b>	10

Tableau 3. Effet des pseudotubulosines 14a-d, 15a-b sur la leucémie L 1210 de la souris

	Doses (mg/kg)	I		Doses (mg/kg)	I
<b>14a</b>	20	67	<b>14d</b>	20	58
	8	114		8	83
	5	114		5	114
	2	114		2	90
	2	100		1,5	100
<b>14b</b>	20	68	<b>15a</b>	20	67
	8	103		8	83
	5	93		5	83
	2	97		2	131
	2	100		1,5	100
<b>14c</b>	20	67	<b>15b</b>	20	67
	8	83		8	110
	5	93		5	117
	2	131		2	110
	1,5	100		1,5	133

Les résultats n'ont pas de signification statistique.

Les DL 50 aiguës des 6 pseudotubulosines sont comprises entre 6 et 13 mg/kg. Elles n'ont manifesté aucune activité oncostatique sur la leucémie L 1210 de la souris.

#### Partie expérimentale

Les chromatographies sur couche mince sont faites sur gel de silice G type 60 *Merck* (révélateur: réactif de *Dragendorff*) et les chromatographies sur colonne sur gel de silice *Merck*. Les pouvoirs rotatoires (EtOH) ont été mesurés avec un polarimètre *Perkin-Elmer* 241. Les spectres UV. (EtOH,  $\lambda_{\max}$  nm (log $\epsilon$ )) ont été enregistrés sur un spectrophotomètre *Unicam* SP 1700 et les absorptions dichroïques (EtOH,  $\lambda(\Delta\epsilon)$ ) mesurées avec un dichographe *Jouan Roussel* type III. Les spectres IR. (KBr, cm<sup>-1</sup>) ont été enregistrés sur spectrographe *Beckman* IR 4250, les spectres <sup>1</sup>H-RMN. (CDCl<sub>3</sub>, pour **15a, b** CD<sub>3</sub>OD) sur spectromètre *Bruker* 80 MHz et les spectres <sup>13</sup>C-RMN. sur *Varian* CFT 20 (cf. *Tabl. 2*). Les spectres de masse (*m/z*, % du pic de base) ont été faits par le laboratoire de spectrométrie de masse du *CNRS* à Lyon.

**1. Synthèse partielle de 14a, b-17a, b par la méthode de Pictet-Spengler.** - *Pseudotubulosines 14a et 14b*. Une solution de 200 mg de **12b** et 160 mg de **7** dans 2 ml de méthanol est chauffée sous reflux 15 min. puis distillée à sec. Le résidu obtenu est repris par 1 ml d'acide chlorhydrique concentré puis laissé 48 h à 20°. Après dilution à l'eau, alcalinisation par NH<sub>4</sub>OH, extraction par de l'éther puis évaporation à sec, on obtient 320 mg de produit brut que l'on chromatographie sur colonne de silice. L'éluion par un mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/méthanol 98:8 (v/v) donne 105 mg **14a** (33%) et 190 mg **14b** (60%).

**14a:**  $[\alpha]_D^{20} = +33^\circ$  ( $c=0,1$ ). - UV.: 226 (4,42), 282 (4,02); 290 (4,01). - DC.: 272 (+1,57), 274 (+1,48), 276 (+1,57), 284 (+1,21), 286 (+1,30), 290 (+1,12), 292 (+1,21), 310 (0). - IR.: 3380, 2840, 2810, 2760, 1625, 740. - <sup>1</sup>H-RMN.: 0,95 (*t*, 3 H); 1,85 (*s*, 1 H, éch. D<sub>2</sub>O); 3,83 (*s*, 6 H); 4,09 (*m*, 1 H); 6,51-6,59 (2 *s*, 2 H); 6,95-7,60 (*m*, 4 H); 8,57 (*s*, 1 H, éch. D<sub>2</sub>O). - SM.: 459 (25, M<sup>+</sup>), 253 (20), 249 (16), 247 (18), 246 (27), 231 (16), 223 (20), 207 (17), 206 (100), 205 (27), 204 (27), 192 (30), 191 (12), 190 (21), 160 (11), 149 (34), 124 (15).

**14b:** F. 185°;  $[\alpha]_D^{20} = +49^\circ$  ( $c=0,1$ ). - UV.: 226 (4,41), 282 (4,03), 290 (4,01). - DC.: 263 (+0,786), 266 (+0,721), 268 (+0,852), 277 (0), 284 (-0,917), 288 (-0,458), 290 (-1,31), 295 (0), 298 (+0,786), 310 (0). - IR.: 3380, 2850, 2810, 2750, 1625, 750. - <sup>1</sup>H-RMN.: 1,00 (*t*, 3 H); 1,83 (*s*, 1 H, éch. D<sub>2</sub>O); 3,78-3,92 (2 *s*, 3 H chacun); 4,05 (*m*, 1 H); 6,40-6,60 (2 *s*, 1 H chacun); 6,95-7,60 (*m*, 4 H); 8,95 (*s*, 1 H, éch. D<sub>2</sub>O). - SM.: 459 (8, M<sup>+</sup>), 253 (10), 252 (22), 251 (28), 249 (20), 247

(13), 246 (17), 223 (34), 221 (12), 207 (11), 206 (100), 205 (27), 204 (19), 192 (33), 190 (19), 169 (12), 149 (25), 144 (11), 125 (13), 124 (18).

*Pseudotubulosines 14c et 14d.* Synthétisées comme **14a** et **14b** à partir de **12a** et de **7**.

**14c** (Rdt. 38%):  $[\alpha]_D^{20} = -79^\circ$  ( $c=0,1$ ). - UV.: 226 (4,38), 282 (4,01), 290 (4,01). - DC.: 268 (+0,702), 280 (0), 286 (-0,319), 288 (-0,191), 290 (-0,383), 295 (0), 300 (+0,447), 310 (0). - IR.: 3380, 3060, 2850, 2800, 2760, 1625. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 0,90 ( $t$ , 3 H); 1,86 ( $s$ , 1 H, éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 3,81-3,84 (2  $s$ , 3 H chacun); 3,95 ( $m$ , 1 H); 6,45-6,55 (2  $s$ , 1 H, chacun); 6,95-7,55 ( $m$ , 4 H); 8,25 ( $s$ , 1 H, éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 459 (24,  $M^+$ ); 329 (20), 267 (20), 265 (12), 254 (13), 253 (16), 252 (21), 251 (28), 225 (13), 223 (30), 206 (51), 205 (16), 193 (15), 192 (100), 169 (19), 144 (17), 124 (41).

**14d** (Rdt. 35%):  $[\alpha]_D^{20} = -50^\circ$  ( $c=0,1$ ). - UV.: 226 (4,42), 282 (4,02), 290 (4,01). - DC.: 272 (+1,12), 284 (+0,975), 286 (+1,18), 290 (+0,765), 292 (+1,22), 310 (0). - IR.: 3380, 3060, 2880, 2800, 2750, 1620, 1520. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 0,95 ( $t$ , 3 H); 1,65 ( $s$ , 1 H, éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 3,84 ( $s$ , 6 H); 4,05 ( $m$ , 1 H); 6,58 ( $s$ , 2 H); 7,00-7,60 ( $m$ , 4 H); 8,25 ( $s$ , 1 H, éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 459 (28,  $M^+$ ), 329 (20), 267 (19), 265 (10), 254 (11), 253 (11), 252 (13), 251 (19), 225 (10), 223 (17), 206 (51), 205 (10), 193 (14), 192 (100), 170 (10), 169 (13), 149 (13), 144 (11), 124 (27).

*Pseudotubulosines 16a et 16b.* Synthétisées à partir de **12b** et de **9** selon la méthode utilisée pour **14a** et **14b**.

**16a** (Rdt. 18%):  $[\alpha]_D^{20} = +41^\circ$  ( $c=0,1$ ). - UV.: 226 (4,56), 282 (4,01), 290 (3,97). - DC.: 288 (+2,83), 292 (+2,18), 294 (+2,21). - IR.: 3400, 2840, 2800, 2750, 1625, 1515, 1450, 750. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 0,90 ( $t$ , 3 H); 3,75 ( $s$ , 3 H); 3,90 ( $m$ , 1 H); 4,35 ( $s$ , 2 H, éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 6,42 ( $s$ , 2 H); 6,75-7,50 ( $m$ , 4 H); 9,00 ( $s$ , 1 H, éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 445 (55,  $M^+$ ), 444 (12), 315 (40), 268 (10), 267 (22), 254 (21), 253 (22), 252 (23), 251 (42), 225 (15), 223 (23), 192 (50), 179 (12), 178 (100), 171 (14), 170 (13), 169 (16), 163 (11).

**16b** (Rdt. 52%):  $[\alpha]_D^{20} = -5^\circ$  ( $c=0,1$ ). - UV.: 226 (4,61), 282 (4,05), 290 (4,01). - DC.: 270 (+0,828), 282 (+0,079), 286 (-0,079), 292 (-0,512), 295 (0), 300 (+0,631), 312 (0). - IR.: 3400, 2850, 2800, 2750, 1650, 1515, 1460, 750. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 0,85 ( $t$ , 3 H); 3,80 ( $s$ , 3 H); 3,95 ( $m$ , 1 H); 4,75 ( $s$ , 2 H, éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 6,42 ( $s$ , 1 H); 6,70 ( $s$ , 1 H); 6,85-7,50 ( $m$ , 4 H); 9,09 ( $s$ , 1 H, éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 445 (60,  $M^+$ ), 444 (11), 315 (32), 268 (11), 267 (23), 254 (23), 253 (22), 252 (19), 251 (39), 192 (62), 179 (12), 178 (100), 171 (14), 170 (10), 169 (14), 163 (10).

*Pseudotubulosines 17a et 17b.* Synthétisées à partir de **12b** et de **10** selon la méthode utilisée pour **14a** et **14b**.

**17a** (Rdt. 16%):  $[\alpha]_D^{20} = +18^\circ$  ( $c=0,05$ ). - UV.: 226 (4,66), 280 (3,96), 290 (3,87). - DC.: 252 (0), 274 (+2), 278 (+1,82), 280 (+2), 282 (+1,76), 286 (+2), 310 (0). - IR.: 3400, 2840, 2800, 2740, 1600, 1490, 1460, 740. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 0,90 ( $t$ , 3 H); 3,87, 3,80, 3,77 (3  $s$ ,  $3 \times 3$  H); 4,10 ( $d$  élargi centré sur 1 H); 4,30 ( $s$ , 1 H, éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 6,24 ( $s$ , 1 H); 6,65-7,50 ( $m$ , 4 H); 9,10 ( $s$ , 1 H, éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 489 (33,  $M^+$ ), 458 (13), 359 (19), 268 (12), 267 (33), 265 (10), 253 (14), 252 (14), 251 (35), 250 (10), 249 (17), 237 (10), 236 (29), 224 (10), 223 (55), 222 (100), 221 (17), 220 (16), 206 (12), 205 (10), 192 (17), 182 (13), 170 (15), 169 (22), 168 (10), 156 (13), 149 (14), 144 (13), 124 (19).

**17b** (Rdt. 34%):  $[\alpha]_D^{20} = -69^\circ$  ( $c=0,1$ ). - UV.: 226 (4,64), 280 (3,98), 290 (3,87). - DC.: 272 (+1,68), 282 (+1,32), 288 (+1,80), 290 (+1,14), 296 (+1,80), 310 (0). - IR.: 3400, 2840, 2800, 2740, 1600, 1590, 1490, 1460, 1120, 740. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 0,90 ( $t$ , 3 H); 3,55 ( $s$ , 3 H); 3,70 ( $s$ , 6 H); 3,80 ( $s$ , 1 H, éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 4,35 ( $d$  élargi, 1 H); 6,17 ( $s$ , 1 H); 6,75-7,50 ( $m$ , 4 H); 9,86 ( $s$ , 1 H, éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 489 (55,  $M^+$ ), 458 (31), 267 (56), 253 (39), 252 (28), 251 (76), 249 (22), 237 (25), 236 (98), 225 (20), 224 (23), 223 (99), 222 (100), 221 (28), 220 (33), 206 (22), 192 (40), 171 (26), 170 (38), 169 (54), 168 (25), 156 (33), 144 (39), 124 (28).

*Pseudotubulosines 15a et 15b.* Un mélange de 62 mg de dihydrocorynanthéal (**12b**) et de 62 mg de dopamine (**8**) dans 1 ml d'acide acétique 1N est maintenu pendant 10 jours à  $20^\circ$  à l'abri de la lumière. Le dérivé **15a** cristallise dans le milieu réactionnel. Recristallisation dans du méthanol (Rdt. 39%). Les eaux-mères sont alcalinisées par une solution aqueuse de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  à 10%. Les bases précipitées sont essorées, séchées puis chromatographiées sur colonne de silice. Le dérivé **15b** est cristallisé dans du méthanol/acide chlorhydrique (Rdt. 44%).

**15a**: F. acétate  $228^\circ$ ,  $[\alpha]_D^{20} = +75^\circ$  ( $c=0,1$ ). - UV.: 226 (4,68), 282 (3,99), 290 (3,96). - IR.: 3400, 3250, 2850, 2800, 2720, 1650, 1625, 1530, 1460, 1270, 1025, 750. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 0,98 ( $t$ , 3 H); 6,59, 6,70 (2  $s$ , 2 H); 7,00-7,57 ( $m$ , 4 H). - SM.: 431 (2,  $M^+$ ), 267 (12), 254 (52), 253 (88), 250 (57), 249 (47), 248 (48), 246 (10), 236 (15), 235 (59), 234 (10), 233 (14), 232 (28), 223 (39), 222 (95), 221 (26), 176 (30), 170 (27), 169 (29), 164 (31), 136 (26), 130 (24).



**15b:** F. chlorhydrate 260°;  $[\alpha]_D^{20} = +33^\circ$  ( $c=0,2$ ). - UV.: 226 (4,67), 282 (3,96), 290 (3,94). - IR.: 3400, 3160, 2850, 2800, 2720, 2610, 1630, 1610, 1530, 1460, 1280, 775, 750. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 1,01 ( $t$ , 3 H); 6,59, 6,60 (2  $s$ , 2 H); 7,00-7,57 ( $m$ , 4 H). - SM.: 431 (0,7,  $M^+$ ), 254 (28), 253 (48), 252 (11), 251 (20), 250 (19), 249 (30), 247 (27), 223 (18), 207 (11), 178 (12), 177 (21), 176 (24), 170 (14), 169 (21), 164 (23), 149 (15), 130 (17), 124 (100), 123 (38).

*Pseudotubulosines 15c et 15d.* Un mélange de 60 mg de **12a** et de 60 mg de **8** dans 1 ml d'acide acétique 1 N est maintenu pendant 48 h à 20° à l'abri de la lumière. Le milieu est alcalinisé par une solution aqueuse de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  à 10%. Les bases précipitées sont essorées puis séchées. Les 2 épimères (1:1) mal séparés et très rapidement altérés sont étudiés en mélange.

**15c, 15d:** UV.: 226 (4,52), 282 (3,96), 290 (3,92). - IR.: 3400, 3300, 2860, 2800, 2750, 1625, 1560, 1450, 1275, 750. - SM.: 431 (0,5,  $M^+$ ), 279 (15), 253 (25), 250 (30), 249 (31), 248 (22), 247 (61), 236 (35), 232 (21), 231 (19), 223 (20), 222 (47), 221 (20), 207 (73), 192 (17), 191 (10), 178 (17), 177 (29), 176 (33), 169 (17), 167 (57), 164 (30), 149 (90), 143 (11), 136 (36), 131 (15), 130 (27), 129 (13), 125 (15), 124 (100), 123 (49).

*Méthylation du mélange 15c-15d en 14c-14d.* Une solution de 100 mg du mélange des 2 alcaloïdes dans le minimum d'éthanol à 96° est mise en contact avec un excès de solution étherée de diazométhane. Le mélange est abandonné 48 h à 4°. Après évaporation de l'éther, le résidu huileux repris par de l'éther est lavé avec NaOH 1N, puis de l'eau, séché ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) et évaporé à sec. Les 2 produits majoritaires sont séparés par chromatographie et identifiés, grâce à leurs caractéristiques spectrales, aux dérivés **14c** et **14d** (**14c:** Rdt. 17%, **14d:** Rdt. 21%).

**2. Synthèses partielles de 24a, b-27a, b à partir de la déméthylidihydrocorynanthéine (18).** - Base de Schiff **20** et dérivés cyclisés **24a** et **24b.** Une solution de 190 mg de **18** (synthétisé selon [13]) et 250 mg de **7** dans 10 ml de méthanol est laissée 4 h à température ambiante. Après évaporation du méthanol, le produit formé est séparé de l'amine en excès par filtration sur colonne de silice. On obtient 267 mg de base de Schiff **20** (Rdt. 96%). Le produit séparé est repris par 2 ml d'acide chlorhydrique concentré et abandonné 24 h à 20°. Après dilution à l'eau, alcalinisation par  $\text{NH}_4\text{OH}$ , extraction par de l'éther puis évaporation à sec, on obtient 264 mg de produit brut que l'on chromatographie sur colonne de silice. L'élué par un mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{méthanol}$  95:5 ( $v/v$ ) donne 57 mg **24a** (22%), 119 mg **24b** (45%).

**20.** UV.: 226 (4,57), 280 (4,26), 290 (4,26). - IR.: 3400, 2850, 2820, 2760, 1675, 1645, 1600, 1525, 1450, 1270, 1240, 800. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 1,15 ( $t$ , 3 H); 1,80 ( $s$ , 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 3,67 ( $s$ , 3 H); 3,75 ( $s$ , 6 H); 6,65 ( $m$ , 3 H); 6,90-7,65 ( $m$ , 4 H); 8,32 ( $s$ , 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 517 (12,  $M^+$ ), 265 (17), 252 (20), 251 (19), 247 (14), 223 (13), 165 (15), 164 (22), 152 (26), 151 (46), 114 (100).

**24a:**  $[\alpha]_D^{20} = +87^\circ$  ( $c=0,1$ ). - UV.: 226 (4,57), 282 (4,01), 290 (3,94). - DC.: 246 (+3,15), 254 (+0,90), 270 (+2,25), 282 (+1,80), 294 (+2,58), 310 (0). - IR.: 3380, 2860, 2820, 2760, 1740, 1680, 1620, 1520, 1470, 1270, 1240, 750. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 0,92 ( $t$ , 3 H); 2,5 ( $s$ , 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 3,55 ( $s$ , 3 H); 3,82 ( $s$ , 3 H); 3,85 ( $s$ , 3 H); 4,30 ( $d$ , 1 H); 6,57 ( $s$ , 1 H); 6,77 ( $s$ , 1 H); 6,90-7,60 ( $m$ , 4 H); 10,02 ( $s$ , 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 517 (2,  $M^+$ ), 327 (19), 326 (91), 325 (100), 264 (46), 254 (26), 253 (30), 252 (12), 251 (22), 225 (33), 223 (14), 206 (32), 193 (11), 192 (86), 191 (66), 190 (19), 184 (12), 176 (50), 171 (17), 169 (23), 168 (10), 156 (15), 144 (11), 124 (10).

**24b:**  $[\alpha]_D^{20} = -30^\circ$  ( $c=0,05$ ). - UV.: 226 (4,55), 282 (4,01), 290 (3,96). - DC.: 250 (+2,66), 266 (+0,886), 280 (0), 284 (-0,266), 288 (-0,221), 291 (-0,532), 294 (0), 298 (+0,753), 312 (0). - IR.: 3380, 2840, 2800, 2750, 1730, 1510, 1460, 1270, 1230, 1110, 745. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 0,90 ( $t$ , 3 H); 2,25 ( $s$ , 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 3,57 ( $s$ , 3 H); 3,85 ( $s$ , 3 H); 3,90 ( $s$ , 3 H); 6,52 ( $s$ , 1 H); 6,60 ( $s$ , 1 H); 6,90-7,65 ( $m$ , 4 H); 9,34 ( $s$ , 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 517 (4,  $M^+$ ), 327 (18), 326 (86), 325 (100), 264 (31), 254 (17), 253 (31), 252 (13), 251 (22), 225 (25), 223 (12), 193 (12), 192 (82), 190 (18), 184 (11), 176 (42), 171 (11), 170 (19), 169 (16), 165 (16), 164 (62), 156 (12), 151 (36).

*Base de Schiff 21 et dérivés cyclisés 15a et 25b.* Synthétisés selon la méthode décrite pour **20** à partir de **18** et de **8**.

**21** (Rdt. 93%). - UV.: 226 (4,59), 285 (4,32), 290 (4,33). - IR.: 3400, 3340, 2860, 2810, 2760, 1670, 1630, 1520, 1450, 1225, 1190, 1120, 750. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 0,95 ( $t$ , 3 H); 3,80 ( $s$ , 3 H); 5,80-6,70 ( $m$ , 3 H); 6,80-7,65 ( $m$ , 4 H); 7,75 ( $s$ , 2 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 8,50 ( $s$ , 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 489 (14,  $M^+$ ), 353 (15), 342 (13), 341 (15), 326 (62), 325 (74), 322 (17), 254 (14), 253 (43), 252 (38), 251 (51), 250 (22), 249 (40), 237 (17), 225 (31), 223 (73), 221 (20), 184 (27), 172 (23), 171 (100), 170 (71), 169 (98), 168 (67), 167 (25), 164 (44), 163 (33), 162 (30), 156 (99), 154 (30), 149 (89).

**25a** et **25b** (les 2 épimères, mal séparés et s'oxydant rapidement, sont étudiés en mélange). - UV.: 226 (4,62), 282 (4,06), 290 (4,05). - IR.: 3400, 3340, 2860, 2810, 2760, 1730, 1600, 1470, 1210, 750. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 0,95 (*t*, 3 H); 2,50 (*s*, 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 3,80 (*s*, 3 H); 4,70 (*d*, 1 H); 6,25 (*m*, 2 H); 6,90-7,60 (*m*, 4 H); 7,84 (*s*, 2 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 8,50 (*s*, 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 326 (78,  $M-163$ ), 325 (100), 253 (21), 251 (28), 225 (21), 170 (21), 169 (21), 168 (20), 163 (61), 162 (52), 161 (10), 156 (15), 149 (10).

*Base de Schiff 22 et dérivés cyclisés 26a et 26b.* Synthétisés selon la méthode décrite pour **20** à partir de **18** et de **9**.

**22** (Rdt. 92%). - UV.: 226 (4,57), 284 (4,34), 290 (4,34). - IR.: 3400, 3320, 2880, 2810, 2750, 1675, 1630, 1520, 1460, 1230, 750. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 0,90 (*t*, 3 H); 3,62 (*s*, 3 H); 3,75 (*s*, 3 H); 3,90 (*s*, 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 6,60 (*s*, 3 H); 6,75-7,50 (*m*, 4 H); 8,90 (*s*, 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 503 (64,  $M^+$ ), 502 (15), 366 (26), 323 (10), 253 (24), 252 (100), 251 (96), 250 (13), 249 (21), 225 (22), 224 (16), 223 (68), 222 (10), 221 (15), 220 (10), 197 (17), 184 (34), 183 (11), 182 (22), 171 (16), 170 (35), 169 (33), 168 (17), 156 (22), 151 (23), 150 (26).

**26a** (Rdt. 41%):  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +29^\circ$  ( $c=0,05$ ). - UV.: 226 (4,64), 282 (4,09), 290 (4,07). - DC.: 252 (+0,70), 286 (+3,48), 290 (+3,15), 292 (+3,22), 310 (0). - IR.: 3350, 2860, 2820, 2760, 1730, 1520, 1460, 1280, 1120, 1180, 750. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 0,90 (*t*, 3 H); 1,62 (*s*, 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 3,55 (*s*, 3 H); 3,85 (*s*, 3 H); 4,25 (*s*, 1 H); 4,35 (*s*, 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 6,55 et 6,95 (2*s*, 2 H); 7,00-7,80 (*m*, 4 H); 9,73 (*s*, 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 503 (2,  $M^+$ ), 327 (18), 326 (88), 325 (100), 254 (14), 253 (22), 251 (19), 250 (20), 225 (24), 178 (35), 177 (71), 176 (15), 175 (12), 170 (17), 169 (14), 163 (11), 162 (62), 156 (11), 150 (12).

**26b** (Rdt. 47%):  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -58^\circ$  ( $c=0,05$ ). - UV.: 226 (4,63), 282 (4,07), 290 (4,04). - DC.: 248 (+0,341), 268 (+1,172), 282 (0), 285 (-0,244), 287 (0), 292 (-0,39), 295 (0), 300 (+0,732), 316 (0). - IR.: 3380, 2860, 2820, 2760, 1735, 1520, 1460, 1280, 1180, 1110, 750. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 0,90 (*t*, 3 H); 2,40 (*s*, 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 3,55 (*s*, 3 H); 3,82 (*s*, 3 H); 4,00 (*s*, 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 4,08, 4,30 (*d*, 1 H); 6,55 (*s*, 2 H); 6,90-7,55 (*m*, 4 H); 8,50 (*s*, 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 503 (7,  $M^+$ ), 327 (19), 326 (87), 325 (100), 253 (22), 251 (23), 225 (23), 178 (22), 177 (49), 176 (12), 170 (20), 169 (17), 162 (50), 156 (13).

*Base de Schiff 23 et dérivés cyclisés 27a et 27b.* Synthétisés selon la méthode décrite pour **20** à partir de **18** et de **10**.

**23** (Rdt. 94%). - UV.: 226 (4,68), 285 (4,36), 290 (4,36). - IR.: 3400, 2850, 2810, 2760, 1675, 1635, 1600, 1460, 1240, 1225, 1135, 750. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 1,10 (*t*, 3 H); 3,60 (*s*, 3 H); 3,65 (*s*, 3 H); 3,80 (*s*, 3 H); 3,90 (*s*, 3 H); 6,29 (*s*, 2 H); 6,70-7,50 (*m*, 4 H); 8,00, 8,60 (2*s*, 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 547 (85,  $M^+$ ), 368 (27), 367 (33), 366 (51), 353 (62), 352 (27), 342 (35), 341 (40), 323 (29), 295 (40), 253 (98), 252 (100), 251 (98), 250 (33), 249 (43), 239 (45), 237 (33), 226 (28), 225 (99), 224 (64), 223 (99), 222 (29), 221 (47), 211 (24), 210 (21), 209 (47), 205 (28), 198 (40), 197 (97), 196 (27), 195 (88), 194 (76), 185 (51), 184 (99), 183 (64), 182 (98), 181 (98), 180 (40), 179 (24), 171 (91), 170 (99), 169 (99), 168 (99), 167 (97), 166 (71), 157 (41), 156 (98), 155 (37), 154 (43), 151 (22), 150 (28).

**27a** (Rdt. 24%):  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +33^\circ$  ( $c=0,05$ ). - UV.: 226 (4,68), 282 (3,97), 290 (3,85). - DC.: 270 (+1,75), 280 (+1,38), 282 (+1,50), 283 (+1,32), 286 (+1,50), 292 (+1,08), 294 (+1,45), 310 (0). - IR.: 3400, 2840, 2800, 2750, 1730, 1600, 1500, 1460, 1125, 750. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 0,85 (*t*, 3 H); 2,50 (*s*, 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 3,55 (*s*, 3 H); 3,90 (*s*, 6 H); 4,05 (*s*, 3 H); 4,60 (*d*, 1 H); 6,40 (*s*, 1 H); 6,90-7,60 (*m*, 4 H); 9,80 (*s*, 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 547 (3,  $M^+$ ), 327 (15), 326 (73), 325 (87), 294 (27), 253 (20), 251 (21), 225 (20), 223 (20), 222 (100), 219 (12), 206 (32), 170 (18), 169 (16), 156 (11).

**27b** (Rdt. 46%):  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +50^\circ$  ( $c=0,1$ ). - UV.: 226 (4,66), 282 (3,97), 290 (3,86). - DC.: 268 (+1,61), 282 (+1,21), 287 (+1,45), 291 (+0,97), 296 (+1,45), 312 (0). - IR.: 3400, 2860, 2820, 2760, 1735, 1615, 1510, 1470, 1135, 750. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 0,85 (*t*, 3 H); 2,45 (*s*, 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ); 3,62 (*t*, 3 H); 3,90 (*s*, 9 H); 4,72 (*d*, 1 H); 6,42 (*s*, 1 H); 6,90-7,60 (*m*, 4 H); 7,95 (*s*, 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 547 (2,  $M^+$ ), 327 (18), 326 (85), 325 (100), 253 (21), 225 (21), 223 (20), 222 (96), 221 (75), 220 (14), 206 (36), 170 (20), 169 (17), 156 (13).

*Base de Schiff 19.* Synthétisée selon la méthode décrite pour **20** à partir de **18** et de **6**; Rdt. 93%. - UV.: 226 (4,58), 280 (4,38), 290 (4,38). - IR.: 3400, 2880, 2820, 2775, 1680, 1640, 1510, 1460, 1225, 760. -  $^1\text{H-RMN.}$ : 0,98 (*t*, 3 H); 3,85 (*s*, 3 H); 6,60-7,80 (*m*, 9 H); 8,10 (2*s*, 1 H éch.  $\text{D}_2\text{O}$ ). - SM.: 457 (24,  $M^+$ ), 252 (41), 251 (36), 225 (13), 223 (26), 184 (13), 170 (13), 169 (13), 132 (15), 118 (42), 105 (67), 104 (100), 103 (11), 102 (21).

**3. Déméthoxycarbonylation.** - La solution de 30 mg de produits cyclisés (décrits ci-dessus) dans 2 ml de solution de KOH méthanolique 1*N* est chauffée sous reflux pendant 5 h. Après neutralisation,

élimination du méthanol, le milieu est additionné de 2 ml d'HCl 6N et porté pendant 5 h à 130°. La solution est alcalinisée et extraite par CHCl<sub>3</sub>. La phase organique évaporée à sec donne un produit brut qui est purifié par chromatographie sur colonne de silice. Par exemple, à partir de 30 mg de **24b** on obtient 14 mg de **14b** (Rdt. 54%).

**4. Synthèses partielles selon la méthode de Bischler-Napieralski. - Esters 28a et 28b.** Une solution de 0,250 g de **12b** dans 7 ml de méthanol et 14 ml d'acétone est refroidie à -4°. On ajoute en plusieurs fois 0,65 ml de réactif de Jones pendant que la température se stabilise à 0°. Après agitation pendant 5 h, le milieu est dilué à l'eau, alcalinisé par une solution d'ammoniaque, extrait par CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. On évapore le solvant. Le produit brut obtenu, purifié par chromatographie sur Florisil 60-100 mesh dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, donne 117 mg de **28b** (Rdt. 42%).

**28b.** UV.: 226 (4,35), 282 (3,74), 290 (3,67). - IR.: 3500, 3260, 2860, 2810, 2750, 1725, 1450, 1330, 1150, 1000, 740. - <sup>1</sup>H-RMN.: 0,92 (t, 3 H); 3,72 (s, 3 H); 7,00-7,60 (m, 4 H); 8,30 (s, 1 H éch. D<sub>2</sub>O). - SM.: 326 (88, M<sup>+</sup>), 325 (100), 322 (13), 269 (13), 253 (19), 251 (37), 249 (20), 225 (21), 221 (11), 199 (10), 184 (12), 170 (25), 169 (21), 168 (15), 156 (15), 149 (11).

**28a** (Rdt. 37%). Synthétisé comme **28b** à partir de **12a**. - UV.: 226 (4,34), 282 (3,75), 290 (3,67). - IR.: 3500, 3260, 2850, 2800, 2750, 1725, 1450, 1340, 1150, 1000, 740. - <sup>1</sup>H-RMN.: 0,98 (t, 3 H); 3,73 (s, 3 H); 7,00-7,60 (m, 4 H); 8,15 (s, 1 H éch. D<sub>2</sub>O). - SM.: 326 (87, M<sup>+</sup>), 325 (100), 253 (18), 251 (16), 225 (21), 184 (10), 170 (24), 169 (19), 168 (11), 156 (14).

**Amides 29a, b et 30a, b.** Un mélange de 40 mg de **28a** et de 40 mg de **6** est chauffé sous azote pendant 8 h en présence de 10 mg d'hydroxy-2-pyridine. Le mélange purifié par filtration sur colonne de silice donne 36 mg de **29a** (Rdt. 70%). Les amides **29b**, **30a**, **b** ont été préparées suivant le même mode opératoire.

**29a.** UV.: 226 (4,32), 282 (4,01), 290 (3,89). - IR.: 3400, 3300, 2850, 2810, 2750, 1650, 1550, 1510, 1460, 750, 700. - <sup>1</sup>H-RMN.: 0,93 (t, 3 H); 3,46 (qa, 2 H); 5,43 (t, 1 H éch. D<sub>2</sub>O); 7,00-7,60 (m, 9 H); 8,40 (s, 1 H éch. D<sub>2</sub>O). - SM.: 416 (19), 415 (57, M<sup>+</sup>), 414 (30), 358 (10), 253 (31), 252 (11), 251 (47), 225 (20), 223 (14), 221 (10), 197 (17), 185 (11), 184 (49), 171 (11), 170 (20), 169 (24), 156 (13), 149 (50), 144 (12), 105 (100), 91 (100).

**29b** (Rdt. 64%). - UV.: 226 (4,45), 282 (4,10), 290 (3,92). - IR.: 3400, 3300, 2850, 2800, 2750, 1650, 1550, 1500, 1460, 750, 700. - <sup>1</sup>H-RMN.: 0,95 (t, 3 H); 3,45 (qa, 2 H); 5,45 (t, 1 H éch. D<sub>2</sub>O); 7-7,60 (m, 9 H); 8,46 (s, 1 H éch. D<sub>2</sub>O). - SM.: 416 (88), 415 (100, M<sup>+</sup>), 254 (11), 253 (55), 252 (20), 251 (70), 226 (10), 225 (45), 223 (24), 221 (21), 211 (11), 197 (16), 195 (11), 184 (23), 171 (13), 170 (43), 169 (48), 168 (19), 156 (28).

**30a** (Rdt. 88%). - UV.: 227 (4,35), 280 (4,02). - IR.: 3400, 3300, 2860, 2800, 2750, 1650, 1520, 1265, 1240, 750. - <sup>1</sup>H-RMN.: 0,96 (t, 3 H); 3,45 (qa, 2 H); 3,82, 3,84 (2 s, 3 H chacun); 5,43 (t, 1 H éch. D<sub>2</sub>O); 7,00-7,65 (m, 7 H); 8,55 (s, 1 H éch. D<sub>2</sub>O). - SM.: 475 (20, M<sup>+</sup>), 253 (12), 251 (32), 225 (9), 221 (9), 194 (23), 184 (18), 178 (29), 169 (9), 165 (42), 164 (100), 152 (36), 151 (60), 150 (12), 149 (13).

**30b** (Rdt. 78%). - UV.: 226 (4,37), 280 (4,02). - IR.: 3400, 3300, 2860, 2800, 2750, 1650, 1520, 1265, 1240, 750. - <sup>1</sup>H-RMN.: 1,00 (t, 3 H); 3,45 (qa, 2 H); 3,79, 3,81 (2 s, 3 H chacun); 5,45 (t, 1 H éch. D<sub>2</sub>O); 7,00-7,60 (m, 7 H); 8,50 (s, 1 H éch. D<sub>2</sub>O). - SM.: 476 (29), 475 (87, M<sup>+</sup>), 418 (14), 304 (11), 267 (10), 265 (13), 254 (14), 253 (64), 252 (24), 251 (100), 237 (14), 225 (47), 223 (28), 221 (20), 184 (24), 170 (25), 169 (31), 165 (32), 164 (55), 156 (16), 152 (22), 151 (33).

**Cyclisation des amides 30a et 30b.** On dissout 40 mg d'amide dans du benzène anhydre et les chauffe sous reflux sous N<sub>2</sub> pendant 2 h en présence de 0,1 ml de POCl<sub>3</sub>. Le solvant est évaporé sous vide. Le résidu, repris par NaOH 0,1N, est extrait par CHCl<sub>3</sub>. La phase organique évaporée donne un produit brut qui est purifié par filtration sur colonne de silice.

**31a** (Rdt. 42%). - UV.: 226 (4,38), 280 (4,06), 290 (4,01). - IR.: 3380, 2860, 2800, 2750, 1610, 1510, 750. - SM.: 457 (82, M<sup>+</sup>), 270 (8), 269 (10), 267 (15), 265 (10), 253 (25), 252 (40), 251 (65), 250 (50), 249 (25), 225 (15), 224 (20), 223 (70), 222 (10), 206 (50), 205 (80), 204 (100), 192 (30), 191 (20), 190 (45), 169 (27), 168 (9), 162 (25), 161 (18), 150 (15).

**31b** (Rdt. 56%). - UV.: 226 (4,40), 280 (4,08), 288 (4,02). - IR.: 3390, 2850, 2800, 2760, 1620, 1520, 750. - SM.: 458 (27), 457 (74, M<sup>+</sup>), 271 (10), 270 (17), 253 (18), 252 (59), 251 (73), 250 (52), 249 (71), 235 (19), 232 (35), 224 (14), 223 (63), 222 (20), 221 (31), 220 (12), 206 (44), 204 (100), 192 (22), 190 (32), 170 (20), 169 (25), 162 (32), 161 (18), 151 (13).

**Réduction.** Les produits cyclisés (40 mg) en solution dans du méthanol (2 ml) sont réduits par KBH<sub>4</sub> en excès. Après 24 h de contact à température ambiante, la solution est diluée et extraite

par  $\text{CHCl}_3$ . La phase chloroformique est évaporée sous vide. Les 2 épimères formés sont séparés par chromatographie sur colonne de silice. La réduction de **31a** conduit au mélange des pseudotubulosines **14c** et **14d**. La réduction de **31b** conduit au mélange des pseudotubulosines **14a** et **14b**.

**Recherche de l'activité oncostatique des pseudotubulosines.** - 1) *Recherche de leur toxicité.* Chaque pseudotubulosine a été administrée à 8 souris hybrides  $\text{DBA}_2/\text{C}_{57}\text{Bl}_{10}$  porteuses de leucémie L 1210 aux doses de 5, 25, 125 et 625 mg/kg par voie intrapéritonéale. Cette injection a eu lieu 24 h après celle de la L 1210, 2 souris étant utilisées pour chaque dose. Deux souris témoins n'ont reçu que le solvant (eau). La mortalité induite par la toxicité du composé a été observée pendant 10 jours et a entraîné le choix des doses pour le second test.

2) *Recherche simultanée de la DL 50 aiguë et de l'activité cytostatique sur la L 1210.* Au jour 0, 162 souris hybrides  $\text{DBA}_2/\text{C}_{57}\text{Bl}_{10}$  ont reçu  $10^5$  cellules leucémiques L 1210 par voie intrapéritonéale. Le lendemain, ces animaux ont été répartis au hasard en 27 groupes. Les composés à l'étude ont été injectés par voie intrapéritonéale, aux doses de 20, 8, 5 et 2 mg/kg en solution aqueuse. Le même volume d'eau a été administré par la même voie à 12 animaux (groupe témoin). Un dernier groupe a reçu une dose adéquate d'un produit actif connu (témoin positif). Les injections ont été reprises 5 jours après la greffe tumorale, dans les groupes où aucun signe de toxicité n'a été observé. La mortalité a été enregistrée quotidiennement. Tous les produits ont été soumis à un deuxième test suivant le même protocole à 1,5 mg/kg pour les produits dont la DL 50 est comprise entre 6 et 10 mg/kg et à 2 mg/kg pour ceux dont la DL 50 est comprise entre 10 et 14 mg/kg.

Nous exprimons nos remerciements au Pr. A. Rabaron (U.E.R. Chimie Thérapeutique Paris XI - 92290 Chatenay-Malabry) à qui nous sommes redevables des spectres  $^{13}\text{C}$ -RMN.

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] E. Seguin & M. Koch, C.r. hebd. Séances Acad. Sci. (C) 284, 933 (1977).
- [2] M. Koch & M. Plat, C.r. hebd. Séances Acad. Sci. (C) 273, 753 (1971).
- [3] N. Préaux, Thèse de Doctorat ès-Sciences, Paris VI 1976 et réf. citées.
- [4] A. Brossi & S. Teitel, 'The Ipecac alkaloids' dans R. H. F. Manske, *The Alkaloids*, 13, 189 (1971).
- [5] M. Hesse, 'Indolalkaloïde in Tabellen', Springer Verlag, Berlin, Heidelberg 1968.
- [6] Il existe de nombreuses revues générales sur la biosynthèse des alcaloïdes, notamment: *The Alkaloids*, II - Specialist periodical Reports, The chemical Society - chap. 1 - Biosynthesis (1972).
- [7] A. P. Grollman & Z. Jarkowsky, 'Antibiotics', III, 420 Springer Verlag, New York 1975.
- [8] W. M. Whaley & T. R. Govindachari, *Organic Reactions* 6, 151 (1951) et réf. citées.
- [9] W. M. Whaley & T. R. Govindachari, *Organic Reactions* 6, 74 (1951) et réf. citées.
- [10] P. Potier, C. Kan, J. Le Men, M. M. Janot, H. Budzikiewicz & C. Djerassi, *Bull. Soc. chim. France* 1966, 2309.
- [11] M. Koch, M. Plat & N. Préaux, *Bull. Soc. chim. France*, 1973, 2868.
- [12] M. M. Janot & R. Goutarel, *Bull. Soc. chim. France* 1951, 588.
- [13] R. L. Autrey & P. W. Scullard, *J. Amer. chem. Soc.* 90, 4917 (1968).
- [14] A. L. Djakouré, Thèse de Doctorat ès-Sciences, Orsay, 1973 et réf. citées.
- [15] H. T. Openshaw & N. Whittaker, *J. chem. Soc. (C)* 1969, 89.
- [16] F. Bohlmann, *Chem. Ber.* 91, 2157 (1958).
- [17] H. Budzikiewicz, D. Djerassi & D. H. Williams, 'Structure, elucidation of natural products by mass spectrophotometry', I. 'Alkaloids', Holden-day - London 1964.
- [18] A. J. Marsaioli, E. A. Ruveda & F. de A. M. Reis, *Phytochemistry* 17, 1655 (1978).
- [19] S. P. Singh, S. S. Parmar, V. I. Stenberg & S. A. Farnum, *J. heterocycl. Chemistry* 15, 541 (1978).
- [20] M. C. Koch, M. M. Plat, N. Préaux, H. E. Gottlieb, E. W. Hagaman, F. M. Schell & E. Wenkert, *J. org. Chemistry* 40, 2836 (1975).
- [21] S. André, N. Farjaudon, C. Pareyre & E. Seguin, C.r. hebd. Séances Acad. Sci. (D) 288, 1095 (1979).
- [22] C. Pareyre, *Bull. Soc. bot. France, Mémoires* 1970, 167.
- [23] C. Pareyre, N. Farjaudon & G. Deysson, C.r. Soc. biol. 170, 14 (1976).
- [24] C. Pareyre, C.r. hebd. Séances Acad. Sci. (D) 273, 143 (1971).
- [25] C. Pareyre & G. Deysson, C.r. hebd. Séances Acad. Sci. (D) 277, 2689 (1973).