

UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11

ECOLE DOCTORALE :
INNOVATION THÉRAPEUTIQUE : DU FONDAMENTAL A L'APPLIQUÉ
PÔLE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

DISCIPLINE : CHIMIE

ANNÉE 2013

SÉRIE DOCTORAT N° 1257

THÈSE DE DOCTORAT

soutenue le 05/11/2013

par

Olga GHERBOVET

Synthèse d'hybrides vinblastine-phomopsine

Directrice de thèse :

Dr. Fanny Roussi

Chargé de recherche CNRS, ICSN-CNRS

Composition du jury :

Président du jury :

Rapporteurs :

Examineurs :

Membres invités :

Prof. Jean-Daniel Brion

Dr. Francine Acher

Prof. Jieping Zhu

Dr. Jacques Fahy

Dr. Isabelle Parrot

Dr. Françoise Guéritte

Prof. Federico Gago

Professeur, Université Paris-Sud

Directeur de recherche CNRS, Université Paris-Descartes

Professeur, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne

Directeur de service, Laboratoires Pierre-Fabre

Maître de Conférences, Université de Montpellier 2

Directeur de recherche INSERM, ICSN-CNRS

Professeur, Université d'Alcalá

REMERCIEMENTS

« La pierre n'a point d'espoir d'être autre chose que pierre. Mais de collaborer, elle s'assemble et devient temple. »

Antoine de Saint-Exupéry

Je tiens tout d'abord à remercier le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche et l'Ecole Doctorale 425 « Innovation Thérapeutique » pour le financement de mes travaux de thèse, ainsi que le Pr. David Crich et le Pr. Max Malacria, Directeurs de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles, pour m'avoir accueillie au sein de cet établissement.

J'exprime toute ma gratitude aux membres du jury : le Dr. Francine Acher, le Dr. Jieping Zhu, le Dr. Jean Daniel Brion et le Dr. Isabelle Parrot d'avoir accepté de juger mon travail. Leurs remarques, suggestions et conseils m'ont été d'une grande aide.

Je tiens à remercier particulièrement le Dr. Jacques Fahy d'avoir été mon tuteur de thèse, de l'intérêt qu'il a manifesté pour ce sujet, pour sa disponibilité et pour ses précieux conseils scientifiques et humains. J'en profite pour le remercier, ainsi que les laboratoires Pierre Fabre pour leur généreux cadeau de vinorelbine, sans lequel mon travail aurait été beaucoup plus dur.

J'adresse mes remerciements au Pr. Federico Gago d'avoir facilement accepté de collaborer avec nous sur ce projet et pour son merveilleux accueil dans son laboratoire à l'Université d'Alcalá, en Espagne. C'était un énorme plaisir de découvrir Madrid en l'ayant comme guide.

Un grand et chaleureux merci au Dr. Françoise Guéritte de m'avoir accueillie dans « l'équipe 45 » et de m'avoir confié un sujet qui lui tient à cœur. Je lui suis également très reconnaissante pour la confiance qu'elle m'a témoignée pendant ces 3 années et pour l'intérêt qu'elle a manifesté pour mon sujet.

J'adresse tous mes remerciements au Dr. Fanny Roussi, ma directrice de thèse, d'avoir encadré ces travaux avec beaucoup de dynamisme, d'implication et de bienveillance. J'ai beaucoup apprécié sa présence à chaque fois que j'en avais besoin et sa motivation. Je la remercie énormément de m'avoir encouragé à postuler au projet « Pour les Femmes et la Science ». Si aujourd'hui je figure parmi les 25 boursières de l'année 2012 c'est grâce à elle. Enfin, je la remercie

vivement pour sa gentillesse, ses encouragements, son aide au niveau administratifs et tous les conseils qu'elle m'a donné.

Je remercie aussi la Fondation L'Oréal, l'UNESCO et l'Académie de Science pour la reconnaissance de mon parcours et pour la bourse « Pour les Femmes et la Science » qu'ils m'ont attribué. Cela m'a permis d'organiser une visite des chercheurs français en Moldavie, mon pays d'origine. Je remercie à cette occasion, le Dr. Joëlle Dubois, le Dr. Vincent Dumontet, le Dr. Fanny Roussi, et le Dr. Odile Thoison, les quatre scientifiques qui ont eu la gentillesse et la motivation de montrer aux jeunes moldaves quelle est l'importance de poursuivre des études scientifiques.

Je souhaite aussi remercier particulièrement tous ceux qui ont travaillé sur ce projet : Sylviane Thoret – pour les essais biologiques sur la tubuline, Maria Concepción García Alvarez – pour les essais de cytotoxicité, Jérôme Bignon – pour les essais de cycle cellulaire. Merci beaucoup de m'avoir initié aux essais biologiques, c'était toujours un plaisir de travailler avec vous. Merci aussi à Claire Coderch pour les expériences de modélisation moléculaire sur des « molécules énormes ».

Je voudrais exprimer aussi ma gratitude à tous les services de l'ICSN qui m'ont permis de mener à bien ce projet, notamment : Marie Thérèse Martin, pour son expertise en RMN qui a confirmé certaines structures de ce travail, le service RMN : Jean François Gallard et Karim Hammad, le service masse : Nicolas Elie et Olinda Gimello et le service HPLC : Odile Thoison, Suzana Ramos et Franck Pelissier.

Pendant ces trois années, j'ai également passé de très bons moments au laboratoire : je remercie chaleureusement mes collègues, qui ont fait de ces années une période inoubliable : Claire, Jérémy, Binh, Mehdi, Thomas, Dominique, Sandy, Camille et Fabio, qui ont contribué à la bonne ambiance du labo 215, mais aussi à la partie « extraction » de l'équipe : Aurélie, Pierre-Marie, Mélanie, Mehdi, Claire, Aurélie, Charlotte, Louis-Felix, Estella, Marie, Nina et Barbara, Paule, Anna, Cécile, Erell et Florent pour tous les bons moments passés ensemble.

Je voulais particulièrement remercier Jérémy (Mimi) avec qui j'ai partagé le bureau pendant deux ans. Merci surtout d'avoir été assez sensible pour comprendre sans mots quand je n'allais pas bien. Merci pour ses encouragements et pour sa bonne humeur. J'espère que la cuisine nantaise est cette fois-ci à son goût.

Un grand merci également à Aurélie (mon petit pingouin) pour les moments que nous avons partagé : pour nos balades, pour nos rires dans le labo et pour ses encouragements quand « tout n'était pas rose ». J'espère qu'elle « ne perd plus ses couleurs » sous le soleil de Guadeloupe.

Je voudrais remercier aussi Sandy pour sa gentillesse et sa patience, pour sa culture scientifique et sa disponibilité. Merci d'avoir pris le temps à relire mon manuscrit. Ses remarques ont été très constructives pour moi. J'espère qu'il obtiendra prochainement le poste de ses rêves, parce qu'il le mérite pleinement.

Merci aussi aux équipes Dubois et Guillou : Damien, Deborah, Murali, Leslie, Mélanie, Laurent, Elvina, Sophie, Matt, Tatiana avec qui j'ai partagé tous les repas du midi, des soirées et beaucoup de moments qui resteront gravés dans ma mémoire.

Je remercie également mon C.E.I, notamment la « dream team » : Marion, Xav, Coco, Jojo et Alex pour tous les repas de vendredi et pour tous les bons moments passés ensemble. Bon courage à tous ceux qui vont soutenir et qui ont déjà soutenu. Merci encore à Marion, d'avoir été ma coloc' pendant les deux dernières années et aussi à ses parents pour leur aide.

Je garde pour la fin les personnes de mon cœur à qui cette thèse est dédiée. Je ne pourrais jamais remercier assez mes parents et toute ma famille, mon fiancé et sa famille, et mes amis pour leur soutien inconditionnel, pour leur affection et leur compréhension.

Sans vous tous, tout cela n'aurait pas été possible. Merci à vous...

RESUME

La tubuline est une protéine essentielle de la cellule. En polymérisant sous forme de microtubules, elle crée notamment le fuseau mitotique le long duquel migrent les chromosomes pendant la mitose. Les médicaments qui inhibent la polymérisation et/ou la dépolymérisation de la tubuline sont des composés majeurs de la thérapie anticancéreuse. Les vinca-alcaloïdes en sont des représentants importants. Ils induisent la mort des cellules par apoptose, en inhibant la dynamique des microtubules. D'autres molécules d'origine naturelle, comme la phomopsine A, se fixent sur la tubuline à proximité ou dans le même site de fixation que celui des vinca-alcaloïdes. C'est la raison pour laquelle nous avons envisagé d'élaborer des composés antimitotiques hybrides entre la vinblastine et la phomopsine A.

Dans ce contexte, deux séries de composés ont été conçues. La première série d'hybrides correspondant à des dérivés de l'anhydrovinblastine fonctionnalisés en position 7'. Cependant, aucune des trois stratégies étudiées n'a permis d'accéder à ces composés.

La deuxième série d'hybrides, dérivés de la 7'-*homo*-anhydrovinblastine a pu être synthétisée grâce à une réaction originale d'insertion d'acétylènes activés au niveau du pont gramine de la vinorelbine, suivie d'une réduction avec un contrôle totale de la régio- et stéréosélectivité. Dans un premier temps, les réactions d'insertion et de réduction ont été mise au point. Ensuite, deux familles d'hybrides portant la chaîne latérale de l'octahydrophomopsine en position 8' ou 7' ont été synthétisés. La plupart des composés ainsi obtenus possèdent une excellente activité sur la tubuline et sont très cytotoxique.

Mots clés : tubuline, vinca-alcaloïdes, phomopsine, hybrides, gramine

SUMMARY

Tubulin plays a key role in many cellular functions, like cell division. Microtubules, resulting from its polymerisation, form the mitotic spindle along which chromosomes migrate during mitosis. Tubulin-binding molecules are one of the most important classes of anti-cancer agents with major drugs already on the market and many promising compounds in clinical trials. Vinca-alkaloids are one of these antimitotic drugs inhibiting microtubules dynamics.

It was shown that the vinca binding site partially overlaps with that of others natural products, like phomopsin A. In order to explore the vinca domain and to elaborate new acute derivatives, we have elaborated antimitotic vinblastine-phomopsin hybrids.

We were interested in the synthesis of two series of hybrids. The first series, corresponding to 7'-anhydrovinblastine derivatives could not be obtained. None of the three studied strategies lead to desired compounds.

The second series of hybrids, corresponding to fonctionnalized 7'-*homo*-anhydrovinblastine derivatives, could be synthetised by an original and regioselective insertion reaction, followed by a stereoselective reduction. Firstly, the isertion reaction was studied using different activated acetylenes. Then, two different families of hybrids were obtained, thanks to the selective insertion of the octahydrophomopsin lateral chain in position 8' or 7'. Almost all the compounds were highly active on tubulin and very cytotoxic.

Keywords : tubulin, vinca-alkaloids, phomopsin, hybrids, gramine

ABBREVIATIONS

A

AA	Acide aminé
Ac	Acétyle
Ac.	Acide
ACN	Acétonitrile
ADDP	1,1'-(azodicarbonyle)-dipiperidine
All	Allyle
anh.	anhydre
Asn	Asparagine
Asp	Acide aspartique
AVLB	Anhydrovinblastine

B

Bn	Benzyle
Bu	Butyle

C

CI ₅₀	Concentration du composé nécessaire pour inhiber un processus à un taux de 50%
CLHP	Chromatographie en phase liquide à haute performance
<i>m</i> -CPBA	Acide métachloroperbenzoïque

D

DBU	1,8-diazabicyclo [5.4.0]undec-7-ène
DCM	Dichlorométhane
DCU	N, N'-dicyclohexylurée
DEAD	Azodicarboxylate de diéthyle
DIEA	N,N-diisopropyléthylamine
DMA	Diméthylamine
DMAD	Ethylènedicarboxylate de diméthyle
DMAP	4-diméthylaminopyridine
DMF	Diméthylformamide
DMS	Sulfure de diméthyle
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DPPA	Azoture de diphénylphosphoryle

E

E	Electrophile
ed	Excès diastéréoisomérique
EDCI	1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
éq.	Equivalent
Et	Ethyle

G

GDP	Guanosine diphosphate
Glu	Acide glutamique
Gly	Glycine
GTP	Guanosine triphosphate

H

h	Heure
HCT116	Cellules du carcinome colorectal
HeLa	Cellules du cancer du col de l'utérus
Hex	Hexyle
HFIP	2-hexafluoropropanol
HOBt	Hydroxybenzotriazole
HRMS	High resolution mass spectroscopy
Huvec	Cellules endothéliales

I

Ile	Isoleucine
-----	------------

K

K562	Cellules érythroleucémiques
KB	Cellules du carcinome oral humain
KHMDS	Bis(triméthylsilyl)amidure de potassium

L

L1210	Lymphocytes leucémiques
LDA	Di- <i>iso</i> -propylamidure de lithium
Leu	Leucine

M

MAP	Protéines associées aux microtubules
MCF-7	Cellules tumorales mammaires
Me	Méthyle
min	Minutes

N

NBS	N-bromosuccinimide
NMM	N-méthylmorpholine
Nu	Nucléophile
nd	Non-déterminé

P

PE	Propiolate d'éthyle
P-gp	Glycoprotéine P
PIFA	Bis(trifluoroacétate) de phényliodure
Pr	Propyle
Pro	Proline
PSA	Antigène spécifique de la prostate
Py	Pyridine

R

RCC-2	Adénocarcinome du colon
Rdt	Rendement
RMN	Résonance magnétique nucléaire

T

TA	Température ambiante
TBAF	Fluorure de tetrabutylammonium
TBAI	Iodure de tetrabutylammonium
TFA	Acide trifluoroacétique
TfO-	Triflate
THF	Tetrahydrofurane
TMS	Triméthylsilyle
Tyr	Tyrosine

U

U87	Cellules du glioblastome humain
-----	---------------------------------

V

Val	Valine
VLB	Vinblastine
VLN	Vinorelbine

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	21
I. LE SYSTEME TUBULINE-MICROTUBULES : CIBLE THERAPEUTIQUE D'ACTUALITE	25
A. LE SYSTEME TUBULINE-MICROTUBULES : VUE D'ENSEMBLE	26
1. GENERALITES	26
2. LA DYNAMIQUE DE LA POLYMERISATION DES MICROTUBULES	26
B. LA GRANDE DIVERSITE DES COMPOSES CIBLANT LES MICROTUBULES	32
1. GENERALITES	32
2. CLASSIFICATION DES COMPOSES CIBLANT LES MICROTUBULES	32
C. AUTRES PHENOMENES LIES AUX COMPOSES CIBLANT LES MICROTUBULES	46
D. AMELIORATION DE L'EFFICACITE DES AGENTS CIBLANT LES MICROTUBULES	47
II. LES VINCA-ALCALOÏDES	48
A. GENERALITES	48
B. LA SYNTHÈSE : UN DEFI POUR LES CHIMISTES	49
1. HEMISYNTHÈSE	49
2. SYNTHÈSE TOTALE	52
3. BIOSYNTHÈSE ET APPROCHES BIOTECHNOLOGIQUES	54
C. CHIMIE MEDICINALE ET ETUDES DES RELATIONS STRUCTURE-ACTIVITE	54
4. MODIFICATIONS DE LA PARTIE SUD VINDOLINE	55
5. MODIFICATIONS DE LA PARTIE NORD VELBENAMINE	56
D. LES VINCA-ALCALOÏDES ET LES MOLECULES HYBRIDES	64
1. LES MOLECULES HYBRIDES ET LEUR INTERET THERAPEUTIQUE	64
2. MOLECULES HYBRIDES A BASE DE VINCA-ALCALOÏDES	65
III. LE PROJET : SYNTHÈSE D'HYBRIDES VINBLASTINE-PHOMOPSINE	69
A. NAISSANCE DU PROJET	69
B. RESULTATS ANTERIEURS	70
C. PROJET DE THESE ET OBJECTIFS	71
I. DERIVES DE L'ANHYDROVINBLASTINE FONCTIONNALISES EN POSITION 7'	75
A. INTRODUCTION ET OBJECTIFS	75
B. REARRANGEMENT DE STEVENS	76
1. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	76
2. RESULTATS	80
3. CONCLUSION	90
C. REARRANGEMENT DE SOMEI-KAMETANI	91
4. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	91
5. RESULTATS	93

3.	CONCLUSION	97
E.	INSERTION PAR ORGANOCATALYSE	97
1.	RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	97
2.	RESULTATS	98
F.	CONCLUSION	101

II. DERIVES FONCTIONNALISES DE LA 7'-HOMO-ANHYDROVINBLASTINE **103**

A.	INTRODUCTION ET OBJECTIFS	103
B.	REACTION D'INSERTION	105
1.	RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	105
2.	SYNTHESE	107
3.	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	114
C.	REACTIVITE DU MOTIF ENAMINOESTER	115
1.	DIFFERENTES POSSIBILITES DE FONCTIONNALISATION DE L'ENAMINOESTER	115
2.	REACTION D'ADDITION CONJUGUEE	115
3.	REACTION DE CYCLOADDITION	118
4.	REACTION DE REDUCTION	119
5.	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	124
D.	EVALUATION BIOLOGIQUE	125
2.	ETUDES DE MODELISATION MOLECULAIRE	128
3.	CONCLUSION	131

III. HYBRIDES VINBLASTINE-PHOMOPSINE **133**

A.	INTRODUCTION ET OBJECTIFS	133
B.	HYBRIDES EN POSITION C-8'	133
1.	INTRODUCTION	133
2.	SYNTHESE	134
3.	EVALUATION BIOLOGIQUE	143
4.	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	145
C.	HYBRIDES EN POSITION C-7'	145
1.	INTRODUCTION	145
2.	SYNTHESE	146
3.	EVALUATION BIOLOGIQUE	156
4.	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	158

CONCLUSION GENERALE **163**

I. GENERAL EXPERIMENTAL PROCEDURES **169**

A.	SOLVENT AND CHEMICALS	169
B.	PURIFICATION	169
C.	CHARACTERIZATION DATA	169
D.	COMPUTATIONAL DATA	170
E.	BIOLOGICAL ASSAYS	171
1.	INHIBITION OF TUBULIN ASSEMBLY	171

2. CELL CULTURE AND PROLIFERATION ASSAY	171
3. CELL CYCLE ANALYSIS	172

II. GENERAL PROCEDURES **173**

A. GENERAL PROCEDURE A FOR THE SYNTHESIS OF QUATERNARY AMMONIUM COMPOUNDS	173
B. GENERAL PROCEDURE B FOR THE SYNTHESIS OF ASYMMETRIC ESTER-AMIDE ALKYNES	173
1. METHOD 1	173
2. METHOD 2	173
C. GENERAL PROCEDURE C FOR THE SYNTHESIS OF THE ENAMINOESTERS	174
1. METHOD 1	174
2. METHOD 2	174
D. GENERAL PROCEDURE D FOR THE SYNTHESIS OF AMINOESTERS	174
1. METHOD 1	174
2. METHOD 2	175
E. GENERAL PROCEDURE E FOR PEPTIDE SYNTHESIS	175
F. GENERAL PROCEDURE F FOR REDUCTIVE AMINATION	175

III. PREPARATION PROCEDURES AND ANALYTICAL DATA **176**

A. 7' FUNCTIONALIZED ANHYDROVINBLASTINE DERIVATIVES	176
B. 7'-HOMO-ANHYDROVINBLASTINE DERIVATIVES	196
C. HYBRIDS IN C-8'	234
D. HYBRIDS IN C-7'	246

BIBLIOGRAPHIE **277**

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Avec 3,45 millions de nouveaux cas détectés et 1,75 millions de morts en 2012 en Europe, le cancer continue d'être un problème de santé publique majeur. Il est la principale cause de mortalité dans les pays développés et la deuxième cause de mortalité dans les pays en voie de développement.¹

Parmi les différents traitements existants, la chimiothérapie permet de détruire la croissance tumorale à l'aide de composés cytotoxiques. La plupart des anticancéreux, utilisés aujourd'hui en chimiothérapie, ciblent le cycle cellulaire afin d'inhiber l'hyperprolifération des cellules cancéreuses et d'induire, par la suite, l'apoptose. Pour cela deux approches sont généralement utilisées : cibler l'ADN (empêcher sa synthèse ou endommager l'ADN existant) ou limiter les fonctions du fuseau mitotique.² Depuis une dizaine d'années, d'autres approches ont émergé, ciblant des protéines régulatrices comme les kinases.³ Un intérêt particulier est également accordé aux thérapies ciblées.

La majorité des « poisons du fuseau mitotique » sont des produits naturels qui induisent l'arrêt mitotique en interagissant avec la tubuline, protéine essentielle de la cellule. La découverte, dans les années 1950, de la vinblastine (Velban®) et de la vincristine (Oncovin®), deux alcaloïdes naturels de la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*) est l'un des exemples marquants de ce type de composés (Figure 1). Effectivement, les alcaloïdes de la pervenche ou vinca-alcaloïdes induisent la mort des cellules par apoptose en inhibant la dynamique des microtubules.

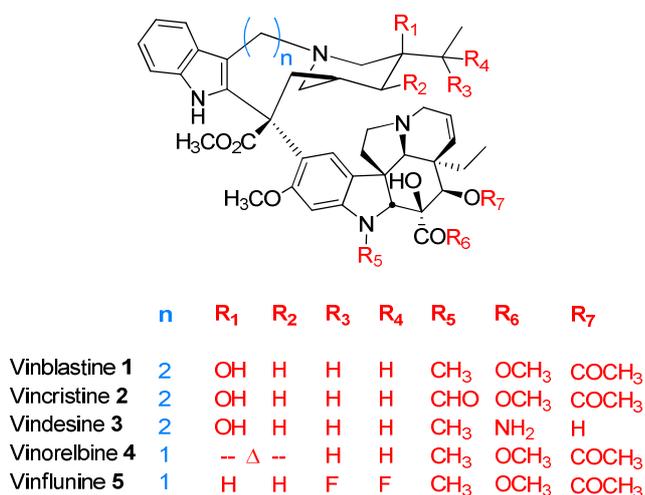


Figure 1. Vinca-alcaloïdes utilisés en clinique

¹ Ferlay, J., Steliarova-Foucher, E., Lortet-Tieulent, J., Rosso, S., Coebergh, J. W. W., Comber, H., Forman, D., Bray, F. *Eur. J. Cancer*, **2013**, *46*, 1374-1403

² Schmidt, M., Bastians, H. *Drug Resistance Updates*, **2007**, *10*, 162-181

³ Teicher, A. *Clin. Cancer Res.*, **2008**, *14*, 1610-1617

Depuis leur découverte, des nombreux efforts ont été faits afin de fonctionnaliser sélectivement le dimère indole-indolénine, qui les constitue. La modification du squelette initial de ces molécules a conduit à l'élaboration, puis à l'utilisation en clinique de trois nouveaux vinca alcaloïdes synthétiques 3-5.

La détermination de leur site de fixation au niveau de la tubuline, grâce à l'étude cristallographique d'un complexe tubuline-vinblastine, a permis de montrer que celui-ci est partiellement commun avec celui de la phomopsine A 6 (Figure 2), un cyclopeptide antimittotique isolé de *Phomopsis leptostromiformis*.

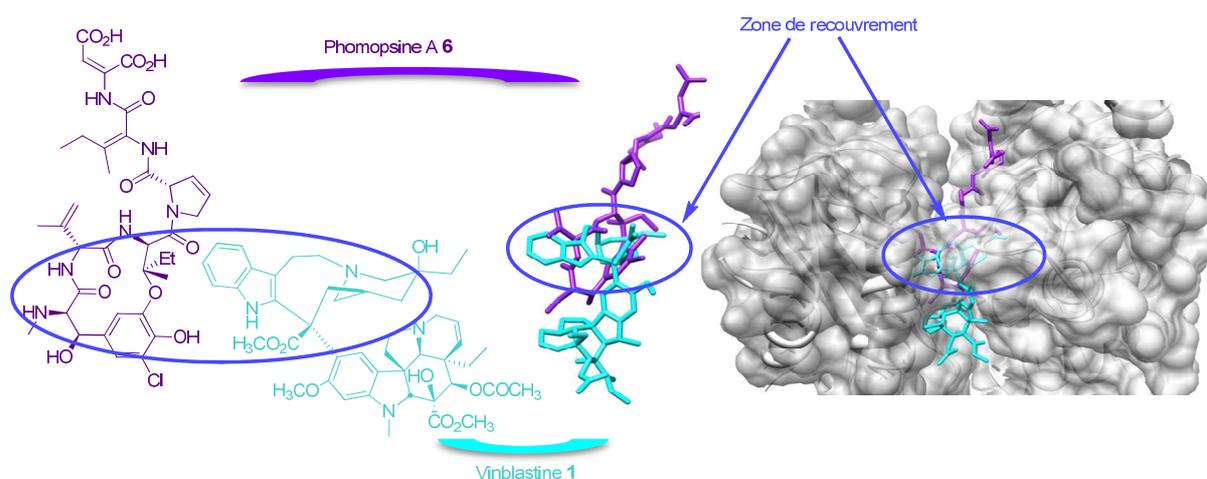


Figure 2. Site de fixation partiellement commun de la vinblastine et de la phomopsine A au sein de la tubuline

Ces résultats nous ont conduit à la conception des composés hybrides entre la vinblastine et la phomopsine A, afin d'obtenir des composés possédant une cytotoxicité et une activité sur tubuline accrues.

La première partie de ce manuscrit est consacré à un rappel bibliographique sur la protéine cible- la tubuline et les différentes classes d'agents antimittotiques qui se lient à cette protéine. Les trois chapitres de la deuxième partie regroupent l'ensemble les résultats personnels obtenus au cours de cette thèse, dont la synthèse de différents dérivés de la 7'-*homo*-anhydrovinblastine, ainsi que de deux familles d'hybrides vinca-phomopsine. L'évaluation de leur activité biologique et des études de modélisation moléculaire permettant d'expliquer ces activités sont également présentées.

PREMIERE PARTIE : ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. LE SYSTEME TUBULINE-MICROTUBULES : CIBLE THERAPEUTIQUE D'ACTUALITE

Les microtubules jouent plusieurs rôles clés dans la cellule. Composés de tubuline, ils interviennent lors de la prolifération cellulaire, du transport d'organelles, de la signalisation et de la migration des cellules eucaryotes. Pour cette raison, ils sont considérés comme une cible des médicaments anticancéreux.⁴

Les microtubules sont présents à la fois dans les cellules à l'interphase et dans les cellules en division (Figure 3). Dans les cellules en division, ils forment le fuseau mitotique, sont très dynamiques et extrêmement sensibles aux inhibiteurs thérapeutiques. Cela explique pourquoi les composés modifiant le fonctionnement des microtubules se sont révélés être très efficaces chez les patients atteints de cancer.

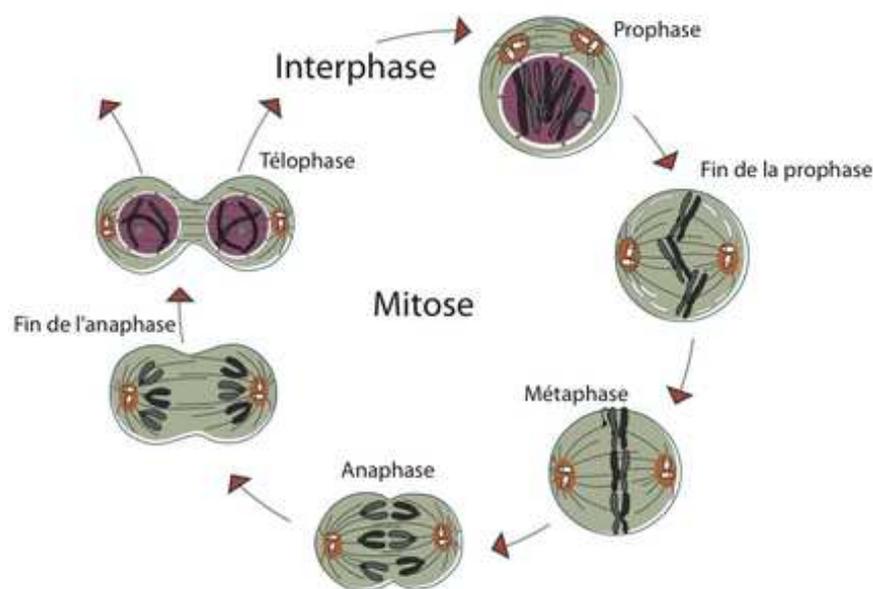


Figure 3. Mitose et cycle cellulaire.⁵

Dans ce chapitre, après une brève définition du système tubuline-microtubules et le dynamisme de leur assemblage, nous allons nous intéresser aux agents antimitotiques, en particulier, à ceux récemment mis sur le marché et ceux qui sont en développement clinique.⁶ Deux problèmes importants seront discutés : celui de la résistance et celui de la toxicité.

⁴ Stanton, R. A., Gernert, K. M., Nettles, J. H., Aneja, R. *Med. Res. Rev.*, **2011**, *31*, 443-481

⁵ <http://edusofad.com/www/demo/wged-scp/demo/scie1m01a3.php> consulté le 29/08/2013

⁶ (a) Warsch, S., Montero, A. J., Glück, S. *Curr. Breast Cancer Rep.*, **2012**, *4*, 75-82 (b) Cortes, J., Vidal, M. *Breast Cancer Res. Treat.*, **2012**, *133*, 821-830 (c) Dumontet, C., Jordan, M. A. *Nat. Rev. Drug Disc.*, **2010**, *9*, 790-803 (d) Carlson, R. O. *Expert Opin. Investig. Drugs*, **2008**, *17*, 707-722

A. LE SYSTEME TUBULINE-MICROTUBULES : VUE D'ENSEMBLE

1. GENERALITES

Les microtubules jouent divers rôles au sein de la cellule, comme le maintien de l'architecture cellulaire, le transport intracellulaire (de protéines, d'organelles, de vésicules ou de molécules de signalisation) ou encore la séparation des chromosomes lors de la mitose (Figure 3).⁷

Sur le plan structural, un microtubule est formé par l'assemblage en parallèle de treize protofilaments (Figure 4). Chaque protofilament est constitué de tubuline, une protéine hétérodimérique, composée de deux polypeptides α et β , chacune de 55 kDa et de dimension $46 \times 40 \times 65 \text{ \AA}$. Les dimères de tubuline α et β s'assemblent dans un enchaînement en « tête-à-queue » au sein des protofilaments.

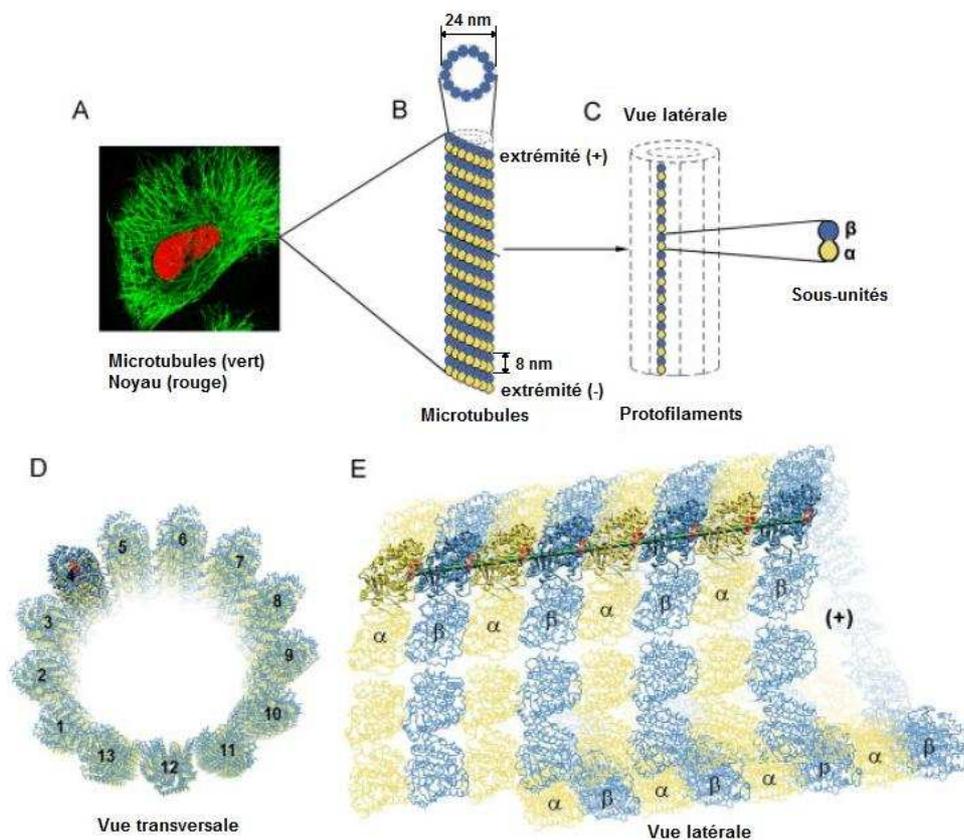


Figure 4. Les microtubules et leur formation.⁴ A. Cellule de type HeLa B. Microtubule formé par assemblage de treize protofilaments C. Protofilament formé de sous-unités de tubuline α et β D. Vue transversale E. Vue latérale.

2. LA DYNAMIQUE DE LA POLYMERISATION DES MICROTUBULES

Bien qu'ils constituent un cytosquelette cellulaire robuste, les microtubules ne sont pas statiques. Ce sont, au contraire, des polymères très dynamiques qui alternent entre des phases de

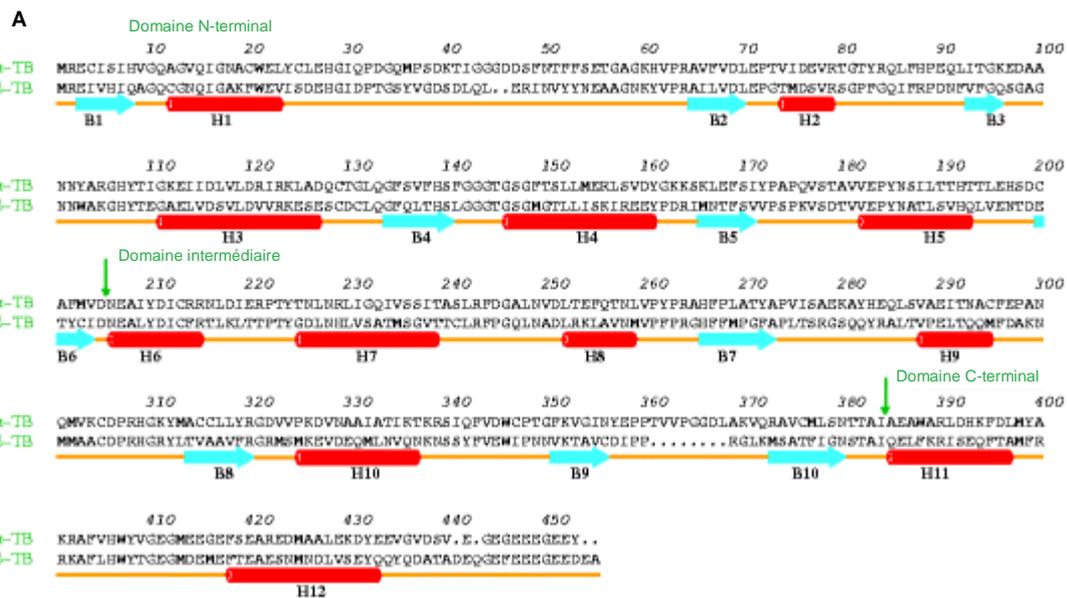
⁷ Jordan, M. A., Wilson, L. *Nat. Rev. Cancer*, **2004**, 4, 253-265

croissance ou de rétrécissement et des phases de latence. Ce comportement, aussi connu sous le nom d'**instabilité dynamique**,⁸ est fondamental au bon fonctionnement de la cellule.

Les hétérodimères de tubuline sont responsables de l'hétérogénéité intrinsèque entre les deux extrémités du microtubule.⁴ L'une, terminée par un monomère β , est appelée extrémité (+) et l'autre, finissant par le monomère α , est appelée extrémité (-). La cinétique de croissance et de rétrécissement n'est pas identique aux deux extrémités. Les extrémités (+) sont capables de grandir plus vite que les extrémités (-). Elles sont libres dans l'espace cytoplasmique, tandis que les extrémités (-) sont souvent intégrées au centrosome, qui est le centre organisateur de microtubules, à partir duquel commence la nucléation.⁹

L'assemblage des microtubules à partir de la tubuline α et β se déroule en deux phases : la nucléation et l'élongation. Lors de la phase lente, de **nucléation**, quelques dimères d' α - et β -tubuline s'associent de façon réversible et non covalente pour donner un petit noyau de microtubules. Cette phase est suivie par une phase d'**élongation**, plus rapide. Lors de celle-ci, l'association d'hétérodimères de tubuline en microtubules est plus rapide que la dépolymérisation des microtubules. Cependant, à l'état d'équilibre, la croissance des microtubules est contrebalancée par le rétrécissement. Ainsi, ils passent d'un épisode de croissance à un épisode de latence, ou même de rétrécissement. Cet équilibre assemblage-désassemblage demande de l'énergie. Elle est fournie par le Guanosine Triphosphate (GTP).⁴

Les deux sous-unités de tubuline α et β étant structurellement similaires (Figure 5A), chacune possède un site de liaison du GTP. Ce site se trouve dans le domaine N-terminal de chaque monomère, proche des boucles T1 à T5 (Figure 5B).¹⁰



⁸ Mitchison, T., Kirschner, M. *Nature*, **1984**, 312, 237-242

⁹ Honore, S., Pasquier, E., Braguer, D. *Cell. Mol. Life Sci.* **2005**, 62, 3039-3056

¹⁰ Nogales, E., Wolf, S. G., Downing, K. H. *Nature*, **1998**, 393, 199-204

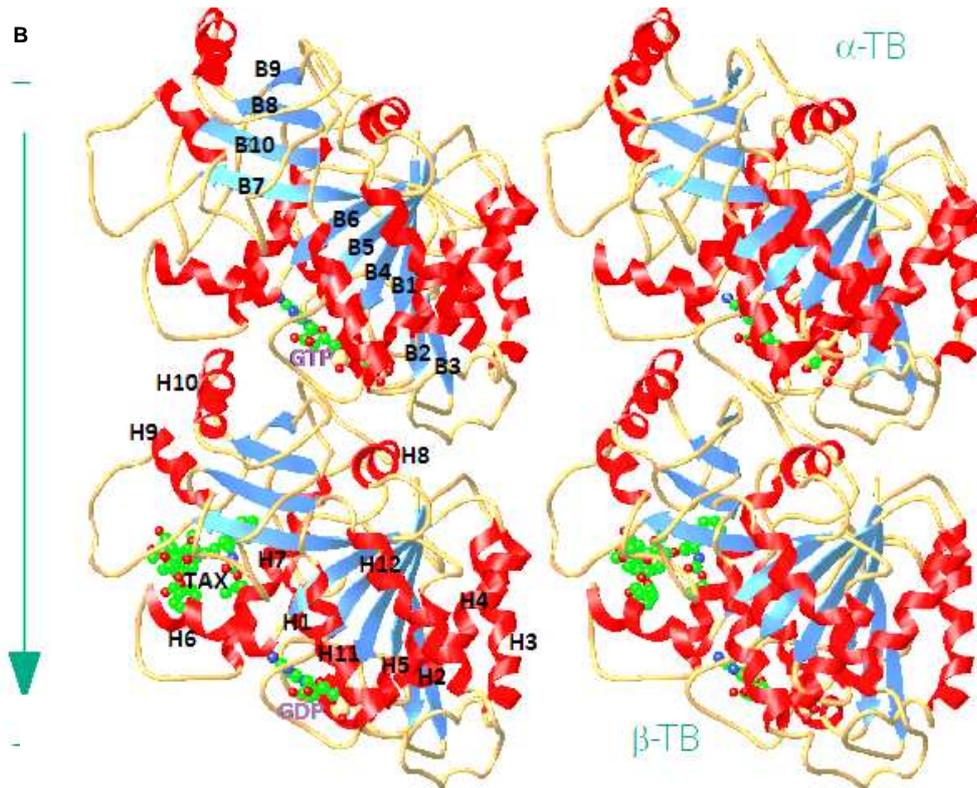


Figure 5. Structure secondaire de la tubuline et site de liaison du GTP.¹⁰ A. Comparaison de la structure secondaire de la tubuline α et de la tubuline β provenant de la cervelle porcine. B. Le monomère α contient une molécule de GTP dans le site N, le monomère β est lié à une molécule de GDP (site E) et une molécule de Taxotère® (TAX). Tous les feuillets sont indiqués sur le monomère α , tandis que les hélices sont indiquées sur le monomère β . Dans la suite de ce manuscrit les hélices seront notées par un H, les feuillets par un B et les boucles hélice-feuillet (B-H) par un T, indépendamment de la notation utilisée dans les articles de référence.

La base nucléique se place dans une poche hydrophobe définie par les acides aminés Ile16, Val131, Asn206, Tyr224, Leu227, Asn228 et Val231. Le ribose interagit avec les acides aminés de la boucle T5, alors que les phosphates établissent des liaisons hydrogène avec les acides aminés de la boucle T1 et T4 (Figure 6).^{10, 11}

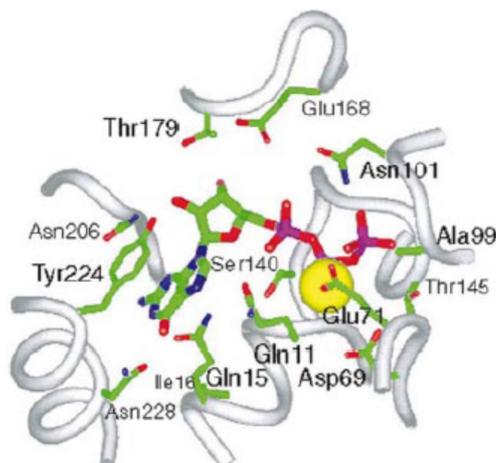


Figure 6. Site de liaison du GTP au niveau de la tubuline α .¹¹ Certains résidus impliqués dans les interactions directes avec le GTP et le Mg^{2+} (jaune) sont indiqués.

¹¹ Löwe, J., Li, H., Downing, K. H., Nogales, E. J. *Mol. Biol.*, **2001**, 313, 1045-1057

Au niveau du monomère α , le GTP, localisé dans un site appelé N, ne peut être ni hydrolysé, ni échangé. Le seul site d'hydrolyse et d'échange du GTP en GDP, dit site E, se situe au niveau de la tubuline β . L'une des causes les plus probables expliquant cette différence est le remplacement de l'acide aminé Glu254 (résidu acide) dans la sous-unité α , par une lysine (résidu basique) dans l'hélice H8 du monomère β .^{11, 12}

Pour que l'hétérodimère $\alpha\beta$ de la tubuline se fixe sur un microtubule en phase de croissance, la sous-unité β à l'extrémité (+) du microtubule doit posséder une molécule de GTP dans son site E. Juste après l'association, le GTP est hydrolysé en GDP. Ainsi, à l'intérieur du microtubule, le monomère β contient du GDP (Figure 7).¹²

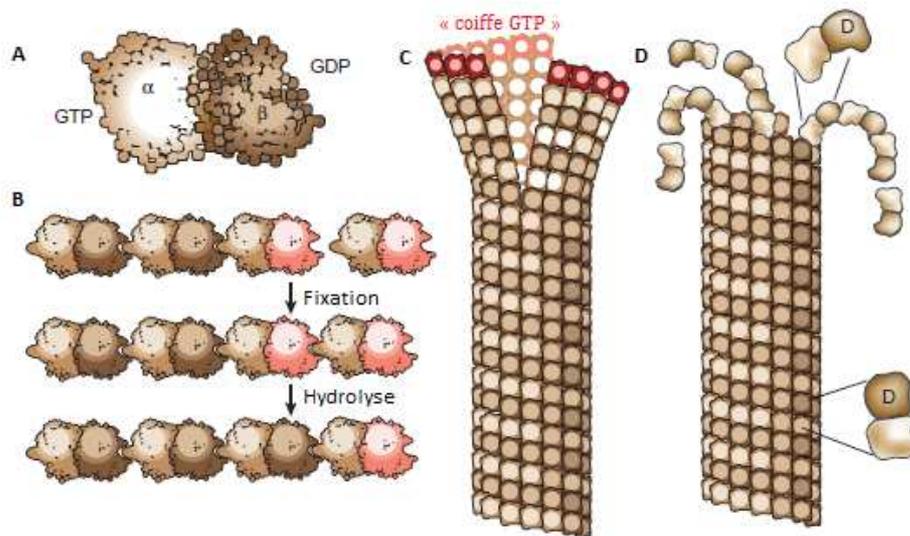


Figure 7. L'hydrolyse du GTP.^{13a} A. Hétérodimère de tubuline $\alpha\beta$ B. Fixation d'un nouvel hétérodimère sur le microtubule en phase de croissance C. Croissance du microtubule en présence d'une « coiffe GTP » D. Désassemblage du microtubule causé par la perte de la « coiffe GTP ».

Lors d'une croissance rapide, une nouvelle sous-unité contenant du GTP est ajoutée sans que la molécule de GTP de l'hétérodimère précédent n'ait le temps d'être hydrolysée. Il en résulte une accumulation de sous-unités β contenant du GTP à l'extrémité (+) du microtubule, appelé « coiffe de GTP ». La présence de cette « coiffe de GTP » permet d'éviter la dissociation des protofilaments et, en même temps, de maintenir la forme cylindrique rigide du microtubule.⁴

Les changements de conformation induits par l'hydrolyse du GTP (Figure 8) provoquent une diminution de l'affinité envers d'autres hétérodimères. Le protofilament, droit à l'origine, est forcé d'adopter une forme courbée. Ainsi, dans un « état GTP », la tubuline polymérise en protofilaments droits, qui s'adaptent bien et favorisent une croissance des microtubules. Tandis que dans un « état GDP », les protofilaments sont courbés, moins stables et ont tendance à se

¹² (a) Amos, L. A. *Semin. Cell Dev. Biol.*, **2011**, 22, 916-926 (b) Nogales, E., Wang, H.-W. *Curr. Opin. Cell. Biol.*, **2006**, 18, 179-184

désassembler. Les hétérodimères de tubuline-GDP ainsi libérés doivent échanger le GDP avec du GTP pour se réassembler.¹³

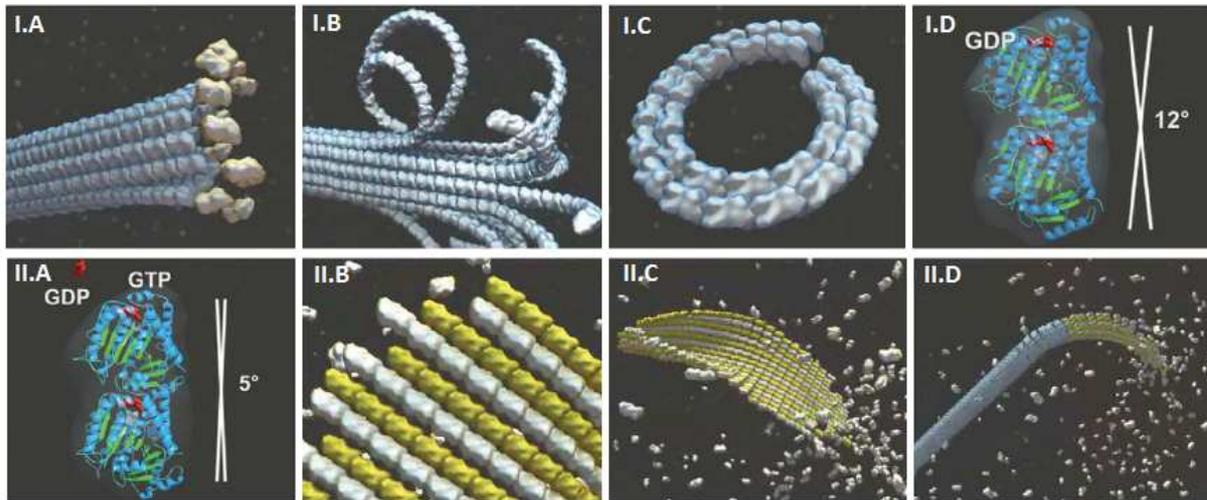


Figure 8. Le désassemblage et l'assemblage des microtubules.^{12b} *I. Les changements de conformation induits par l'hydrolyse du GTP : A. Perte de la « coiffe de GTP » B. Désassemblage C. Intermédiaire de désassemblage cyclique D. Le dimère-GDP dans sa conformation courbée II. Les changements de conformation induits après l'échange GDP-GTP : A. La conformation droite du dimère après l'échange GDP-GTP B. Intermédiaire d'assemblage sous forme de feuillet C. Transition directe dans un cylindre fermé D. Fermeture coopérative du microtubule.*

Un autre comportement dynamique des microtubules est le « **treadmilling** »¹⁴ (Figure 9). Il s'agit d'un phénomène bien connu, correspondant à une croissance nette à l'extrémité (+) accompagnée d'un raccourcissement net à l'autre extrémité (-). De cette manière, la longueur du microtubule reste constante alors qu'il y a un flux continu de tubuline d'une extrémité à l'autre. Un « treadmilling » rapide des microtubules a été observé au cours de la métaphase et de l'anaphase (Figure 3), où il peut être essentiel à la signalisation.⁴

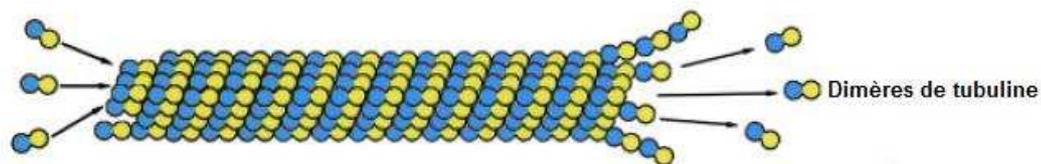


Figure 9. Le phénomène de « treadmilling ».⁴ Des sous-unités de tubuline s'additionnent à l'extrémité (+) et se dissocient à l'extrémité (-)

Bien que très différents, le « treadmilling » et l'instabilité dynamique sont deux phénomènes complémentaires. Certains microtubules peuvent afficher simultanément les deux comportements tandis que d'autres montrent surtout l'un ou l'autre.

Un ensemble très complexe de mécanismes contrôle la dynamique des microtubules et leur fonctionnement *in vivo*.^{6c,13} La proportion de chaque isotype de la tubuline, les modifications post-

¹³ (a) Howard, J., Hyman, A. A. *Nature*, **2003**, 422, 753-758 (b) Coderch, C., Morreale, A., Gago, F., *Anti-cancer Agents Med. Chem.*, **2012**, 219-225

¹⁴ Kirschner, M. W. *J. Cell Biol.*, **1980**, 86, 330-334

traductionnelles de celle-ci, ainsi que différentes protéines régulatrices associées aux microtubules (les MAPs) interviennent dans ces processus.¹⁵

Chez les humains, il existe six isotypes de tubuline α et sept isotypes de tubuline β , et le niveau d'expression de chaque isotype varie dans les différents tissus et cellules. Chaque isotype peut également être réparti en différents sous-types en fonction de la modification post-traductionnelle¹⁶ (Figure 10) qu'il a subi : la phosphorylation, la polyglutamylation, la polyglycylation, l'acétylation, la détyrosination/tyrosination, voire l'élimination de l'avant dernier résidu de glutamate de la tubuline α . Les médicaments ciblant le système tubuline-microtubules ont des affinités différentes pour chaque isotype, ce qui modifie leur efficacité dans les différents cancers. La compréhension de ces phénomènes complexes constitue un axe de recherche récent avec la possibilité de développer des nouvelles cibles thérapeutiques.¹⁷

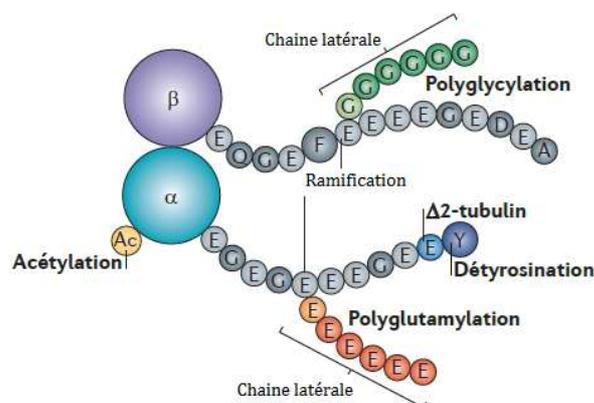


Figure 10. Modifications post-traductionnelles de la tubuline.^{16a}

Compte-tenu des rôles multiples des microtubules dans la cellule, certaines protéines régulatrices peuvent, elles aussi, devenir des cibles thérapeutiques importantes pour la conception des nouveaux anticancéreux. Ces cibles potentielles comprennent les protéines impliquées dans la formation d'hétérodimères de tubuline, dans la nucléation des microtubules, dans la régulation de leur dynamique et de leur interaction avec les chromosomes ou autres organites cellulaires.⁴ Un intérêt particulier est accordé aux protéines motrices, comme la kinésine Eg5¹⁸ et la protéine tau,¹⁹ une protéine qui a été corrélée avec des résultats positifs chez les patients atteints d'un cancer du sein. Une autre cible potentielle est la survivine,²⁰ une protéine intimement impliquée dans le

¹⁵ Thèse de Dr. B. Franco, Université de Montpellier I, 2007

¹⁶ (a) Janke, C., Bulinski, J. C., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2011**, *12*, 773-786 (b) Westermann, S., Weber, K., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2003**, *4*, 938-947

¹⁷ (a) Calligaris, D., Verdier-Pinard, P., Devred, F., Villard, C., Braguer, D., Lafitte, D. *Cell. Mol. Life Sci.*, **2010**, *67*, 1089-1104 (b) Kavallaris, M. *Nat. Rev. Cancer*, **2010**, *10*, 194-204

¹⁸ Stephenson, J. J., Lewis, N., Martin, J. C., Ho, A., Li, J., Wu, K., Pace, L., Eder, J. P., Schwartz, G. K. *J. Clin. Oncol.*, **2008**, *26* (Suppl. 15), 2516

¹⁹ Pusztai, L., Jeong, J.-H., Gong, Y., Ross, J. S., Kim, C., Paik, S., Rouzier, R., Andre, F., Hortobagyi, G. N., Wolmark, N., Symmans, W. F. *J. Clin. Oncol.*, **2009**, *27*, 4287-4292

²⁰ Altieri, D. C. *Curr. Opin. Cell Biol.*, **2006**, *18*, 609-615

comportement des microtubules lors de la formation du fuseau mitotique, ainsi que dans l'apoptose. La stathmine,²¹ une protéine régulant la formation des dimères de tubuline et la dynamique des microtubules, est également une cible prometteuse.

B. LA GRANDE DIVERSITE DES COMPOSES CIBLANT LES MICROTUBULES

1. GENERALITES

Un grand nombre de substances chimiques, généralement d'origine naturelle, altère la formation des microtubules et leur dynamique. Une particularité des agents se liant aux microtubules, comparés à d'autres classes de médicaments anticancéreux, est leur grande diversité structurale et dans de nombreux cas, leur complexité.

Les médicaments interférant avec la structure des microtubules étaient auparavant divisés en stabilisants et déstabilisants de la polymérisation de la tubuline, en accord avec leurs effets, à des concentrations élevées, sur la masse des microtubules. Plus récemment, il a été déterminé que leur effet était dû à la suppression de la dynamique des microtubules.²²

Les composés ciblant les microtubules altèrent également la stabilité de leur attachement au centrosome et cela à des concentrations similaires à celles nécessaires pour inhiber la division cellulaire.²³

2. CLASSIFICATION DES COMPOSES CIBLANT LES MICROTUBULES

Avec le développement des connaissances sur les microtubules, il a été possible de déterminer que l'effet le plus important des agents ciblant les microtubules n'est pas leur action sur la masse de microtubules dans la cellule, mais la suppression de leur dynamique.^{6c, 7} Ainsi, les composés ciblant les microtubules sont, généralement, classés en fonction de leurs sites de liaison au niveau de la tubuline et non en fonction de leur effet sur la masse du polymère (Figure 11).

Dans ce chapitre nous allons voir que les composés se fixant dans le domaine des taxanes ou du laulimalide stabilisent les microtubules et favorisent la polymérisation, tandis que les composés se fixant dans les domaines vinca ou de la colchicine induisent un effet inverse.

²¹ Rana, S., Maples, P. B., Senzer, N., Nemunaitis, J. *Expert Rev. Anticancer Ther.*, **2008**, *8*, 1461-1470

²² (a) Jordan, M. A., Kamath, K. *Curr. Cancer Drug Targets*, **2007**, *7*, 730-742 (b) Zhou, J., Giannakakou, P., *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents*, **2005**, *5*, 65-71

²³ (a) Ganguly, A., Cabral, F. *Biochim. Biophys. Acta*, **2011**, *1816*, 164-171 (b) Ganguly, A., Yang, H., Cabral, F., *Mol. Cancer Ther.* **2010**, *9*, 2914-2923 (c) Yang, H., Ganguly, A., Cabral, F. *J. Biol. Chem.* **2010**, *285*, 32242-32250

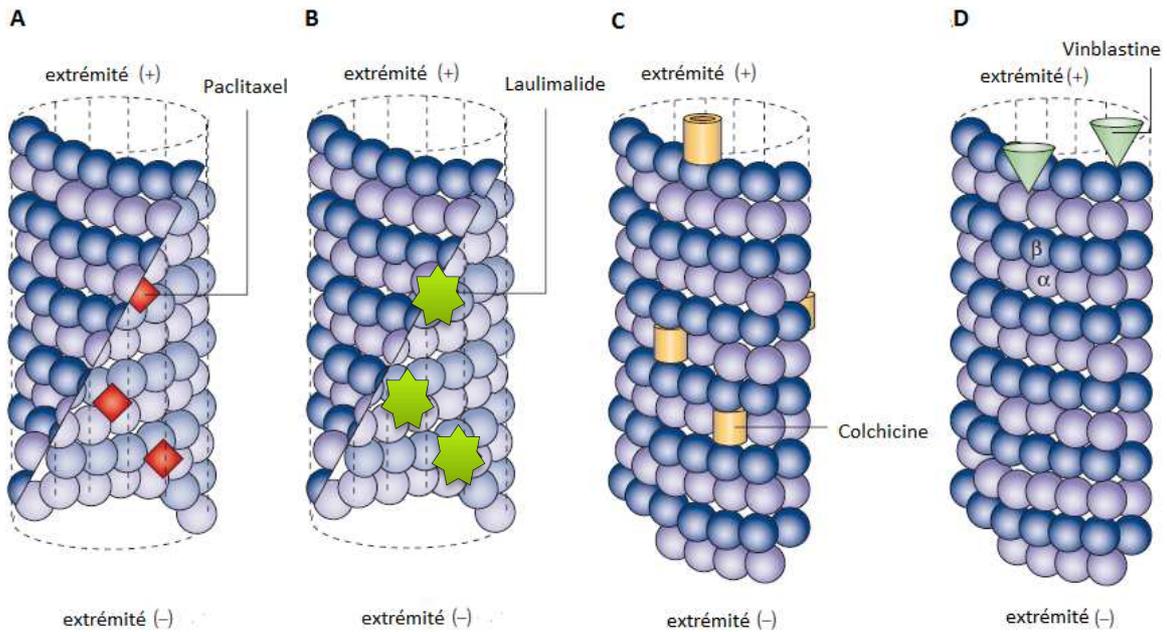


Figure 11. Différents site de liaison des composés antimittotiques.⁷ **A.** Le paclitaxel se fixe sur la surface intérieure du microtubule et supprime sa dynamique **B.** Le laulimalide se fixe à l'interface intradimérique et supprime la dynamique des microtubules **C.** La colchicine forme des complexes avec les dimères de tubuline et copolymérise dans la matrice microtubulaire en supprimant sa dynamique **D.** Quelques molécules de vinblastine liées avec forte affinité à l'extrémité (+) des microtubules suffisent pour supprimer leur dynamique

A) AGENTS STABILISANTS

(1) Le domaine des taxanes

(A) Les taxanes

Les composés se liant au domaine des taxanes ont une faible affinité de liaison pour la tubuline libre, mais une forte affinité pour les microtubules. La caractéristique commune de ces médicaments est leur double site d'interaction.^{13b} Dans un premier temps, ils se fixent avec une faible affinité dans un site externe, puis au niveau d'une poche hydrophobe profonde de la sous-unité β , à la surface intérieure du microtubule (Figure 12A et B). Les interactions du paclitaxel avec la protéine se font par l'intermédiaire de trois liaisons hydrogène et de multiples contacts hydrophobes, au niveau des hélices H1, H6 et H7 et des feuillets B8 et B10.²⁴

²⁴ Snyder, J. P., Nettles, J. H., Cornett, B., Downing, K. H., Nogales, E., *PNAS*, **2001**, *98*, 5312-5316

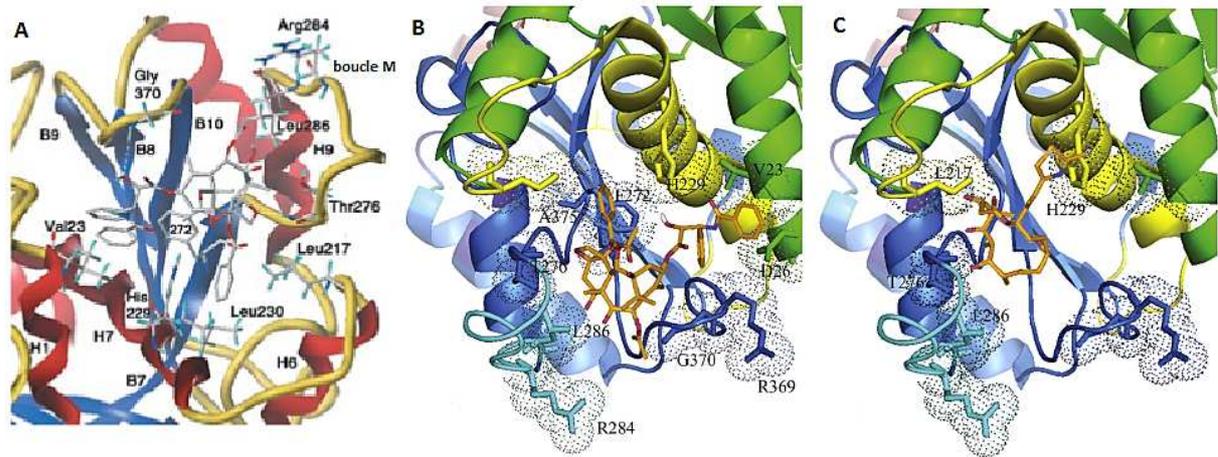


Figure 12. Domaine des taxanes. A. Site de fixation du paclitaxel (les hélices et feuillets sont indiqués)²⁴ B. Site de fixation du paclitaxel (seules les interactions hydrophobes sont indiqués) C. Site de fixation de l'épothilone^{12a}

Les taxoïdes induisent un changement de conformation de l'hétérodimère de tubuline (Figure 13) qui se redresse et s'aligne dans l'axe de croissance du microtubule. Cela augmente son affinité pour les hétérodimères suivants et favorise la polymérisation.⁴

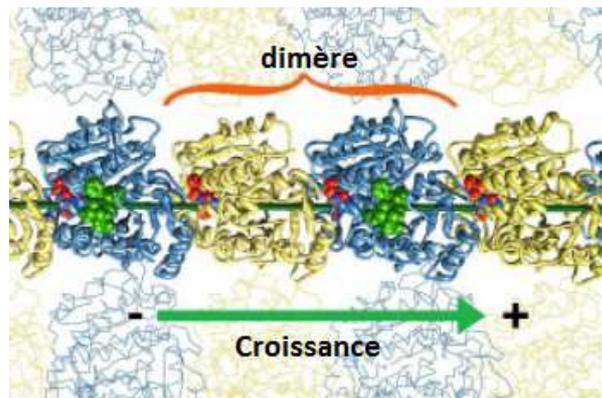


Figure 13. Changement de conformation induit par la fixation du paclitaxel.⁴ Le paclitaxel (en vert) se fixe au niveau de la sous-unité β , à la surface intérieure du microtubule, forçant son alignement dans l'axe de croissance (axe vert)

Parmi les composés se liant à ce site de fixation (Figure 14), les plus utilisés en chimiothérapie sont les taxanes : le paclitaxel (Taxol[®]), le docétaxel (Taxotère[®]), le cabazitaxel 7 (autorisée depuis 2010, commercialisé sous le nom de Jevtana[®] par Sanofi-Aventis)²⁵ ou le nab-paclitaxel (des nanoparticules de paclitaxel lié à l'albumine, autorisées par la FDA depuis 2012 et commercialisé sous le nom d'Abraxane[®] par Abraxis BioScience).²⁶ Le milataxel, le larotaxel, l'ortataxel et le tesetaxel font partie de la même famille, mais sont encore en Phase II d'études cliniques.^{6a, 6c}

²⁵ <http://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/OfficeofMedicalProductsandTobacco/CDER/ucm216214.htm> consulté le 15/06/2013

²⁶ <http://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm323668.htm> consulté le 15/06/2013

(b) Les épothilones

Une autre famille de composés se liant au niveau du site des taxanes sont les épothilones, isolées du myxobactérium *Sorangium cellulosum*. (Figure 12C, Figure 14).²⁷ Il s'agit d'une famille d'agents anticancéreux très efficace même dans le cas des lignées cellulaires résistantes aux taxanes. Elle inclut l'ixabépilone **8** (autorisée aux Etats-Unis et commercialisée sous le nom d'Ixempra® par Bristol-Myers Squibb),²⁸ le patupilone (phase III d'études cliniques)²⁹ ou le sagopilone (en étude clinique de phase II).³⁰

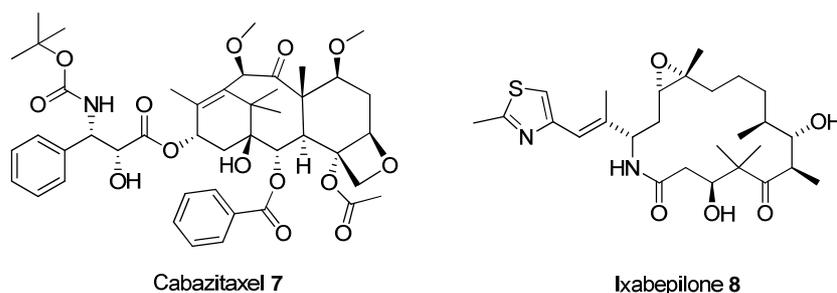


Figure 14. Agents se liant dans le domaine des taxanes.

Le discodermolide (essais cliniques de Phase I arrêtés à cause d'une forte toxicité pulmonaire),^{6c} les taccalonolides, les eleutherobines, les sarcodictyines, la cyclostreptine et le rhazinilam sont d'autres agents non utilisés en clinique, se liant au, ou à proximité du site des taxanes sur la β -tubuline.³¹

(2) Le domaine du laulimalide

Pendant longtemps, le site de fixation du laulimalide **9**, un produit naturel isolé d'éponges marines, a été considéré comme étant situé au niveau de la sous-unité α de la tubuline, dans une région analogue au domaine des taxanes sur la tubuline β .³² Cependant, des études récentes ont montré qu'il est localisé au niveau de la tubuline β , à proximité de l'interface intradimérique, pas très loin du site d'hydrolyse du GTP (Figure 15A).³³ Ce site est exposé à la surface interne des

²⁷ Cheng, K. L., Bradley, T., Budman, D. R. *Biologics*, **2008**, *2*, 789–811

²⁸ Perez, E. A., Patel, T., Moreno-Aspitia, A. *Breast Cancer Res. Treat.*, **2010**, *121*, 261–271

²⁹ Colombo, N., Kutarska, E., Dimopoulos, M., Bae, D. S., Rzepka-Gorska, I., Bidzinski, M., Scambia, G., Engelholm, S. A., Joly, F., Weber, D., El-Hashimy, M., Li, J., Souami, F., Wing, P., Engelholm, S., Bamias, A., Schwartz, P. *J. Clin. Oncol.*, **2012**, *30*, 3841–3847

³⁰ Beer, T. M., Smith, D.C., Hussain, A., Alonso, M., Wang, J., Giurescu, M., Roth, K., Wang, Y. *Br. J. Cancer.*, **2012**, *107*, 808–813

³¹ Chen, S. M., Meng, L. H., Ding, J. *Expert Opin. Investig. Drugs*, **2010**, *19*, 329–343

³² Jimenez-Barbero, J., Canales, A., Northcote, P.T., Buey, R.M., Andreu, J.M., Diaz, J.F. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8757–8765

³³ (a) Bennett, M. J., Barakat, K., Huzil, J. T., Tuszyński, J., Schriemer, D. C. *J. Chem. Biol.*, **2010**, *17*, 725–734 (b) Nguyen, T. L., Xu, X., Gussio, R., Ghosh, A. K., Hamel, E. *J. Chem. Inf. Model.*, **2010**, *50*, 2019–2028 (c) Huzil, J. T., Chik, J. K., Slys, G. W., Freedman, H., Tuszyński, J., Taylor, R. E., Sackett, D. L., Schriemer, D. C. *J. Mol. Biol.*, **2008**, *378*, 1016–1030

microtubules. Lorsque le laulimalide se lie à la tubuline, il adopte une conformation telle que les deux cycles pyrane soient orientés dans la poche hydrophobe de la sous-unité β (Figure 15B), tandis que les groupements hydrophiles (le macrocycle ester, l'époxide et le groupement hydroxyle) interagissent avec l'hélice H10.

La fixation du laulimadine est sensible à la présence du GTP dans le site E. Une fois lié à la tubuline β , ce composé force l'hétérodimère à adopter une conformation droite, favorisant ainsi la polymérisation.^{33a}

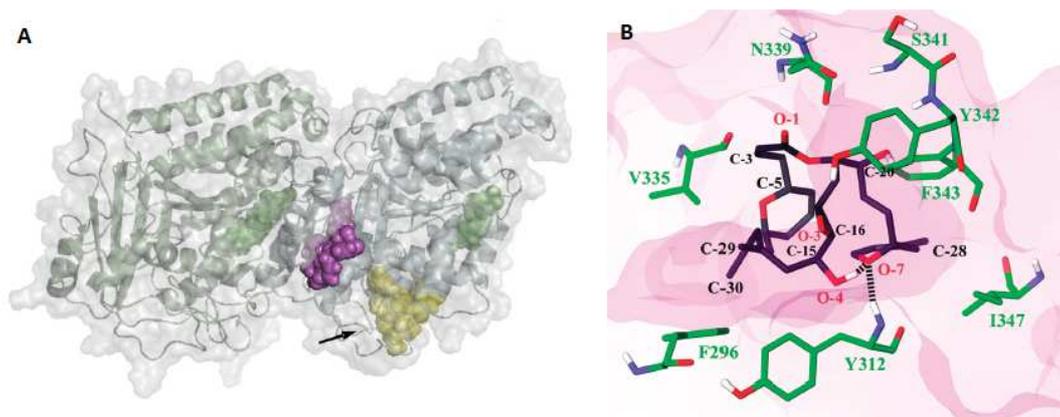


Figure 15. Site de fixation de la laulimalide. A. Localisation du site du laulimalide (en magenta) à l'interface entre la tubuline α (en vert pâle) et la tubuline β (en bleu pâle) à proximité du site de liaison du nucléotide (en vert) et du site de fixation du paclitaxel (en jaune)^{33a} B. Site de fixation détaillé du laulimalide au niveau de la tubuline β ^{33b}

Le peloruside A **10** (Figure 16)^{34a} se lie dans le même domaine et a une activité similaire à celle des épothilones.^{4, 33b} Plusieurs analogues du laulimalide **9**^{33b} et du peloruside A **10** ont été synthétisés et même s'ils ont montré des activités intéressantes sur les lignées cellulaires résistantes aux taxanes, aucun d'entre eux n'est encore en études cliniques.⁴

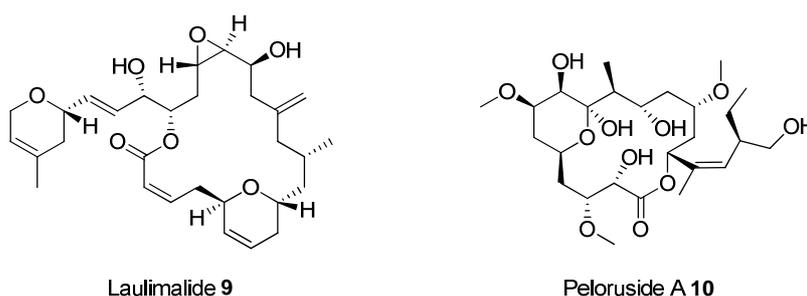


Figure 16. Agents se liant dans le domaine de la laulimalide.

³⁴ (a) Singh, A. J., Xu, C.-X., Xu, X., West, L. M., Wilmes, A., Chan, A., Hamel, E., Miller, J. H., Northcote, P. T., Ghosh, A. K. *J. Org. Chem.*, **2010**, *75*, 2-10 (b) Zhao, Z., Taylor, R. E. *Org. Lett.*, **2012**, *14*, 669-671

B) AGENTS DESTABILISANTS

(1) Le domaine de la colchicine

Le site de liaison de la colchicine (Figure 17) est situé à l'interface entre la tubuline α et la tubuline β , proche du site d'échange GTP/GDP. Il se trouve à l'intérieur du filament, au niveau de la sous-unité β , entre les feuillets B8 et B9, la boucle T7 et les hélices H7 et H8. La colchicine interagit également avec la boucle T5 de la sous-unité α voisine.³⁵

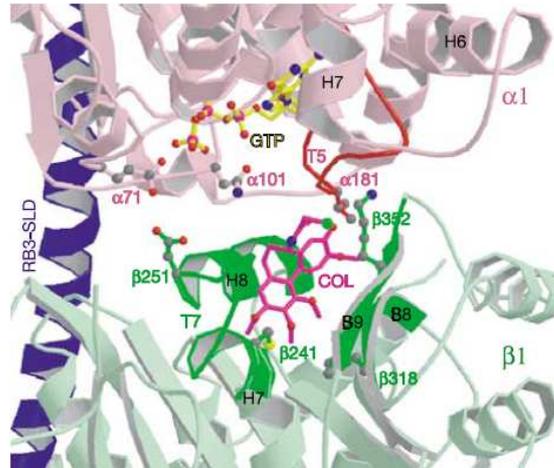


Figure 17. Site de fixation de la colchicine.³⁵

La fixation de la colchicine à l'interface de la tubuline α et de la tubuline β induit un changement de conformation de l'hétérodimère (Figure 18) qui devient courbe, empêchant ainsi sa polymérisation.^{4, 36, 37} A des concentrations substoechiométriques, ce composé se lie aux extrémités des microtubules bloquant ainsi leur activité dynamique.^{12a}

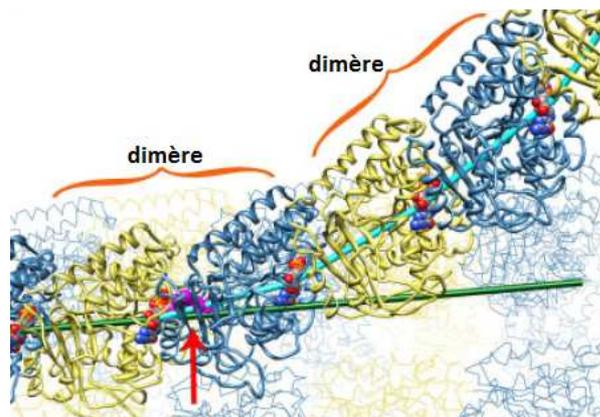


Figure 18. Changement de conformation induit par la colchicine.⁴ La colchicine (en magenta) se fixe à l'interface entre deux monomères de tubuline (sous-unité α et sous-unité β). Cela induit un changement de conformation. Ainsi le protofilament n'est plus droit (axe vert), mais courbé (axe bleu ciel), ce qui empêche l'assemblage de la tubuline et favorise le désassemblage

³⁵ Ravelli, R. B. G., Gigant, B., Curmi, P. A., Jourdain, I., Lachkar, S., Sobel, A., Knossow, M. *Nature*, **2004**, *428*, 198-202

³⁶ Garland, D. L. *Biochemistry*, **1978**, *17*, 4266-4272

³⁷ Bhattacharyya, B. Panda, D., Gupta, S., Banerjee, M., *Med. Res. Rev.*, **2008**, *28*, 155-183

Parmi les composés se liant à ce site de fixation on trouve : la colchicine **11**, produit par *Colchicum autumnale*, qui n'est pas utilisée en clinique en raison de sa forte toxicité, le 2-méthoxyestradiol **12** (actuellement en phase II d'essai clinique réalisé par Entremed sous le nom de Panzem®),³⁸ l'ABT-751 (phase I/II d'étude clinique)³⁹ et l'indibuline **13** (phase I/II d'étude clinique).⁴⁰

Les plus connus sont cependant les combrétastatines. Hormis leur activité cytotoxique, ils perturbent la vascularisation de la tumeur, probablement à cause de leurs effets sur les microtubules des cellules endothéliales. Quelques composés de cette famille, comme la fosbretabuline (CA4P), isolé de l'arbre *Combretum caffrum*,⁴¹ la verubuline (Phase II)⁴² et l'ombrabuline **14** (Phase I/III)⁴³ sont actuellement en étude clinique.

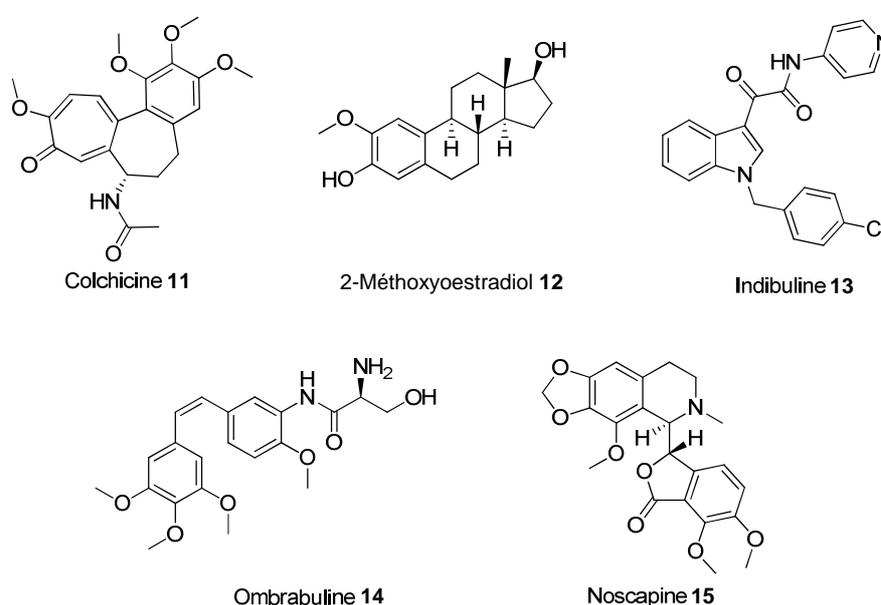


Figure 19. Agents se liant dans le domaine de la colchicine.

Enfin, la noscapine **15** est un autre agent antimittotique dont le site de fixation n'a pas encore été déterminé avec précision, mais qui semble être celui de la colchicine.⁴⁴ Elle a la capacité de traverser la barrière hémato-encéphalique et est actuellement en essai de phase I/II chez des

³⁸ <http://www.entremed.com/clinic/> consulté le 13/06/2013

³⁹ Rudin, C. M., Mauer, A., Smakal, M., Juergens, R., Spelda, S., Wertheim, M., Coates, A., McKeegan, E., Ansell, P., Zhou, X., Qian, J., Pradhan, R., Dowell, B., Krivoshik, A., Gordon, G. *J. Clin. Oncol.*, **2011**, *29*, 1075-1082

⁴⁰ <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01113970> consulté le 13/06/2013

⁴¹ Mooney, C. J., Nagaiah, G., Fu, P., Wasman, J. K., Cooney, M. M., Savvides, P. S., Bokar, J. A., Dowlati, A., Wang, D., Agarwala, S. S., Flick, S. M., Hartman, P. H., Ortiz, J. D., Lavertu, P. N., Remick, S. C. *Thyroid*, **2009**, *19*, 233-240

⁴² <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00892931> consulté le 13/06/2013

⁴³ <https://www.sanofioncology.com/pipeline/ombrabulin.aspx> consulté le 13/06/2013

⁴⁴ Naik, P. K., Santoshi, S., Rai, A., Joshi, H. C. *J Mol Graph Model.*, **2011**, *29*, 947-955

patients atteints de myélome multiple.⁴⁵ Plusieurs analogues de la noscapine **15** sont actuellement à l'étude comme agents anticancéreux et montrent une activité importante.^{6c}

(2) Le domaine vinca

Le domaine vinca est composé de deux sites très proches, voire partiellement confondus, l'un correspondant au site de fixation des vinca-alcaloïdes et l'autre à celui de certains peptides se liant à la tubuline.^{4,31}

(a) Le site de fixation des vinca-alcaloïdes

(i) Les vinca- alcaloïdes

Bien que la cible cellulaire des vinca-alcaloïdes ait été déterminée depuis les années 1970, la localisation précise de leur site de fixation est restée longtemps inconnue jusqu'à ce que l'équipe de Knossow publie, en 2005, la structure cristallographique de la vinblastine **1** dans la tubuline en complexe avec de la stathmine (RB3-SLD) avec une résolution de 4,1 Å.⁴⁶ Ce site de fixation (Figure 20A) est à l'interface entre la sous-unité β d'un hétérodimère et la sous-unité α de l'hétérodimère suivant, dans une région proche du site d'échange GDP/GTP.

La vinblastine interagit avec la boucle T7, l'hélice H10 et le feuillet B9 de la sous-unité α et la boucle T5 et les hélices H6, H7 de la sous-unité β . De plus, elle y est orientée de façon à ce que les deux monomères de la vinblastine **1** (velbenamine et vindoline) puissent interagir avec les deux hétérodimères de la tubuline (Figure 20B).

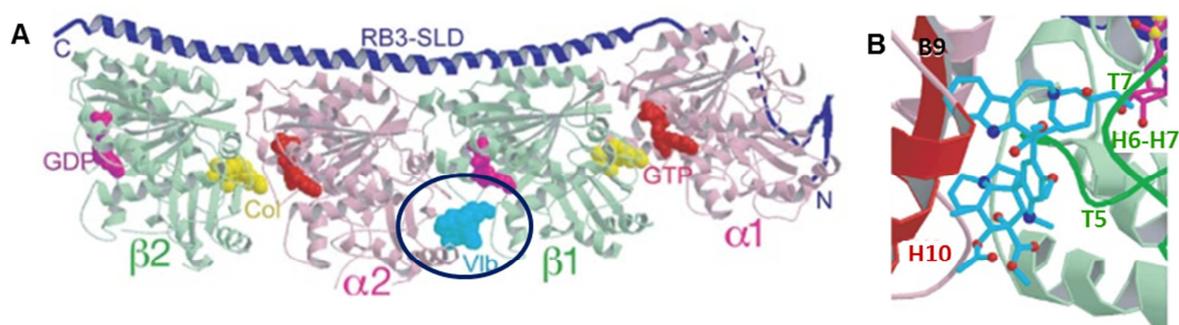


Figure 20. Site de fixation de la vinblastine.^{46(a)} **A.** Site de fixation de la vinblastine (couleur bleu ciel) entre deux hétérodimères de tubuline (α 2- β 1) **B.** Orientation de la vinblastine afin que les deux parties velbenamine et vindoline interagissent avec les 2 hétérodimères

Une fois fixée, la vinblastine **1** induit un changement de conformation au niveau interdimérique (Figure 21), ce qui force les protofilaments à se courber et empêche leur assemblage en microtubules. A des concentrations faibles, les vinca-alcaloïdes, se lient à l'extrémité (+) des microtubules, réduisent leur dynamique et bloquent la mitose. A des concentrations plus

⁴⁵ <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00912899> consulté le 15/06/2013

⁴⁶ (a) Gigant, B., Wang, C., Ravelli, R. B. G., Roussi, F., Steinmetz, M. O., Curmi, P. A., Sobel, A., Knossow, M. *Nature*, **2005**, 435, 519-522 (b) Cormier, A., Knossow, M., Wang, C., Gigant, B. *Meth. Cell. Biol.*, **2010**, 95, 373-390

élevées, les vinca-alcaloïdes possèdent une affinité pour la tubuline libre. En présence de vinca-alcaloïdes, les dimères de tubuline s'associent en paracrystaux, spirales ou tubules.⁴

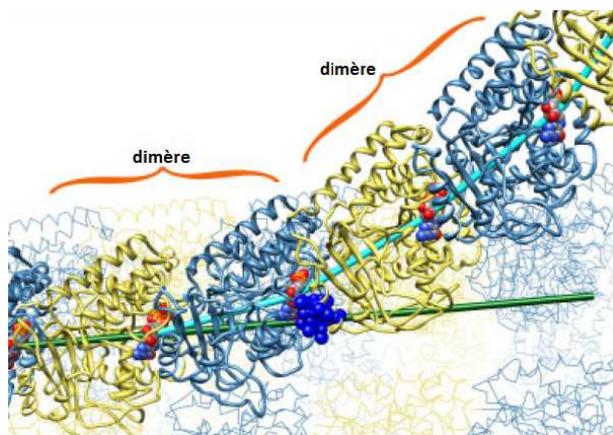


Figure 21. Changement de conformation induit par la vinblastine.⁴ La vinblastine (en bleu) se fixe à l'interface entre deux hétérodimères de tubuline (sous-unité β et sous-unité α du hétérodimère suivant). Cela induit un changement de conformation. Ainsi le protofilament n'est plus droit (axe vert), mais courbé (axe bleu ciel), ce qui empêche l'assemblage de la tubuline et favorise le désassemblage

La vinflunine **5** (Figure 22), un nouveau composé fluoré, obtenu en milieu superacide, est le dernier vinca-alcaloïde à avoir été approuvé (commercialisé depuis 2009 sous le nom de Javlor[®] par les laboratoires Pierre Fabre).⁴⁷ De plus, une formulation liposomale de la vincristine, qui permet une livraison régulière et prolongée de cette substance active, fait actuellement l'objet d'essai clinique.^{6c}

(ii) Les halichondrines

L'halichondrine B, son analogue *homo*-halichondrine B et la forme plus simple, l'éribuline **16** sont des macrolides polyéther, isolés de l'éponge du Pacifique *Halicondria okadai* ou *axinella*, qui se fixent dans le même site. Ils inhibent l'assemblage des microtubules en se liant à l'extrémité (+) et empêchent la croissance du microtubule.⁴⁸ En 2010, le mésylate d'éribuline a été autorisé par la FDA. Il est actuellement commercialisé sous le nom de Halaven[®] par Eisai Co.⁴⁹

(iii) Les maytansinoïdes

Une autre famille de molécule se liant dans le site des vinca-alcaloïdes sont les maytansinoïdes. Leur liaison sur la tubuline induit une conformation qui empêche l'échange GDP/GTP. Bien que la maytansine soit trop toxique pour être utilisée directement, certains de ses analogues synthétiques sont très actifs.^{12a} Ainsi, plusieurs immunoconjugués de la mertansine **17** (BT-062, IMGN388, BIIB015) sont actuellement en phase II/III d'étude clinique.^{6c}

⁴⁷ Bellmut, J., Théodore, C., Demkov, T., Komyakov, B., Sengelov, L., Daugaard, G., Caty, A., Carles, J., Jagiello-Gruszfeld, A., Karyakin, O., Delgado, F. M., Hurteloup, P., Winquist, E., Morsli, N., Salhi, Y., Culine, S., von der Maase, H. *J. Clin. Oncol.*, **2009**, *27*, 4454-4461

⁴⁸ (a) Seligmann, J., Twelves, C. *Future Med. Chem.*, **2013**, *5*, 339-352 (b) Smith, J. A., Wilson, L., Azarenko, O., Zhu, X., Lewis, B. M., Littlefield, B. A., Jordan, M. A. *Biochemistry*, **2010**, *49*, 1331-1337

⁴⁹ <http://www.halaven.com/hcp/moa.aspx> consulté le 14/06/2013

(iv) La rhizoxine

La rhizoxine **18** est une lactone macrocyclique, isolée du champignon *Rhizopus microsporus*, qui empêche la vinblastine de se lier à la tubuline à cause de leur site de fixation partiellement commun. Contrairement à la vinblastine, à des concentrations élevées, la rhizoxine ne forme pas d'agrégats.⁴

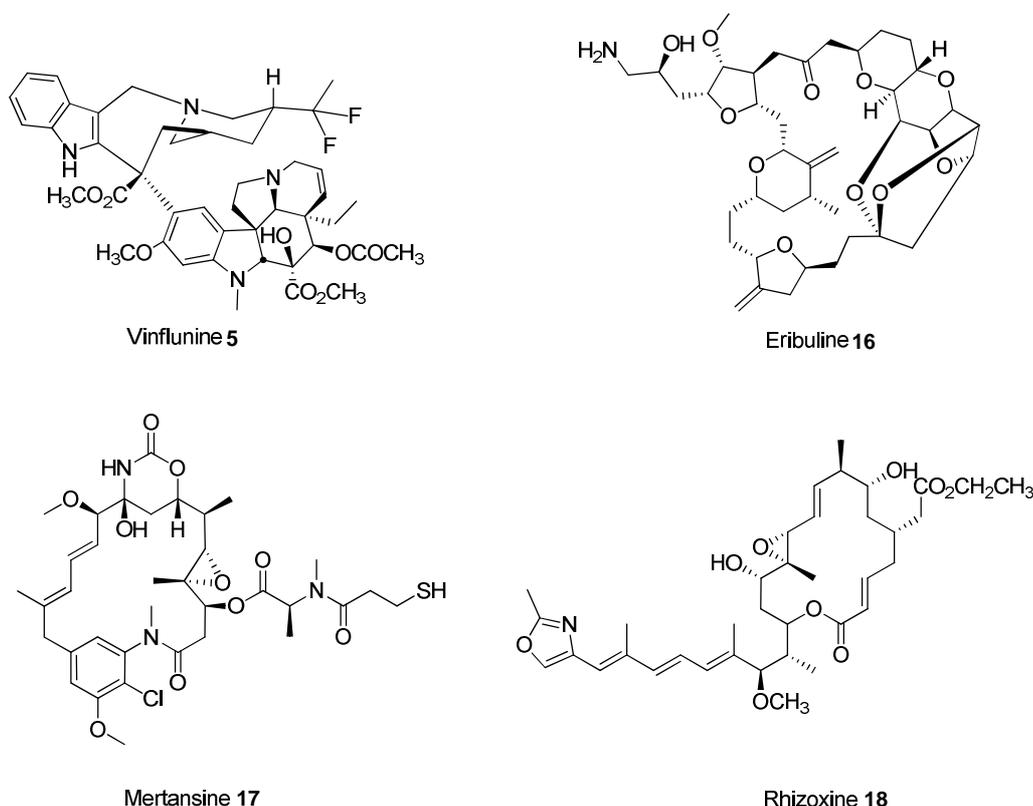


Figure 22. Agents se liant dans le domaine des vincas.

(b) Le site de fixation « peptidique »

La polymérisation des microtubules est inhibée par un certain nombre de peptides linéaires et cycliques. Ces composés induisent la formation d'agrégats présentant des différences morphologiques marquées. En outre, ils provoquent la déstabilisation des microtubules en inhibant l'hydrolyse du GTP.⁵⁰ La phomopsine A (Figure 23), les dolastatines, les spongistatines et les cryptophycines (Figure 28) sont les agents anticancéreux les plus étudiés se liant au « site peptidique » du domaine vinca.⁴

(i) La phomopsine A

La phomopsine A **6** (Figure 23) est un hexapeptide contenant des didéhydro- et des 3-hydroxy acides aminés. Elle se lie à l'interface interdimérique à proximité du site de liaison du GTP (Figure 24), inhibe l'hydrolyse de celui-ci et ne permet pas l'échange des nucléotides.

⁵⁰ Boukari, H., Sackett, D. L., Schuck, P., Nossal, R. J. *Biopolymers*, **2007**, *86*, 424–436

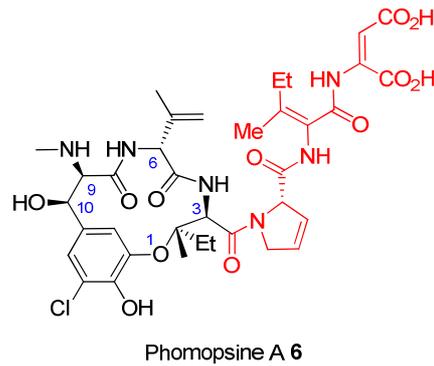


Figure 23. Phomopsine A.

La phomopsine A 6 a été le premier peptide naturel, isolé du champignon *Phomopsis leptostromiformis*, capable d'inhiber l'assemblage de la tubuline en microtubules avec une IC_{50} de l'ordre du micromolaire. Cependant, elle engendre une toxicité élevée au niveau du foie. Cette sélectivité pour les cellules hépatiques pourrait être utile dans le traitement du cancer du foie sans effets secondaires sur d'autres tissus.⁵¹ Modestement cytotoxique ($CI_{50} = 2-17\mu M$), la phomopsine A 6 cause l'arrêt mitotique avec disparition des microtubules.⁵² Comme les vinca-alcaloïdes, elle induit la formation d'agrégats de tubuline. Cependant, ces agrégats prennent une forme d'anneaux, spirales ou moulinets, morphologiquement différents des agrégats induits par les vinca-alcaloïdes.⁵³

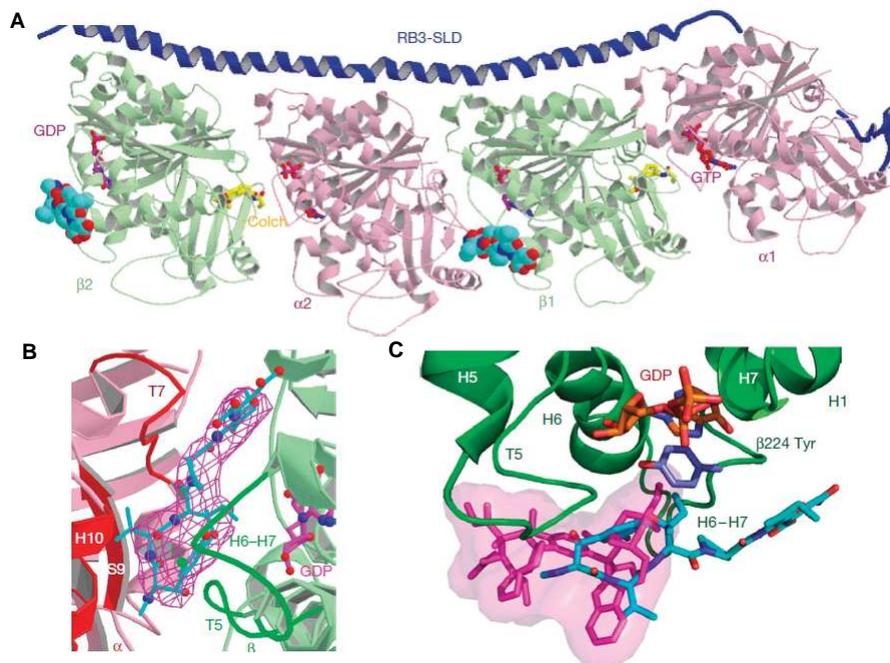


Figure 24. Site de fixation de la phomopsine A.⁵⁴ **A.** Comme la vinblastine, la phomopsine A (cyan) se lie à l'interface interdimérique à proximité du site de liaison du GTP **B.** Site de fixation détaillé **C.** Superposition de la vinblastine (magenta) et de la phomopsine A (cyan) dans leur site de fixation

⁵¹ Edgar, J. A., WO/0122986 A1

⁵² Bai, R., Pettit, G. R., Hamel, E. *Biochem. Pharmacol.*, **1990**, *39*, 1941-1949

⁵³ Hamel, E. *Med. Res. Rev.*, **1996**, *16*, 207-231

⁵⁴ Cormier, A., Marchand, M., Ravelli, R. B. G., Knossow, M., Gigant, B. *EMBO reports*, **2008**, *9*, 1101-1106

Sa structure et la stéréochimie de ses centres asymétriques ont été confirmées par cristallographie, montrant que les acides aminés forment un macrocycle de treize chaînons fermé par une liaison éther. En position C-3 (Figure 23), la phomopsine possède une chaîne de trois acides aminés : la 3,4-didéhydroproline, la 2,3-didéhydroleucine et l'acide 2,3-didéhydroaspartique.⁵⁵

Malgré sa faible cytotoxicité, la phomopsine A et notamment son macrocycle ont fait l'objet de plusieurs synthèses totales.⁵⁶ Certaines synthèses (Figure 25) développent des méthodes de construction du pont aryle-alkyle éther tertiaire chiral,^{56a-c} d'autres ont pour but de contrôler la stéréochimie en C-9 et C-10.^{56e} Les trois acides aminés de la chaîne latérale ont également été synthétisés par différentes méthodes,⁵⁷ dont une approche convergente très élégante.^{57a}

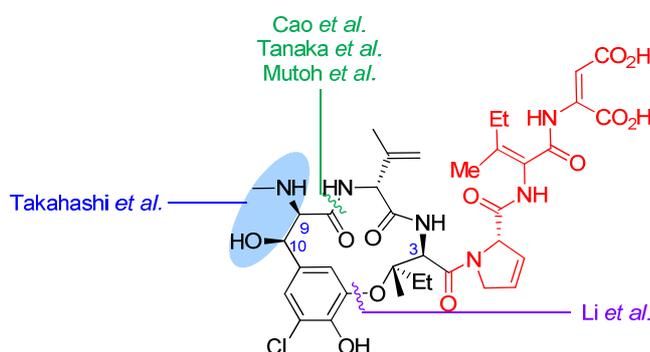


Figure 25. Différents approches pour la synthèse totale du macrocycle à 13 chaînons.

Plusieurs analogues simplifiés (Figure 26) ont été préparés afin d'établir des relations structure-activité.⁵⁸ Il s'est avéré que l'analogue complètement réduit **19** induit une activité biologique identique à celle de la phomopsine A **6**.⁵⁹ Les analogues **20** modifiés au niveau du macrocycle de la phomopsine A **6** synthétisés par Morisaki *et al.* ont montré qu'un groupement hydroxyle à la place de l'halogène est un atout pour l'activité, que la stéréochimie en C-9 et C-10 n'est pas importante et que l'alkyle en C-6 peut être simplifié.⁶⁰

⁵⁵ Mackay, M. F., Van Donkelaar, A., Culvenor, C. J. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1986**, 1219-1221

⁵⁶ (a) Cao, B., Oark, H., Jouillié, M. M. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 520-521 (b) Nakata, H., Sawayama, A. M., Wandless, T. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 6864-6865 (c) Mutoh, R., Shirai, R., Koiso, Y., Iwasaki, S. *Heterocycles*, **1995**, *41*, 9-12 (d) Li, P., Evans, C. D., Forbeck, E. M., Park, H., Bai, R., Hamel, E., Jouillié, M. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 4804-4807 (e) Takahashi, M., Shirai, R., Koiso, Y., Iwasaki, S. *Heterocycles*, **1998**, *47*, 163-166

⁵⁷ (a) Stohlmeyer, M. M., Tanaka, H., Wandless, T. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 6100-6101 (b) Shangguan, N., Jouillié, M. *Tetrahedron, Lett.*, **2009**, *50*, 6748-6750

⁵⁸ Laïb, T., Zhu, J. *Synlett*, **2000**, 1363-1365

⁵⁹ Lacey, E., Edgar, J. A., Culvenor, C. C. J. *Biochem. Pharmacol.*, **1987**, *36*, 2133-2138

⁶⁰ Morisaki, N., Mitsui, Y., Yamashita, Y., Koiso, Y., Shirai, R., Hashimoto, Y., Iwasaki, S. *J. Antibiotics*, **1998**, *51*, 423-427.

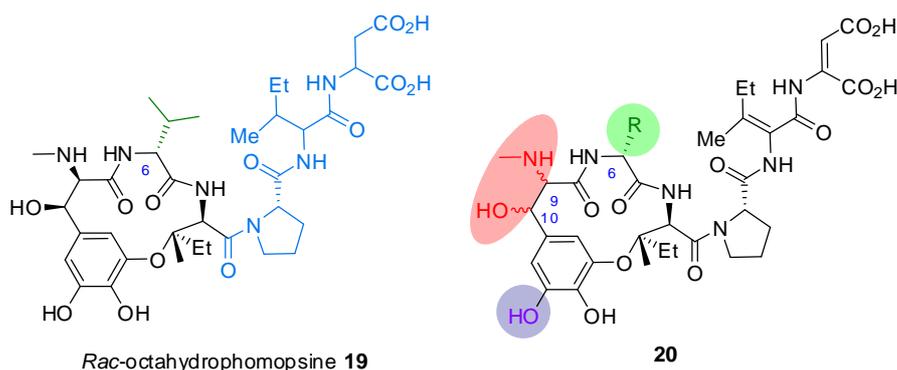


Figure 26. Schéma récapitulatif des modifications réalisées.

(ii) Les dolastines

Les dolastines sont des dérivés d'un pseudo-peptide qui contient quatre acides aminés inhabituels. Le chef de file, la dolastine, a été isolée du mollusque *Dolabella auricularia*. Plusieurs analogues ont été développés au cours du temps. Parmi ces agents, la soblidotine **21** (Figure 27, phase I d'essais cliniques),^{6c} la romidepsine (autorisé depuis 2009 et commercialisé sous le nom d'Istodax® par Celgene)⁶¹ et le brentuximab vedotine (un agent couplé à un anticorps pour le vectoriser au niveau des cellules cancéreuses malignes, en Phase III d'essai clinique ciblant la maladie d'Hodgkin)^{6c} sont les composés les plus prometteurs.

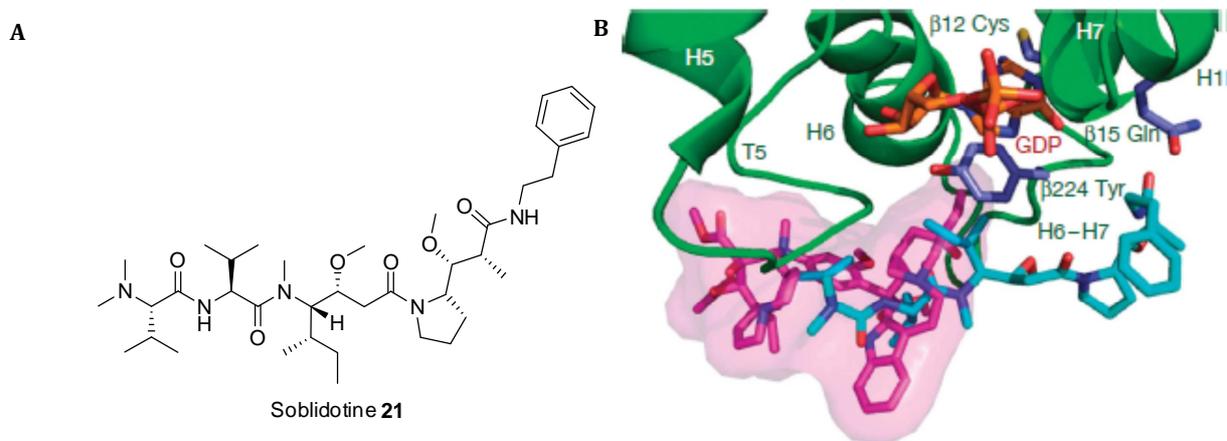


Figure 27. La soblidotine.⁵⁴ A. Structure de la soblidotine B. Superposition de la vinblastine (magenta) et de la soblidotine (cyan) dans leur site de fixation.

(iii) Le spongistatines

Les spongistatines sont une série de lactones polyéthers cytotoxiques, induisant l'arrêt mitotique et inhibant la fixation de la vinblastine et de la dolastine sur la tubuline. Contrairement à d'autres agents se liant dans le domaine vinca, les spongistatines ne permettent pas la formation

⁶¹ <http://www.drugs.com/history/istodax.html> consulté le 14/06/2013

d'agrégats.⁵³ Plusieurs spongistatines sont aujourd'hui connues, dont la spongistatine-1 **22**,⁶² qui inhibe l'échange GDP/GTP, mais aucune d'entre elles n'est encore en phase d'essais cliniques.

(iv) Les cryptophycines

Les cryptophycines présentent de fortes propriétés déstabilisatrices de microtubules, en bloquant l'hydrolyse du GTP. De plus, ces agents produits par une cyanobactérie, ne sont pas des substrats de la pompe à efflux P-gp, ce qui réduit les phénomènes de résistance. A des concentrations faibles, les cryptophycines sont connues pour supprimer la dynamique des microtubules. A des concentrations fortes, elles causent la formation d'anneaux de tubuline.⁶³

Plusieurs cryptophycines ont été développées,⁶⁴ comme la cryptophycine-1, cryptophycine-24 et la cryptophycine-52 **23**, qui est passée en phase II d'études cliniques, mais a été arrêtée à cause d'une forte neurotoxicité.⁶⁵ Compte tenu de leur forte activité, des études visant à élaborer des analogues moins toxiques sont toujours en cours.

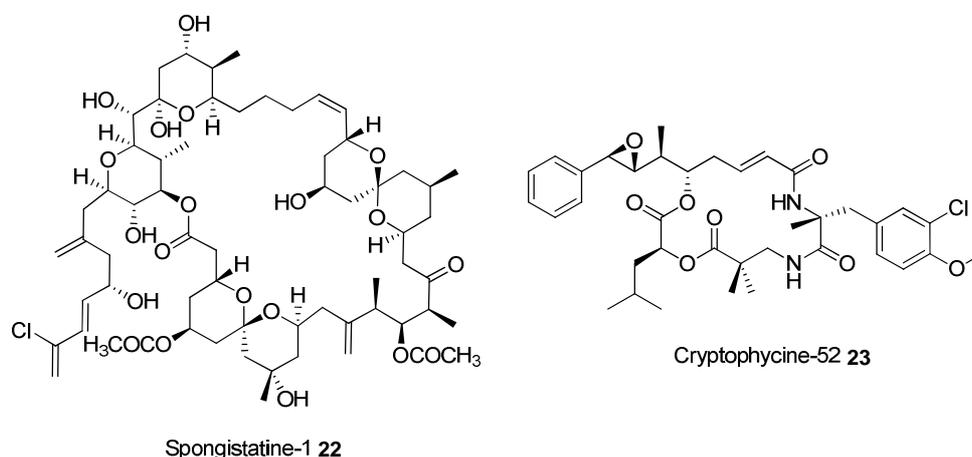


Figure 28. Autres agents se liant dans le site « peptidique » du domaine vinca.

(C) Autres agents

Plusieurs autres composés (Figure 29) ayant des propriétés originales ont été évalués en clinique. Par exemple, la cevipabuline **24** semble se lier au domaine vinca, mais favorise l'assemblage de la tubuline en microtubules.⁶⁶ La caulerpenyne **25** est un agent dont le site de fixation n'a pas encore été déterminé, mais comme les vinca-alcaloïdes, à des concentrations importantes, elle induit la formation d'agrégats de tubuline.³¹

⁶² Bai, R., Taylor, G. F., Cichacz, Z.A., Herald, C. L., Kepler, J. A., Pettit, G. R., Hamel, E. *Biochemistry*, **1995**, *34*, 9714-9721

⁶³ Watts, N. R., Cheng, N., West, W., Steven, A. C., Sackett, D. L. *Biochemistry*, **2002**, *41*, 12662-12669

⁶⁴ Eissler, S., Bogner, T., Nahrwold, M., Sewald, N. *Chemistry*, **2009**, *15*, 11273-11287

⁶⁵ Edelman, M. J., Gandara, D. R., Hausner, P., Israel, V., Thornton, D., DeSanto, J., Doyle, L. A. *Lung Cancer*, **2003**, *39*, 197-199

⁶⁶ Ayral-Kaloustian, S., Zhang, N., Beyer, C. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* **2009**, *31*, 443-447

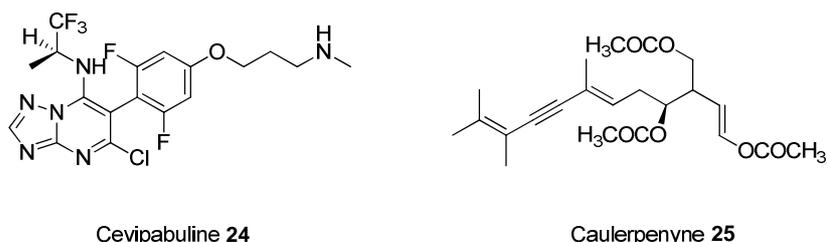


Figure 29. Autres agents ciblant le système tubuline-microtubules.

C. AUTRES PHENOMENES LIES AUX COMPOSES CIBLANT LES MICROTUBULES

A) EFFETS ANTIVASCULAIRES

Il a été montré que plusieurs composés ciblant les microtubules, comme les combrétastatines,⁶⁷ ont la capacité d'arrêter la vascularisation tumorale, soit en inhibant l'angiogenèse (*ie* formation de nouveaux vaisseaux sanguins),⁶⁸ soit en détruisant spécifiquement les vaisseaux sanguins tumoraux dont les cellules endothéliales sont différentes des cellules normales.⁶⁹

B) PHENOMENES DE RESISTANCE

Les résistances aux agents antimétaboliques sont dues à trois facteurs différents :

- ✓ un efflux cellulaire par les transporteurs transmembranaires ABC,⁷⁰ comme la glycoprotéine P (P-gp),^{6c} qui favorisent l'élimination des vinca-alcaloïdes et des taxanes réduisant ainsi leur concentration intracellulaire ;
- ✓ des modifications qualitatives et quantitatives des microtubules, qui deviennent moins sensibles aux principes actifs incapables de se fixer à la tubuline ;^{23a, 71}
- ✓ un défaut de la cascade apoptotique.⁷²

⁶⁷ (a) Tozer, G. M., Prise, V.E., Wilson, J., Cemazar, M., Shan, S., Dewhirst, M.W., Barber, P.R., Vojnovic, B., Chaplin, D.J. *Cancer Res.*, **2001**, *61*, 6413-6422 (b) Hori, K., Saito, S., Kubota, K. *Br. J. Cancer*, **2002**, *86*, 1604-1614 (c) Galbraith, S. M., Maxwell, R. J., Lodge, M. A., Tozer, G. M., Wilson, J., Taylor, N. J., Stirling, J. J., Sena, L., Padhani, A. R., Rustin, G. J. S. *J. Clin. Oncol.*, **2003**, *21*, 2831-2842

⁶⁸ Schwartz, E. L. *Clin. Cancer Res.*, **2009**, *15*, 2594-2601

⁶⁹ (a) Abdollahi, A., Folkman, J. *Drug Resist. Update*, **2010**, *13*, 16-28 (b) Lippert, J. W. *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 605-615 (c) Tozer, G. M., Kanthou, C., Baguley, B. C. *Nature Rev. Cancer*, **2005**, *5*, 423-435

⁷⁰ (a) Pluchino K. M., Hall, M. D. Goldsborough, A. S. Callaghanb, R. Gottesman, M.M. *Drug Resist. Update*, **2012**, *15*, 98-105 (b) Fojo, A. T., Menefee, M. *Semin. Oncol.*, **2005**, *32*, S3-S8

⁷¹ Don, S., Verrills, N. M., Liaw, T. Y. E., Liu, M. L. M., Norris, M. D., Haber, M., Kavallaris, M. *Mol. Cancer, Ther.*, **2004**, *3*, 1137-1146

⁷² Shoemaker, A. R., Oleksijew, A., Bauch, J., Belli, B. A., Borre, T., Bruncko, M., Deckwirth, T., Frost, D. J., Jarvis, K., Joseph, M. K., Marsh, K., McClellan, W., Nellans, H. Ng, S., Nimmer, P., O'Connor, J. M., Oltersdorf, T., Qing,

C) LA TOXICITE

La limitation principale de l'utilisation des agents ciblant les microtubules est le taux élevé de neuropathies qu'ils induisent. Les causes de cette neurotoxicité sont mal comprises, bien qu'elles puissent être partiellement expliquées par l'abondance de tubuline dans les neurones et par l'importance du rôle du cytosquelette dans la conduction du signal nerveux.⁷³ Cependant, certains agents, comme l'éribuline⁷⁴ et l'indibuline⁷⁵ ne causent que des effets neurotoxiques limités.

La toxicité myéloïde due à l'inhibition de la prolifération des cellules de la moelle osseuse⁷ est également souvent observée. En particulier, la neutropénie (quantité réduite des granulocytes dans le sang) est l'un des facteurs limitant la dose d'administration de ces antimitotiques.

D'autres effets indésirables (l'immunosuppression, la myélosuppression ou des troubles gastro-intestinales) sont très souvent décrits. Une question intrigante concerne les éventuelles propriétés mutagènes des composés antimitotiques et le risque qu'ils puissent augmenter le taux de tumeurs secondaires. Cependant, il reste difficile de déterminer si ces agents sont potentiellement cancérigènes en soi.⁷⁶

D. AMELIORATION DE L'EFFICACITE DES AGENTS CIBLANT LES MICROTUBULES

Le fait que les agents antimitotiques se lient à différents endroits au niveau du système tubuline-microtubule permet de les utiliser en thérapie combinatoire pour améliorer leur efficacité et réduire les effets secondaires. La découverte d'un effet synergique entre le paclitaxel et le discodermolide est particulièrement intéressante, puisque ces composés se lient à un site de fixation partiellement commun.⁷⁷ La combinaison de plusieurs agents antimitotiques ayant un mécanisme d'action similaire est une source encore mal exploitée en chimiothérapie anticancéreuse. La très grande diversité des composés interagissant avec les microtubules est également une source d'inspiration pour la conception de futurs agents anticancéreux.

W., Shen, W., Stavropoulos, J., Tahir, S. K., Wang, B., Warner, R., Zhang, H., Fesik, S. W., Rosenberg, S. H., Elmore, S. E. *Cancer Res.*, **2006**, *66*, 8731-8739

⁷³ Canta, C., Chirazzi, A., Cavaletti, G. *Curr. Med. Chem.*, **2009**, *16*, 1315-1324

⁷⁴ Wozniak, K. M. *et al. Proc. Annu. Meet. Am. Assoc. Cancer Res. Abstr.*, **2010**, 4438

⁷⁵ Wienecke, A., Bacher, G. *Cancer Res.*, **2009**, *69*, 171-177

⁷⁶ Rao, V. K., Knutsen, T., Ried, T., Wangsa, D., Flynn, B. M., Langham, G., Egorin, M. J., Cole, D., Balis, F., Steinberg, S. M., Bates, S., Fojo, T. *Mutat. Res.*, **2005**, *583*, 105-119

⁷⁷ Honore, S., Kamath, K., Braguer, D., Horwitz, S. B., Wilson, L., Briand, C., Jordan, M. A., *Cancer Res.* **2004**, *64*, 4957-4964

II. LES VINCA-ALCALOÏDES

Les vinca-alcaloïdes sont une classe importante d'agents anticancéreux. Ils représentent la plus ancienne famille et, à ce jour la plus diversifiée (en termes de nombre de composés autorisés dans une famille donnée) d'agents ciblant les microtubules.

Ce chapitre regroupe quelques informations importantes sur les vinca-alcaloïdes depuis leur découverte jusqu'au développement clinique. Une attention particulière sera portée aux études de structure-activité et à aux molécules hybrides contenant des vinca-alcaloïdes.

A. GENERALITES

Les premiers vinca-alcaloïdes, la vinblastine **1** et la vincristine **2**, ont été isolés à partir des feuilles de la pervenche de Madagascar *Catharantus roseus* (L.) G. Don (appelée initialement *Vinca rosea* L.). Les feuilles de la pervenche étaient utilisées pour leurs propriétés antidiabétiques dans la médecine traditionnelle depuis le XVII^{ème} siècle. Leur potentiel antitumoral n'a été mis en évidence qu'à la fin des années 50, par deux équipes : l'équipe de Noble à l'Université d'Ontario d'Ouest⁷⁸ et l'équipe de Svoboda et Johnson des laboratoires Eli Lilly.⁷⁹

Depuis leurs premiers essais en clinique dans les années 60, la vinblastine **1** et la vincristine **2** (Figure 30) ont été largement utilisées en chimiothérapie anticancéreuse.⁸⁰ Ils ont été longtemps considérés comme des «médicaments miracles» en raison de leur succès dans le traitement de la leucémie infantile.

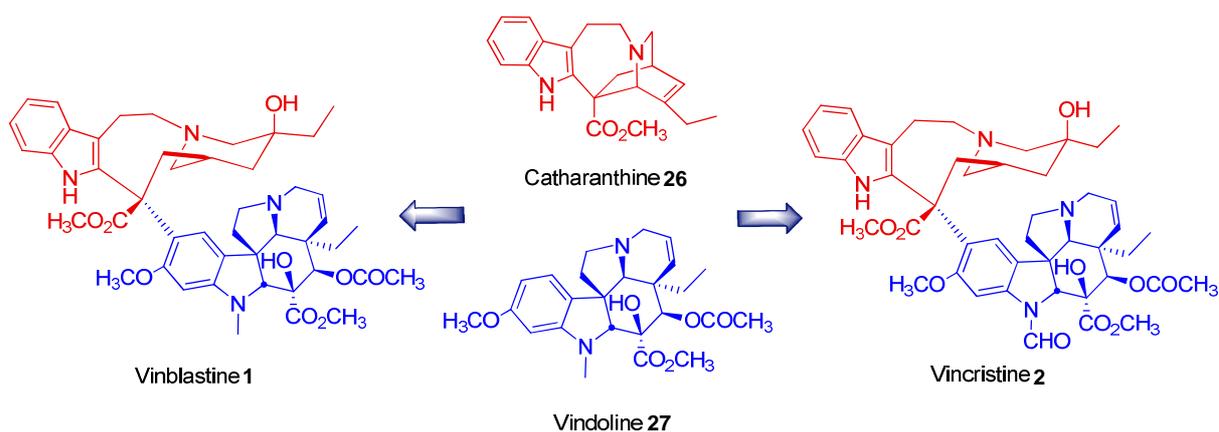


Figure 30. Les vinca-alcaloïdes naturels.

⁷⁸ Noble, R. L., Beer, C. T., Cutts, J. H. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1958**, 76, 882-894

⁷⁹ Johnson, I. S., Wright, H. F., Svoboda, G. H. *J. Lab. Clin. Med.*, **1959**, 54, 830-838

⁸⁰ Roussi, F., Guéritte, F., Fahy, J. *The Vinca Alkaloids in Anticancer Agents from Natural Products*, Eds; Taylor and Francis, **2012**

Une centaine d'alcaloïdes a pu être isolée de *C. roseus* et leur structure a été élucidée. Ce sont, la plupart de temps, des dimères, provenant de la condensation de deux monomères inactifs : la catharanthine **26** et la vindoline **27** (Figure 30, Figure 31).

Des études de structure-activité ont montré que même des petites modifications au niveau du squelette complexe des vinca-alcaloïdes actifs peuvent engendrer des différences notables des propriétés antitumorales et de la toxicité.

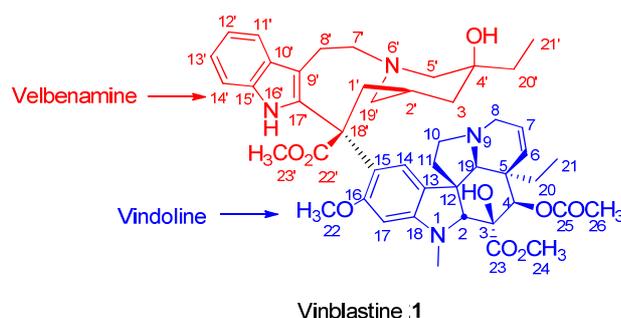


Figure 31. La vinblastine et ses deux motifs. Le motif indolique - velbenamine (en rouge) et le motif dihydroindolique - vindoline (en bleu). La numérotation selon IUPAC sera utilisée tout au long de ce manuscrit.

B. LA SYNTHÈSE : UN DÉFI POUR LES CHIMISTES

Une limitation importante à l'utilisation des produits naturels en tant que médicaments est leur disponibilité. La vinblastine et la vincristine sont isolées à partir des feuilles de *C. roseus* avec des rendements modestes. Pour des applications thérapeutiques, elles sont produites à grande échelle par hémisynthèse, même si, par défis scientifique, plusieurs équipes se sont intéressées à leur synthèse totale. L'élaboration des vinca-alcaloïdes par des moyens biotechnologiques est également à l'étude, mais reste encore très complexe.

1. HEMISYNTHESE

Une des difficultés principales de la synthèse des vinca-alcaloïdes bisindoliques est de générer la stéréochimie relative naturelle entre les carbones C-18' et C-2' de la partie velbenamine ainsi que la stéréochimie absolue *S* en C-18', indispensable pour l'activité biologique.⁸¹

La stratégie biomimétique de condensation de la catharanthine **26** et de la vindoline **27**, les deux précurseurs monomériques isolés en plus grande quantité que les dimères, a permis d'obtenir les vinca-alcaloïdes à grande échelle (Figure 32).

⁸¹ (a) Potier, P., Langlois, N., Langlois, Y., Guéritte, F. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1975**, 670-671 (b) Zavala, F., Guénard, D., Potier, P. *Experientia* **1978**, *34*, 1479-1480 (c) Kutney, J. P., Beck, J., Bylsma, F., Cretney, W. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, *90*, 4504-4505

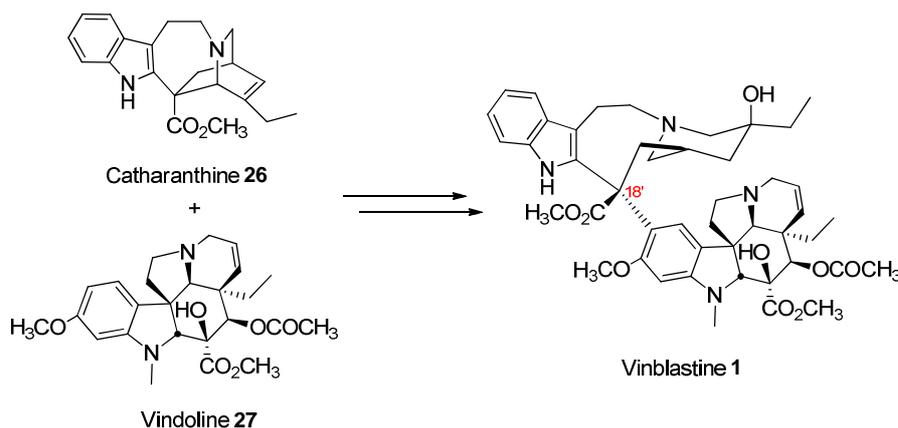


Figure 32. Hypothèse biogénétique pour obtenir la vinblastine.

Après de nombreux essais, les chimistes ont réussi à « mimer » la nature. La première hémisynthèse d'un vinca-alcaloïde de configuration absolue (*S*) en C-18' a été décrite par l'équipe de Potier (Schéma 1). Le traitement de la vindoline **27** et du N-oxyde de catharanthine **28** avec de l'anhydride trifluoroacétique, suivi d'une réduction par le NaBH₄, permet d'accéder à l'anhydrovinblastine **32** avec un rendement de 50% *via* une réaction de Polonovski-Potier. Lors de ce réarrangement, l'ammonium quaternaire **29** subit une fragmentation au niveau de la liaison C-18'-C-5' pour conduire à l'intermédiaire **30** sur lequel la vindoline **27** vient s'additionner.

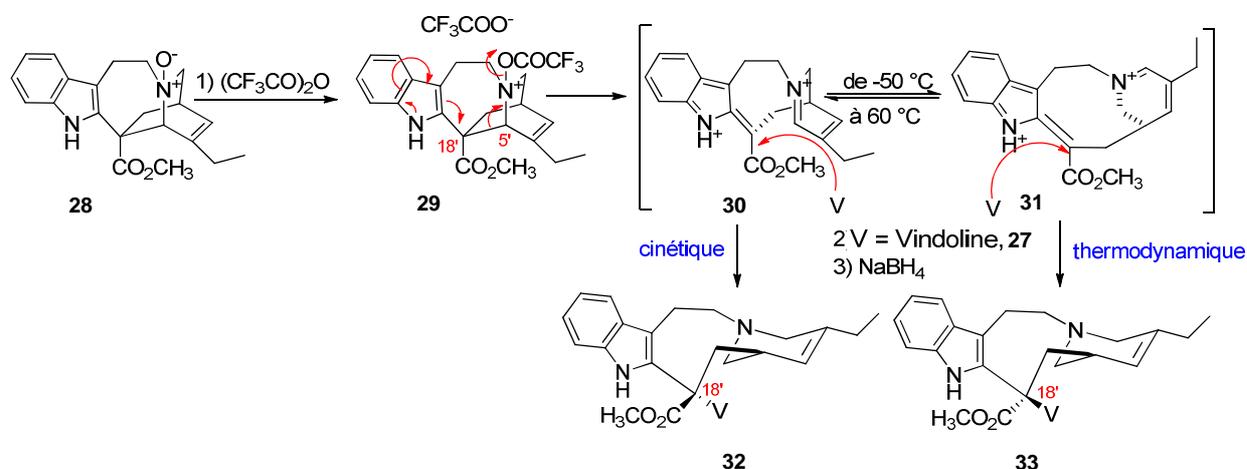


Schéma 1. Synthèse de l'anhydrovinblastine selon la méthode de Potier *et al.*

Notons que la configuration du centre nouvellement créé en C-18' dépend de la température de la réaction. A très basse température (-50 °C), la formation de l'anhydrovinblastine **32** de configuration 18'-(*S*) est favorisée, tandis qu'à plus haute température, l'isomère 18'-(*R*) **33** est formé majoritairement.

L'hémisynthèse de l'anhydrovinblastine **32** à partir de la catharanthine **26** et de la vindoline **27** a été également réalisée en milieu aqueux acide en présence de Fe(III).⁸² Ce couplage (Schéma 2)

⁸² Vukovic, J., Goodbody, A. E., Kutney, J. P., Misawa, M. *Tetrahedron*, **1988**, *44*, 325-331

est stéréosélectif et l'isomère 18'-(*S*) est obtenu avec un rendement de 77%. Le même couplage peut être réalisé par catalyse enzymatique, en utilisant des oxydoréductases laccases, mais les rendements obtenus sont plus faibles.⁸³

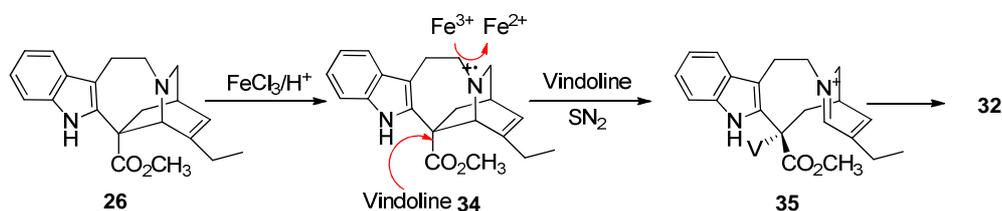


Schéma 2. Synthèse de l'anhydrovinblastine selon la méthode de Vukovic *et al.*

L'isolement de l'anhydrovinblastine **32** dans *C. roseus* par Scott *et al.* a permis de valider l'hypothèse biogénétique avancée par Potier *et coll.*⁸⁴ Ainsi, l'anhydrovinblastine **32** est considérée un précurseur clé dans la synthèse des vinca-alcaloïdes bisindoliques.

Pour passer de l'anhydrovinblastine **32** à la vinblastine **1**, plusieurs étapes sont nécessaires. Une première possibilité (Schéma 3) consiste à, tout d'abord, obtenir la 4'-deoxyeuosidine **36** par hydrogénation. L'énamine **37** est le résultat de la N-oxydation suivie par la réaction de Polonovski-Potier. Un traitement par de l'acétate de thallium et l'hydrolyse de l'acétate en C-4' permet d'obtenir la vinblastine **1**.⁸⁵

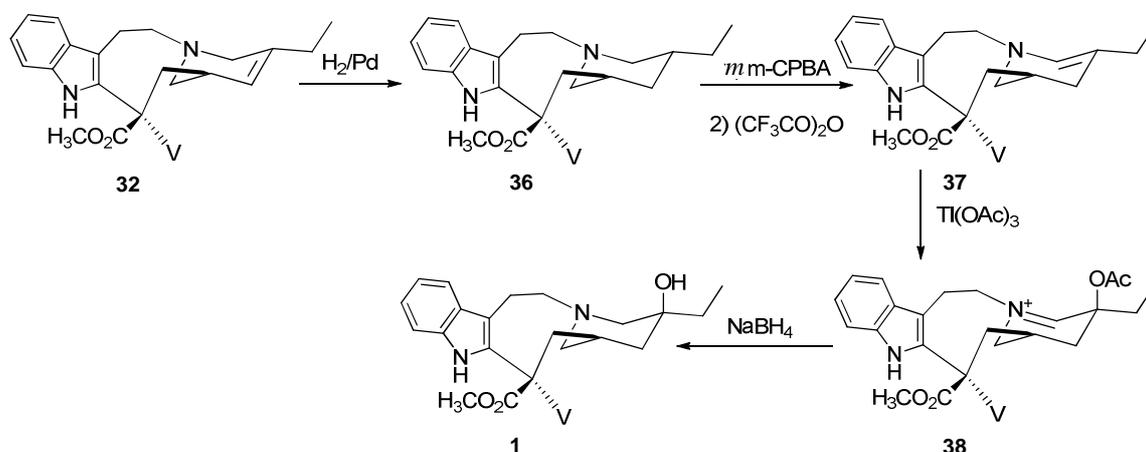


Schéma 3. Synthèse de la vinblastine à partir de l'anhydrovinblastine selon la méthode de Potier *et al.*

Une autre voie pour synthétiser la vinblastine à partir de l'anhydrovinblastine passe par l'oxydation catalysée par FeCl₃ de l'énamine **37**.⁸⁶ Cette conversion a été également effectuée en présence d'anticorps monoclonaux anti-vinblastine, NaBH₃CN et O₂.⁸⁷

⁸³ Sagui, F., Chirivi, C., Fontana, G., Nicotra, S., Passarella, D., Riva, S., Danieli, B. *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 312-317

⁸⁴ (a) Scott, A. I., Guéritte, F., Lee, S. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, *100*, 6253-6255 (b) Goodbody, A. E., Watson, C. D., Chapple, C. C. S., Vukovic, J., Misawa, M. *Phytochemistry*, **1988**, *27*, 1713-1717

⁸⁵ Mangeney, P., Andriamioliosa, Z. R., Langlois, N., Langlois, Y., Potier, P. *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, *101*, 2243

⁸⁶ Kutney, J.-P., Choi, L. S. L., Nakano, J., Tsukamoto, H., McHung, M., Boulet, C. A., *Heterocycles*, **1988**, *27*, 1845,

Plus récemment, Boger *et coll.* ont réussi à obtenir la vinblastine **1** en une seule étape à partir de la catharanthine **26** et de la vindoline **27** (Schéma 4). Pour cela, ils ont combiné une réaction de couplage en présence de FeCl₃ avec une oxydation de la double liaison C-3'-C-4' et une réduction concomitante de l'intermédiaire iminium par un système Fe₂(ox)₃-NaBH₄/air.⁸⁸

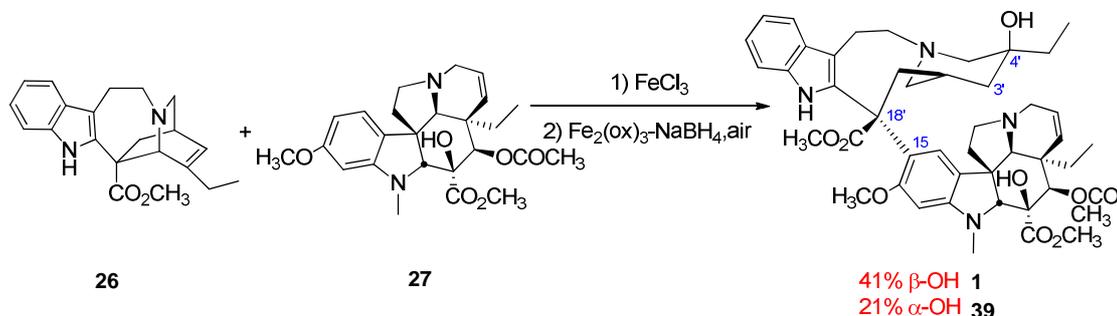


Schéma 4. Synthèse de la vinblastine en version monotopé à partir de la catharanthine et de la vindoline.

D'autres stratégies, permettant de former la liaison C-18'-C-15 avec une stéréochimie (*S*) correcte à partir de la vindoline **27** et d'intermédiaires non naturels de la velbenamine, ont été décrites dans la littérature.^{80, 88} Celles-ci ne seront pas détaillées dans ce manuscrit.

2. SYNTHÈSE TOTALE

La première synthèse totale (Schéma 5) de la vinblastine a été publiée en 2002.⁸⁹ Des produits de départ simples, comme l'acide 4-éthyl-4-penténoïque **40**, l'isocyanate **42** et la 7-mesyloxyquinoline **45**, ont été utilisés. L'ester **41** est d'abord synthétisé à partir de l'acide **40** en quatorze étapes. La chloroindolénine **43**, obtenu à partir de l'ester **41** et de l'isocyanate **42** en onze étapes, est transformée en l'intermédiaire cationique **44**, sur lequel, la vindoline **27**, synthétisée à partir de la 7-mesyloxyquinoline **45**, vient s'ajouter pour donner l'intermédiaire avancé **46** avec un contrôle total des centres asymétriques. Après déprotection du composé **46**, le cycle D' est formé pour conduire à la vinblastine **1**.

⁸⁷ Shirahama, T., Kohno, T., Kaijima, T., Nagaoka, Y., Morimoto, D., Hirata, K., Uesato, S., *Chem. Pharm. Bull.*, **2006**, *54*, 665-668

⁸⁸ Ishikawa, H., Colby, D. A., Seto, S., Va, P., Tam, A., Kakei, H., Rayl, T. J., Hwang, I., Boger, D. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 4904-4916

⁸⁹ Yokoshima, S., Ueda, T., Kobayashi, S., Sato, A., Kuboyama, T., Tokuyama, H., Fukuyama, T. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 2137-2139

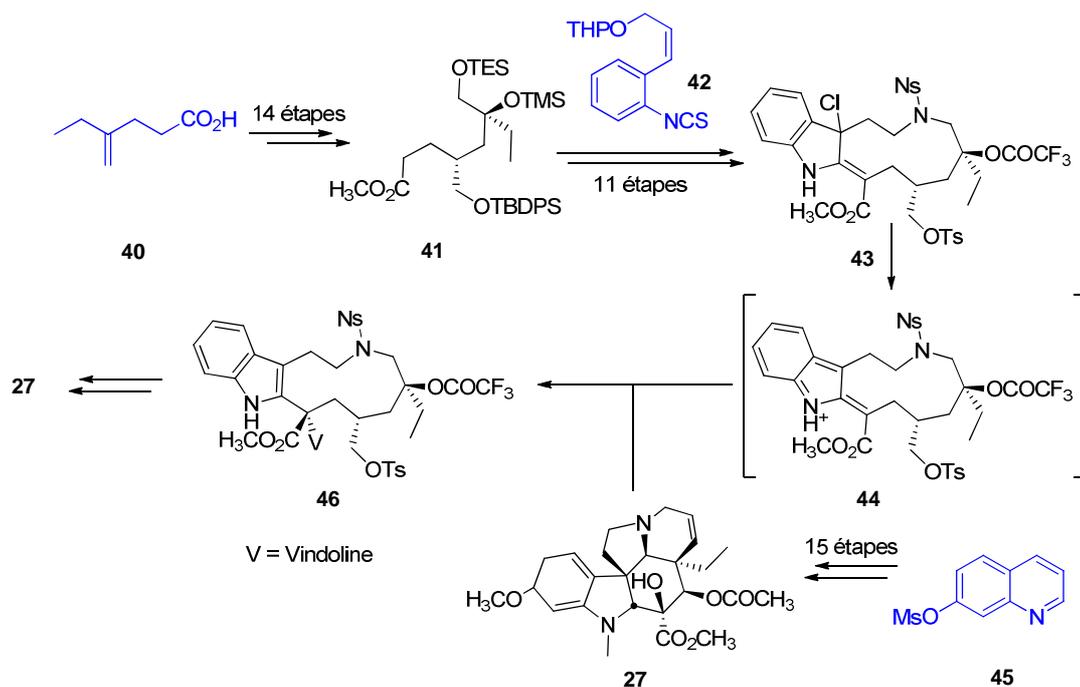


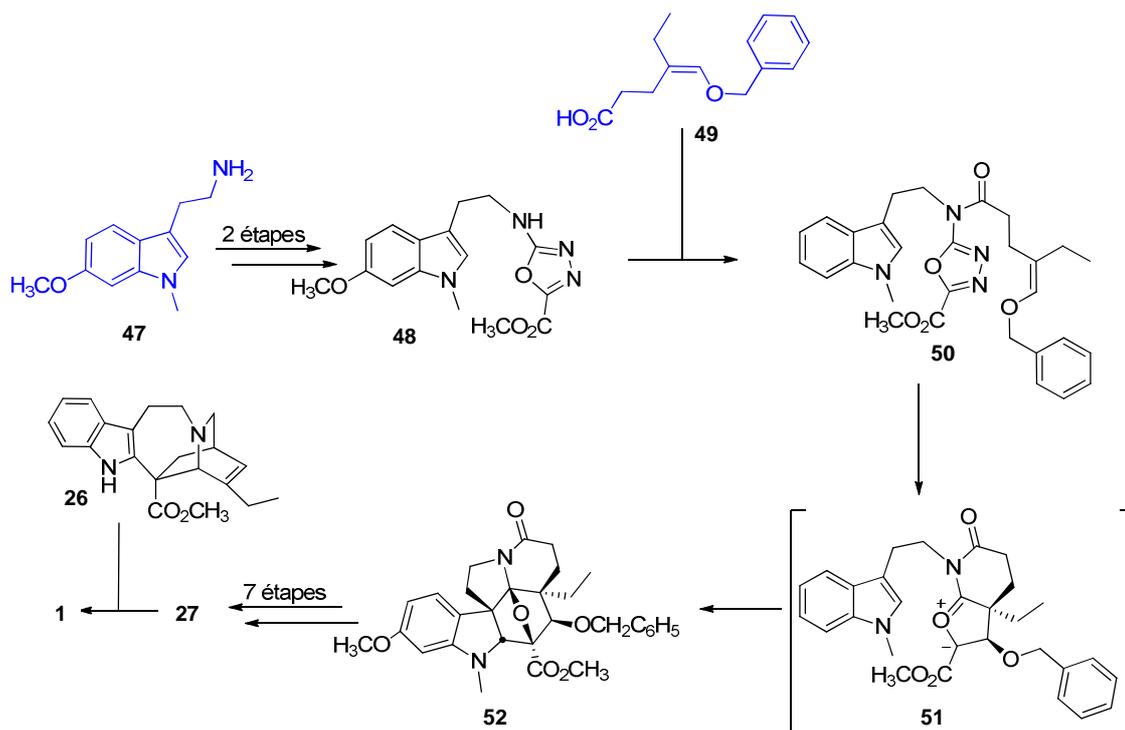
Schéma 5. Première synthèse totale de la vinblastine

Le rendement global de cette synthèse est de 1% et plus de 50 étapes sont nécessaires pour aboutir au composé désiré. Une synthèse totale améliorée a été proposée en 2007 par la même équipe, en passant par le même intermédiaire clé **44**.⁹⁰

Une autre synthèse totale convergente (Schéma 6) a été proposée par Boger *et coll.* en 2009, lorsqu'ils ont mis au point le couplage de la vindoline **27** avec la catharanthine **26** en version monotope.⁸⁸ Dans un premier temps, la synthèse totale de la vindoline en 11 étapes, à partir du N-méthyl-6-méthoxytryptamine **47** a été réalisée.⁹¹ Pour cela l'intermédiaire **48** est couplé avec le dérivé **49**, pour donner l'oxadiazole **50**. La réaction clé de cette approche est l'étape de cycloaddition tandem [4+2]/[3+2] intramoléculaire. La perte d'une molécule d'azote permet l'accès à l'intermédiaire ylure carbonylé **51**, qui subit une cycloaddition 1,3-dipolaire pour fournir le composé **52**, possédant le squelette pentacyclique de la vindoline. Quelques étapes de réduction/oxydation conduisent à la vindoline **27**. Le couplage monotope de celle-ci avec la catharanthine **26** fournit la vinblastine **1**.

⁹⁰ Miyazaki, T., Yokoshima, S., Simizu, S., Osada, H., Tokuyama, H., Fukuyama, T. *Org. Lett.*, **2007**, 9, 4737-4740

⁹¹ (a) Ishikawa, H., Elliott, G. I., Velcicky, J., Choi, Y., Boger, D. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 10596-10612 (b) Choi, Y., Ishikawa, H., Velcicky, J., Elliott, G. I., Miller, M. M., Boger, D. L. *Org. Lett.*, **2005**, 7, 4539-4542

Schéma 6. Synthèse totale de la vinblastine réalisée par Boger *et al.*

3. BIOSYNTHESE ET APPROCHES BIOTECHNOLOGIQUES

Les moyens biotechnologiques actuels permettent l'accès à un grand nombre de produits naturels. Cependant, ils ne solutionnent pas le problème de production des vinca-alcaloïdes. La biosynthèse de la vinblastine **1** et de la vincristine **2** est très complexe.⁹² En fait, à partir du tryptophane et du géraniol, au moins trente-cinq intermédiaires, trente enzymes, deux gènes régulateurs et sept compartiments inter- et intracellulaires sont nécessaires pour produire la vinblastine **1**.

C. CHIMIE MEDICINALE ET ETUDES DES RELATIONS STRUCTURE-ACTIVITE

Les vinca-alcaloïdes naturels (la vinblastine (Velbe®) **1** et la vincristine (Oncovin®) **2**) ont connu un grand succès en clinique ce qui a renforcé l'intérêt des chimistes pour ces composés. Des analogues synthétiques (Figure 33), comme la vindésine (Eldesine®) **3**, la vinorelbine (Navelbine®) **4** et, plus récemment, la vinflunine (Javlor®) **5** ont été développés grâce à des efforts synthétiques et des études de structure-activité. D'autres analogues ont été décrits dans la littérature en tant que

⁹² (a) O'Connor, S. E., *Alkaloid Biosynthesis*. in: *Encyclopedia of Chemical Biology*. WileyBlackwell, T. Begley Ed., **2008** (b) Costa, M. M. R., Hilliou, F., Duarte, P., Pereira, L. G., Almeida, I., Leech, M., Memelink, J., Ros Barceló, A., Sottomayor, M. *Plant Physiol.*, **2008**, *146*, 403-417 (c) El-Sayed, M., Verpoorte, R. *Phytochem. Rev.*, **2007**, *6*, 277-305 (d) Van der Heijden, R., Jacobs, D. I., Snoeijer, W., Hallared, D., Verpoorte, R., *Curr. Med. Chem.*, **2004**, *11*, 607-628

médicaments potentiels. Certains d'entre eux pourraient rejoindre prochainement l'arsenal thérapeutique décrit précédemment.

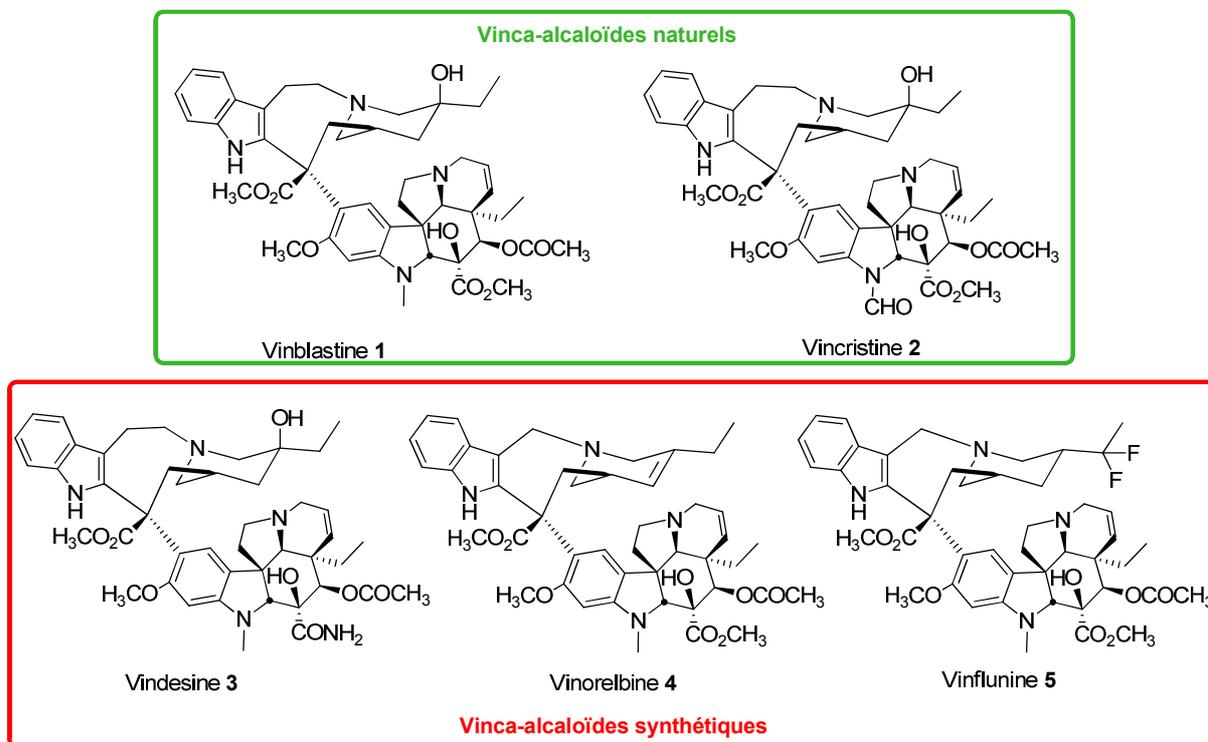


Figure 33. Vinca-alcaloïdes utilisés en clinique.

La chimie médicinale des vinca-alcaloïdes est basée principalement sur des modifications fonctionnelles des composés naturels. De nombreux composés ont ainsi été synthétisés⁹³ depuis les années 1970, permettant d'avoir une vision vaste des relations structure-activité.

Plusieurs approches ont été employées afin de synthétiser ces différents analogues. Certaines modifications ont été obtenues grâce à la fonctionnalisation de la catharanthine **26** et de la vindoline **27** avant leur couplage, d'autres ont été effectuées après.

4. MODIFICATIONS DE LA PARTIE SUD VINDOLINE

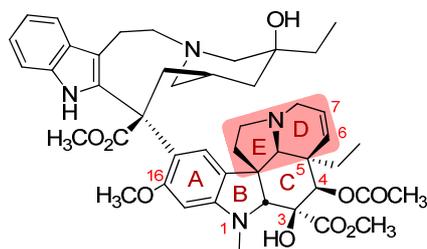
La partie sud vindoline contient des sites sensibles aux modifications chimiques, comme les positions C-1,⁹⁴ C-3⁹⁵ et C-4⁸⁰ (Figure 34). Les fonctionnalisations de ces positions créent souvent des nouvelles familles d'analogues des vinca-alcaloïdes possédant des activités biologiques

⁹³ Keglevich, P., Hazai, L., Kalaus, G., Szántay, C. *Molecules*, **2012**, *17*, 5893-5914

⁹⁴ Szantay, C., Szabo, L., Honty, K., Keve, T., Acs, T., Eckhardt, S., Sugar, J., Somafai, Z., Iva, E., Knaffel, Z. Eur. Patent No. 205,169 A2 861,217 ; *Chem. Abstr.* **1987**, *107*, 023569

⁹⁵ (a) Hu, L., Song, W., Meng, Y., Guo, D., Liu, X., Hu, L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2012**, *22*, 7547-7550 (b) Shao, Y., Zhang, H-K., Ding, H., Quan, H.-T., Lou, L.-G., Hu, L.-H. *J. Nat. Prod.*, **2009**, *72*, 1170-1177 (c) Li, W., Shao, Y., Hu, L., Zhang, X., Chen, Y., Tong, L., Li, C., Shen, X., Ding, J. *Cancer Biol. Ther.*, **2007**, *6*, 787-794

intéressantes. Les positions C-5,⁹⁶ ainsi que les cycles C et D⁹⁷ ont également fait l'objet des études structure-activité. Ces modifications ne seront pas détaillées dans ce manuscrit.



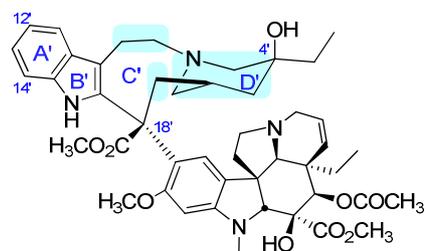
Vinblastine 1

Figure 34. Positions fonctionnalisables sur la partie vindoline

5. MODIFICATIONS DE LA PARTIE NORD VELBENAMINE

La plupart de modifications ont été réalisés sur la partie vindoline, les modifications sur la partie velbenamine étant moins triviales.⁸⁰ Toutefois, il a été montré que même un petit changement au niveau de cette partie de la molécule peut avoir un impact considérable sur l'activité biologique.⁹⁸ Sur les trois dérivés synthétiques des vinca-alcaloïdes utilisés en clinique, deux (Figure 33) ont été obtenus grâce à des modifications sur cette partie de la molécule.

Au niveau de la partie nord velbenamine, les positions C-4', C-12' et C-14' ont été largement modifiées (Figure 35). Les modifications des cycles C' et D' ont permis l'accès à la vinorelbine **4** et à la vinflunine **5**.



Vinblastine 1

Figure 35. Modifications au niveau de la partie supérieure velbenamine.

⁹⁶ Va, P., Campbell, E. L., Robertson, W. M., Boger, D. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 8489-8495

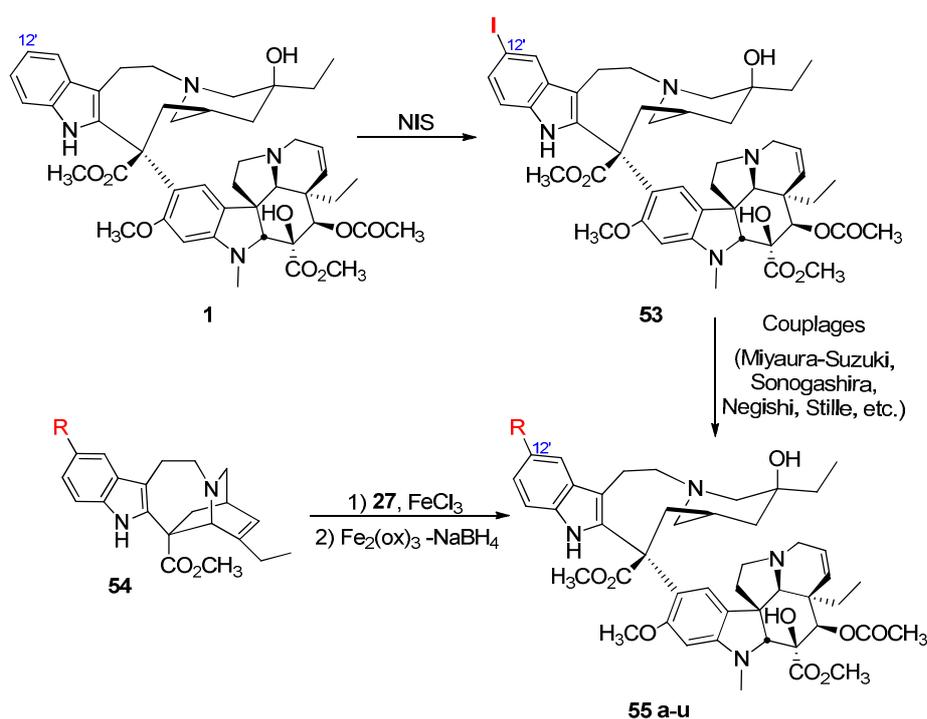
⁹⁷ Schleicher, K. D., Sasaki, Y., Tam, A., Kato, D., Duncan, K. K., Boger, D. L. *J. Med. Chem.*, **2013**, *56*, 483-495

⁹⁸ (a) Fahy, J. *Curr. Pharm. Des.*, **2001**, *7*, 1181-1197 (b) Duflos, A., Kruczynski, J.-M., Barret, A., *Curr. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents*, **2002**, *2*, 55-70

A) CYCLE A'

(1) Position C-12'

La position C-12' a été modifiée par deux voies différentes (Schéma 7). La première approche consiste à synthétiser le dérivé iodé **53**. Ce synthon permet l'accès à une grande famille de vinca-alcaloïdes fonctionnalisés par couplage pallado-catalysé. Plusieurs analogues de la vinblastine⁹⁹ **55a-p**, mais aussi de la vincristine,⁹⁹ de la vinorelbine⁹⁹ et de la vinflunine¹⁰⁰ ont été synthétisés de cette façon.



R	Cl ₅₀ MCF-7 (nM)	R	Cl ₅₀ MCF-7 (nM)	R	Cl ₅₀ HCT116 (nM)
1 H	0,4	h SCH ₃	2	1 H	6,8
a Ph	300	i SCH ₂ CH ₃	3	f CN	620
b <i>m</i> -C ₆ H ₅ F	300	j SCH ₂ CO ₂ H	200	r Br	8,6
55 c 2-thiazole	100	55 k COCH ₃	100	55 s Cl	7,6
d CH ₃	0,3	l CO ₂ CH ₃	30	t F	0,8
e CH ₂ CH ₃	0,6	m CO ₂ H	>1000	d CH ₃	7,8
f CN	3	n CO ₂ NH ₂	>1000	h SCH ₃	50
g ≡—H	5	o NH ₂	200	u OCH ₃	720
		p 1-piperidine	30		

Schéma 7. Synthèse des dérivés de la vinblastine fonctionnalisés en C-12'.

⁹⁹ Voss, M. E., Ralph, J. M., Xie, D., Manning, D. D., Chen, X., Frank, A. J., Leyhane, A. J., Liu, L., Stevens, J. M., Budde, C., Surman, M. D., Friedrich, T., Peace, D., Scott, I. L., Wolf, M., Johnson, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19*, 1245-1249

¹⁰⁰ Lei, X. S., Yu, X. D., Yin, L., Liu, Z. H., Tang, P. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, *18*, 4602-4605

L'autre approche nécessite la dérivatisation au préalable du noyau indolique de la catharanthine **26**. Les vinca-alcaloïdes substitués sont obtenus après couplage de la catharanthine fonctionnalisée **54d, f, h, r-u** avec la vindoline **27**.¹⁰¹

L'évaluation biologique des composés **55a-u** a permis d'établir que la taille du substituant en C-12' joue un rôle important. Ainsi, les groupements aryle et hétéroaryle donnent des composés moins actifs que les molécules de référence. Les vinca-alcaloïdes possédant des substituants polaires et chargés n'ont pas d'activités intéressantes. Seules les petits groupements hydrophobes non-chargés sont tolérés sur cette position. Par exemple, les composés **55d** et **55e** montrent des activités similaires à celles de la vinblastine sur les lignées MCF-7 (cellules tumorales mammaires) et HeLa (cellules du cancer du col de l'utérus) et le composé fluoré **55t** possède une activité cytotoxique environ dix fois plus importante que la vinblastine **1** sur les lignées L1210 (lymphocytes leucémiques) et HCT116 (cellules du carcinome colorectal).

Les essais biologiques réalisés *in vivo* avec le dérivé **55h** ont donné des résultats encourageants. Ce composé a montré une activité antitumorale supérieure à celle de la vinorelbine **4** dans le modèle de leucémie murine P388. Il est entré en étude de phase clinique I sous le nom d'ALB-109564 en août 2008, pour les traitements de tumeurs solides avancées.¹⁰² En 2013, la licence de ce composé a été cédée à Chaï Therapeutics.¹⁰³

(2) Position C-14'

La position C-14' a été également substituée par dérivatisation de la catharanthine avant couplage. Cependant tous les composés obtenus **56a-d** ont montré des activités inférieures à celles de la vinblastine **1** (Figure 36). Les auteurs expliquent cela par un encombrement stérique défavorable à l'interaction avec la tubuline, ce qui n'est pas tout à fait cohérent dans le cas du dérivé fluoré **56d**.¹⁰¹

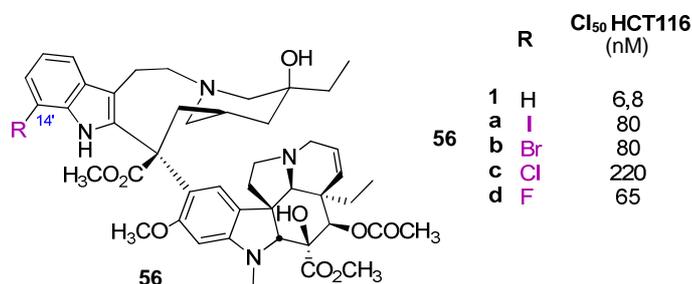


Figure 36. Dérivés de la vinblastine fonctionnalisés en C-14'.

¹⁰¹ Gotoh, H., Duncan, K. K., Roberston, W. M., Boger, D. L., *ACS Med. Chem.*, **2011**, 2, 948-952

¹⁰² Wolf, M. A., Johnson, R. K., Xie, D., Avrutsakaya, A., Mullin, R., Godfrey, B., Mead, M. A., Trachet, E. E., Leopold, W. R., Guzzo, P., Scott, I. *Mol. Cancer Ther.* **2009**, 8 (12 Suppl), C232

¹⁰³ http://www.amriglobal.com/news_and_publications/news_detail.cfm?ID=251 consulté le 17/06/2013

B) CYCLE C'

(1) Cycle C' raccourcis

Une des avancées majeures dans le domaine des vinca-alcaloïdes a été la synthèse de l'anhydrovinblastine **32** à partir de la catharanthine **26** et de la vindoline **27** dans les années 70. Cela a facilité l'accès à des analogues possédant des propriétés cytotoxiques intéressantes. Ainsi, la transformation du motif tryptamine de l'anhydrovinblastine **32** en motif gramine, possédant un cycle C' raccourci d'un atome de carbone, a permis la préparation de la vinorelbine **4**.

La première synthèse de la vinorelbine **4** passe par une réaction de Polonovski-Potier suivie d'une hydrolyse des sels de bis-iminium **58** ainsi formés.¹⁰⁴ Cette stratégie a ensuite été améliorée en passant par l'intermédiaire chloro- ou bromoindolénine **57** (Schéma 8).¹⁰⁵

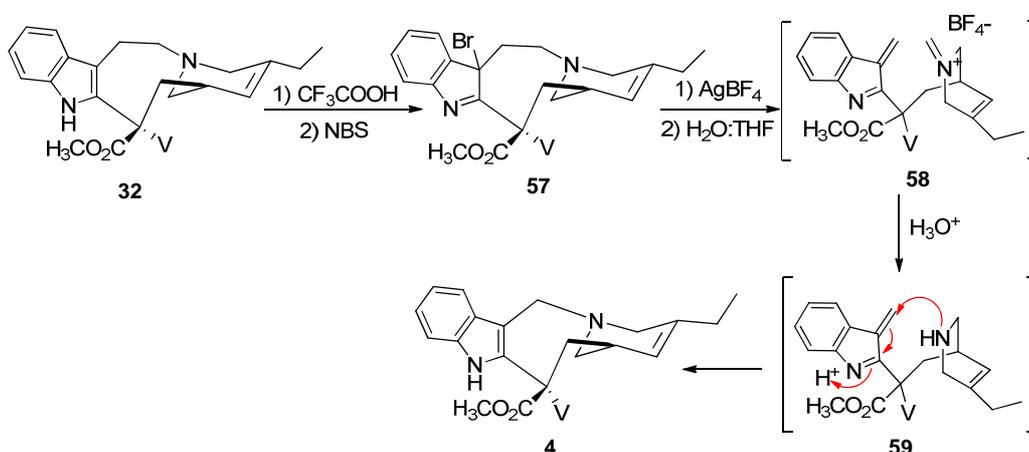


Schéma 8. Synthèse améliorée de la vinorelbine et transformation en vinflunine.

Ce composé possède une très bonne activité antitumorale et induit peu d'effets secondaires. Il a été développé et commercialisé dans les années 80 par les laboratoires Pierre Fabre sous le nom de Navelbine® pour le traitement du cancer du poumon et cancer du sein.¹⁰⁶

(2) Cycle C' ouvert

A partir de la vinorelbine **4**, une série d'analogues « gramine » ouverts **60** a été synthétisée en se basant sur l'hypothèse que le pont gramine subissait une attaque nucléophile d'un résidu d'acide aminé lors de l'interaction avec la tubuline (Schéma 9). Malheureusement, cette hypothèse

¹⁰⁴ Mangeney, P., Andriamioliosa, Z. R., Langlois, N., Langlois, Y., Potier, P. *Tetrahedron*, **1979**, *35*, 2175-2179

¹⁰⁵ Guéritte, F., Pouilhes, A., Mangeney, P., Andriamialisoa, R. Z., Langlois, N., Langlois, Y., Potier, P. *Eur. J. Med. Chem.*, **1983**, *18*, 419-424

¹⁰⁶ (a) Fumoleau, P., Delgado, F. M., Delozier, T., Monnier, A., Gil Delgado, M. A., Kerbrat, P., Garcia-Giralt, E., Keiling, R., Namer, M., Closon, M. T. *J. Clin. Oncol.*, **1993**, *11*, 1245-1252 (b) Gregory, R.K, Smith, I. E., *Br. J. Cancer*, **2000**, *82*, 1907-1913

n'a pas pu être confirmée et les analogues « ouverts » ne possèdent aucune activité intéressante.⁹⁸

107

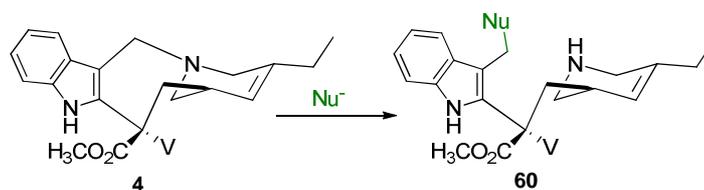


Schéma 9. Ouverture du cycle C' à partir de la vinorelbine 4

(3) Cycle C' élargi

Le cycle C' a été également agrandi en position C-7' et C-18' par Kuehne *et al.* (Figure 37), afin d'étudier les différents atropisomères de la vinblastine **1**.

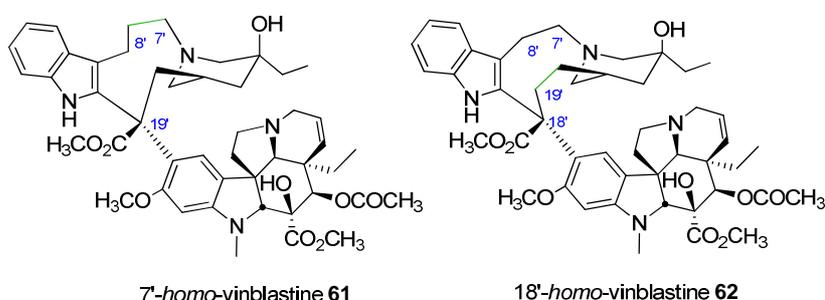


Figure 37. Analogues avec un cycle C' modifié.

En effet, lorsque Kuehne *et al.* ont proposé une synthèse de la vinblastine **1**,¹⁰⁸ ils ont mentionné la possibilité de former et d'isoler l'atropisomère **63**. La particularité de cet isomère inactif est que son cycle piperidine D' est dans une conformation chaise inversée par rapport à l'atropisomère naturel **1** (Schéma 10). A haute température, le composé **63** peut se transformer en vinblastine **1**, ainsi il peut être considéré comme une prodrogue non-toxique, capable d'être activée thermiquement. Cependant, la barrière thermique à franchir pour inverser la conformation du cycle D' (100 °C) est trop haute pour envisager une application *in vivo*. Afin de diminuer cette barrière thermique, la 7'-homo-vinblastine **61** et la 18'-homo-vinblastine **62** ont été élaborées par synthèse totale. Toutefois, contrairement à la vinblastine **1**, aucun atropisomère n'a pu être isolé.

¹⁰⁷ Guéritte, F., Pouilhes, A., Mangeney, P., Andriamialisoa, R. Z., Langlois, N., Langlois, Y., Potier, P. *Eur. J. Med. Chem.*, **1983**, *18*, 419

¹⁰⁸ Kuehne, M. E., Matson, P. A., Bornmann, W. G. *J. Org. Chem.*, **1991**, *56*, 513-528

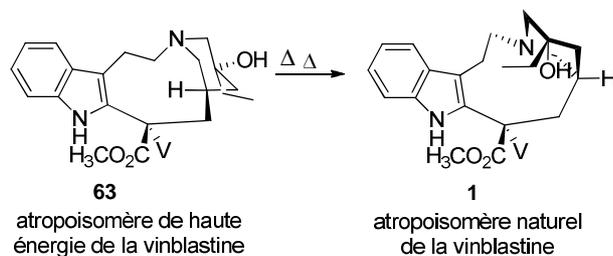


Schéma 10. Atropisomères de la vinblastine.

En même temps, l'analogue 7'-*homo*-vinblastine **61** inhibe l'assemblage de la tubuline à une concentration submicromolaire et est seulement un peu moins cytotoxique que la vinblastine **1** sur différentes lignées cellulaires,¹⁰⁹ tandis que l'analogue 18'-*homo*-vinblastine **62** est inactif dans les mêmes conditions.¹¹⁰

(4) Cycle C' simplifié

Des composés avec un cycle C' simplifié ont également été synthétisés (Figure 38). Le couplage de dérivés gramine ou tryptamine avec la vindoline **27** fonctionnalisée en C-15 donne les analogues **64a-e**.¹¹¹ Cependant, comme dans le cas des composés « ouverts » **60**, la simplification du cycle C' supprime totalement l'activité antitumorale. Récemment, le composé **67** a été obtenu par couplage de la vindoline **27** avec le céto-ester **65** en présence d'iode hypervalent. Son activité biologique n'a pas encore été déterminée.¹¹²

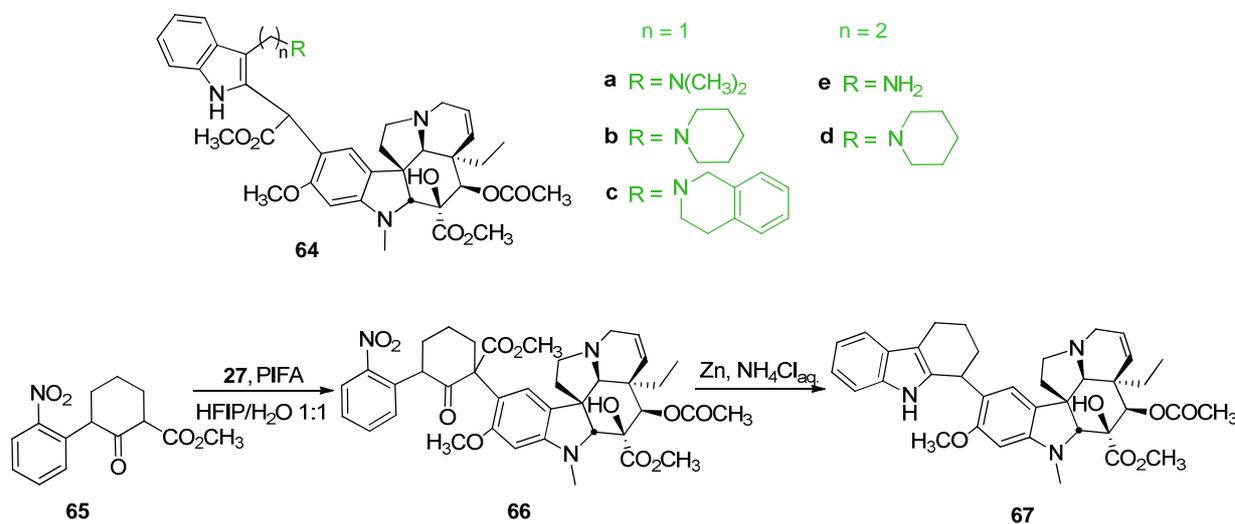


Figure 38. Analogues avec un cycle C' simplifié.

¹⁰⁹ Kuehne, M. E., Cowen, S. D., Xu, F., Borman, L. S. *J. Org. Chem.*, **2001**, *66*, 5303-5316

¹¹⁰ Kuehne, M. E., Qin, Y., Huot, A. E., Bane, S. L. *J. Org. Chem.*, **2001**, *66*, 5317-5328

¹¹¹ Fahy, J., Thillaye du Boullay, V., Bigg, D. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2002**, *12*, 505-507

¹¹² Turner, T. C., Shibayama, K., Boger, D. L. *Org. Lett.*, **2013**, *15*, 1100-1103

C) CYCLE D'

(1) Position C-4'

Depuis des années, les modifications de la position 4' du cycle D' suscitent un intérêt particulier. De nombreux analogues ont montré que les fonctionnalisations au niveau de cette position entraînent souvent des changements imprévus de leur activité biologique.

L'évaluation biologique des analogues **68a-j** (Figure 39) sur le système tubuline-microtubules et sur différentes lignées de cellules cancéreuses a montré que l'activité antitumorale des vinca-alcaloïdes varie en fonction de la modification effectuée en position C-4'. La perte de l'hydroxyle n'influe pas sur l'activité biologique. En absence du groupement hydroxyle en C-4', l'activité des composés dépend alors de la nature du groupement alkyle (méthyle \geq éthyle $>$ diméthyle $>$ propyle).¹¹³

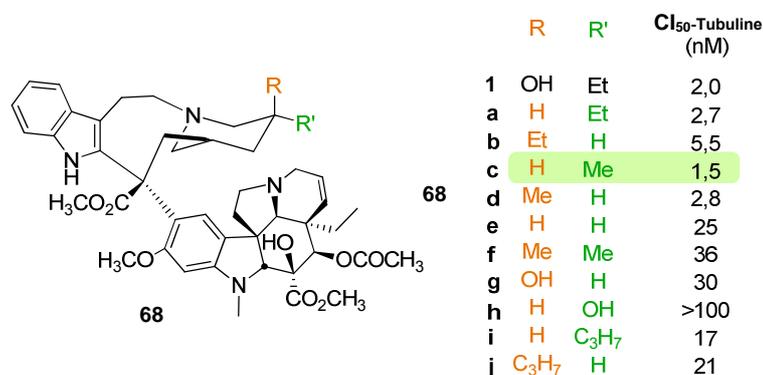


Figure 39. Analogues modifiés en C-4'.

Récemment, des dérivés de type amines, urées et thiourées en position C-4' ont été décrits par Leggans *et al.* (Figure 40). La majorité des composés **69a-w** (sauf **69a** et **69j**) fonctionnalisés par des urées ont montré des activités plus élevées que la vinblastine **1**. Les résultats de l'évaluation biologique sont d'autant plus intéressants que les composés sont actifs sur les lignées cellulaires résistantes à la vinblastine par surexpression de la P-gp. Contrairement aux prédictions basées sur la structure cristallographique de la vinblastine **1**, les dérivés urée en position C-4' portant un groupement encombrant peuvent être jusqu'à dix fois plus actifs que la vinblastine **1**, comme c'est le cas pour **69c**, **f**, **r** et **s**. La présence d'un groupement donneur de liaison hydrogène en C-4' semble être un atout pour l'activité biologique.^{114, 115} Cependant, en absence des données concernant l'activité sur tubuline, il est possible que le groupement urée facilite seulement la pénétration cellulaire du composé. Une fois dans la cellule, sous l'action des uréases, le groupement

¹¹³ Borman, L. S., Kuehne, M. E. *Biochem. Pharmacol.*, **1989**, *38*, 715-724

¹¹⁴ Silvestri, R. *J. Med. Chem.*, **2013**, *56*, 625-627

¹¹⁵ Leggans, E. K., Ducan, K. K., Barker, T. J., Schleicher, K. D., Boger, D. L. *J. Med. Chem.*, **2013**, *56*, 628-639

urée peut être hydrolysé. Néanmoins, des études plus approfondies seraient nécessaire afin de valider ou infirmer cette hypothèse.

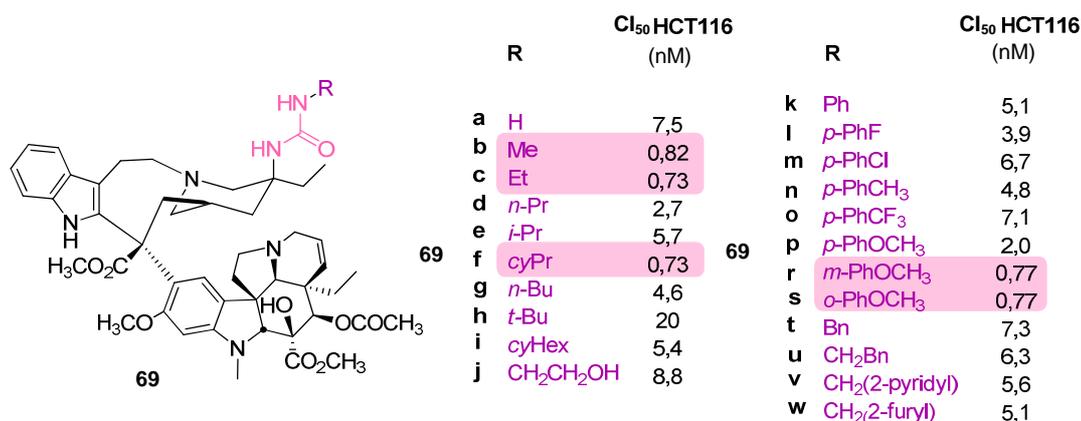


Figure 40. Dérivés urées en position C-4'.

(2) Position C-3' et C-4'

Une série de soixante-deux analogues de la vinblastine a été préparée et évaluée *in vitro* par Kuehne *et al.* (Figure 41).^{116a} Parmi ceux-ci, l'analogue **70a** possédant un cyclohexane fusionné au cycle D' en position C-3' et C-4' induit une cytotoxicité de l'ordre du picomolaire dans les cellules L1210. Le même composé **70a** montre une activité légèrement plus faible que la vinblastine **1** sur la lignée RCC-2 (adénocarcinome du colon), tandis que les composés **70b** et **70c** sont aussi cytotoxiques que la vinblastine.¹¹⁶

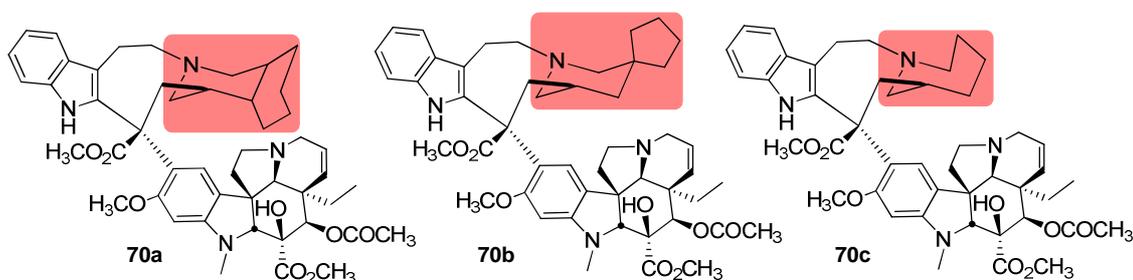


Figure 41. Analogues modifiés en position C-3' et C-4'.

(3) Position C-4' et C-20'

Une autre famille d'analogues de vinca-alcaloïdes **5**, **71a-e** a été obtenue par fonctionnalisation des positions C-4' et C-20' (Figure 42). Pour cela l'anhydrovinblastine **32** ou la

¹¹⁶ (a) Kuehne, M. E., Bornman, W. G., Markó, I., Qin, Y., LeBoullec, K. L., Frasier, D. A., Xu, F., Mulamba, T., Ensinger, C. L., Borman, L. S., Huot, A. E., Exon, C., Bissarro, F. T., Cheung, J. B., Bane, S. L. *Org. Biomol. Chem.*, **2003**, *1*, 2120-2136 (b) Parish, C. A., Dong, J. G., Bornman, W. G., Chang, J., Nakanishi, K., Berova, N. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 15739-15758

vinorelbine **4** ont subi une halogénéation et/ou une oxydation en milieu superacide (HF/SbF₅).¹¹⁷ Tous les dérivés ainsi synthétisés possèdent une activité sur tubuline au niveau micromolaire. Cependant les résultats obtenus n'ont pas permis d'établir des relations structure-activité, par manque de corrélation entre l'activité *in vivo* et *in vitro*.

La vinflunine **5** est le composé « phare » de cette série. Il semble que ce vinca-alcaloïde ait un mécanisme d'action sur le système tubuline – microtubule très différent des autres. La vinflunine est actuellement commercialisée par les laboratoires Pierre Fabre sous le nom Javlor® et est utilisée pour le traitement du cancer de la vessie.

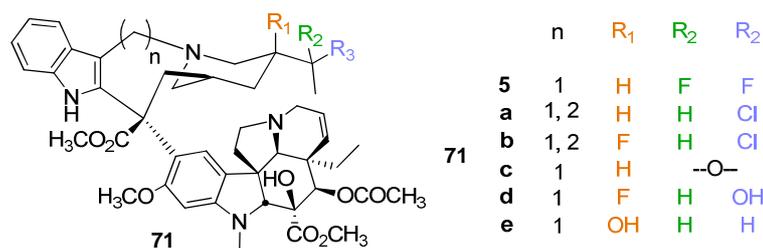


Figure 42. Analogues modifiés en C-4' et C-20'.

D. LES VINCA-ALCALOÏDES ET LES MOLECULES HYBRIDES

La grande diversité des vinca-alcaloïdes synthétisés constitue un élément important dans la compréhension du fonctionnement du système tubuline-microtubules. Certains chercheurs ne se sont pas arrêtés là et ont imaginé de coupler les vinca-alcaloïdes à d'autres entités biologiquement actives pour ainsi obtenir des molécules hybrides.

1. LES MOLECULES HYBRIDES ET LEUR INTERET THERAPEUTIQUE

Avoir à disposition des médicaments, efficaces, n'induisant pas de résistance, sans effet secondaire insupportable, faciles d'administration, etc. constitue un défi toujours d'actualité. Une approche originale consiste à associer dans une même molécule, deux ou même trois entités (dites pharmacophores) ayant des activités complémentaires, synergiques ou potentialisatrices.¹¹⁸

Traditionnellement, lors du traitement d'une maladie par thérapie combinatoire (Figure 43), les médecins prescrivent aux patients des cocktails de médicaments pour combiner leurs mécanismes thérapeutiques. Ce cocktail est administré, le plus souvent, sous la forme de deux ou plusieurs comprimés individuels. L'utilisation des médicaments dans lesquels deux ou plusieurs

¹¹⁷ Fahy, J., Duflos, A., Jacquesy, J. C., Berrier, C., Jouannetaud, M. P., Zunino, F. *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 8576-8577

¹¹⁸ Discours B. Meunier, Chimie et Santé au Service de l'Homme, Colloque de la Fondation de la Maison de Chimie, 1er octobre **2008**

composants sont co-formulés dans un seul comprimé est aussi courante. Ce principe permet un dosage simple et l'amélioration du confort des patients. Une autre stratégie consiste à développer une entité chimique unique, appelé molécule hybride.¹¹⁹

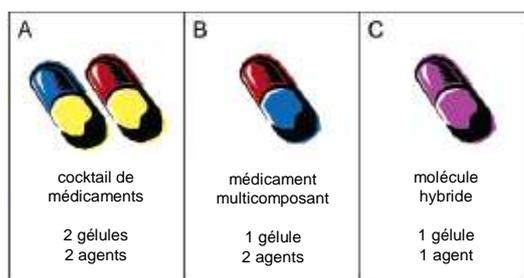


Figure 43. Les trois scénarios cliniques pour la thérapie combinatoire.^{119a}

2. MOLECULES HYBRIDES A BASE DE VINCA-ALCALOIDES

Le concept original de multivalence a été appliqué aux vinca-alcaloïdes. Ainsi une série de molécules hybrides **72** (Figure 44), dans lesquelles les vinca-alcaloïdes sont liés à d'autres agents ciblant la tubuline (thiocolchicine, podophyllotoxine et baccatin III), a été synthétisé.¹²⁰ Quelques différences ont été observées en fonction de la taille de l'espaceur entre les deux principes actifs, sans amélioration évidente des propriétés pharmacologiques par rapport aux vinca-alcaloïdes classiques. De manière surprenante, l'hybride vindoline-thiocolchicine **73**, ne possédant pas la partie supérieure velbenamine, montre une activité comparable à celle de la vinorelbine **4** en termes d'arrêt mitotique et d'inhibition de la polymérisation de la tubuline.

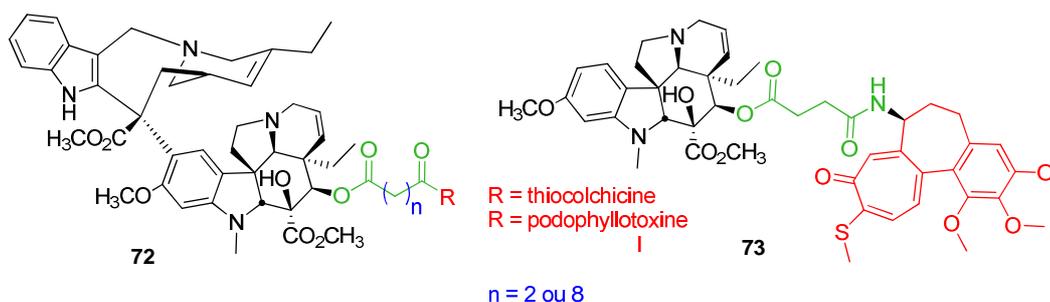


Figure 44. Molécules hybrides **72** et **73**.

La vinblastine **1** a été également couplée avec des peptides (composé **74b**, Figure 45) dans le but de cibler les cellules cancéreuses de la prostate. Il était postulé que l'activité protéolytique de l'antigène spécifique de la prostate (PSA) hydrolyserait la liaison peptidique et libérerait la 4-

¹¹⁹ (a) Morphy R.; Rankovic Z. *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 6523-6543 (b) Cavalli, A., Bolognesi, M. L., Minarini, A., Rosini, M., Tumiatti, V., Recanatini, M., Melchiorre, C. *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*, 347-372

¹²⁰ Passarella, D., Giardini, A., Peretto, B., Fontana, G., Sacchetti, A., Silvani, A., Ronchi, C., Cappelletti, G., Cartelli, D., Borlak, J., Danieli, B. *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, *16*, 6269-6285

décétylvinblastine **74a** au niveau de la tumeur. Cependant la 4-décétylvinblastine **74a** n'a pas montré d'activité *in vivo* dans ces conditions.¹²¹

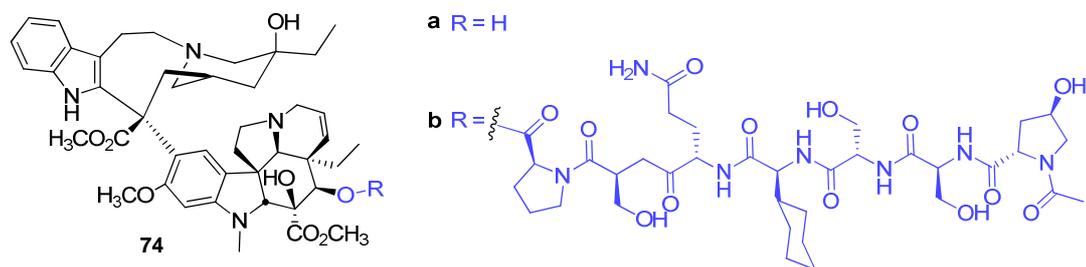


Figure 45. 4-décétylvinblastine **69a** et son analogue peptidique **69b**.

Récemment, la vintafolide (EC145) **75a** (Figure 46) a été développée avec succès. Il s'agit d'un hybride entre la 4-deacetylvinblastine **74a** et l'acide folique (vitamine B9). Ce dernier participe à la biosynthèse des bases nucléiques, ce qui le rend indispensable pour la cellule.¹²² L'acide folique est transporté à l'intérieur de la cellule à l'aide du récepteur folate (FR), qui est surexprimé dans certaines cellules cancéreuses.

¹²¹ Brady, S. F., Pawluczyk, J. M., Lumma, P. K., Feng, D. M., Wai, J. M., Jones, R., DeFeo Jones, D., Wong, B. K., Miller Stein, C., Lin, J. H., Oliff, A., Freidinger, R. M., Garsky, V. M. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4706-4715

¹²² Vlahov, I. R., Santhapuram, H. K. R., Klein, P. J., Howard, S. J., Stanford, K. M., Leamon, C. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 5093-5096

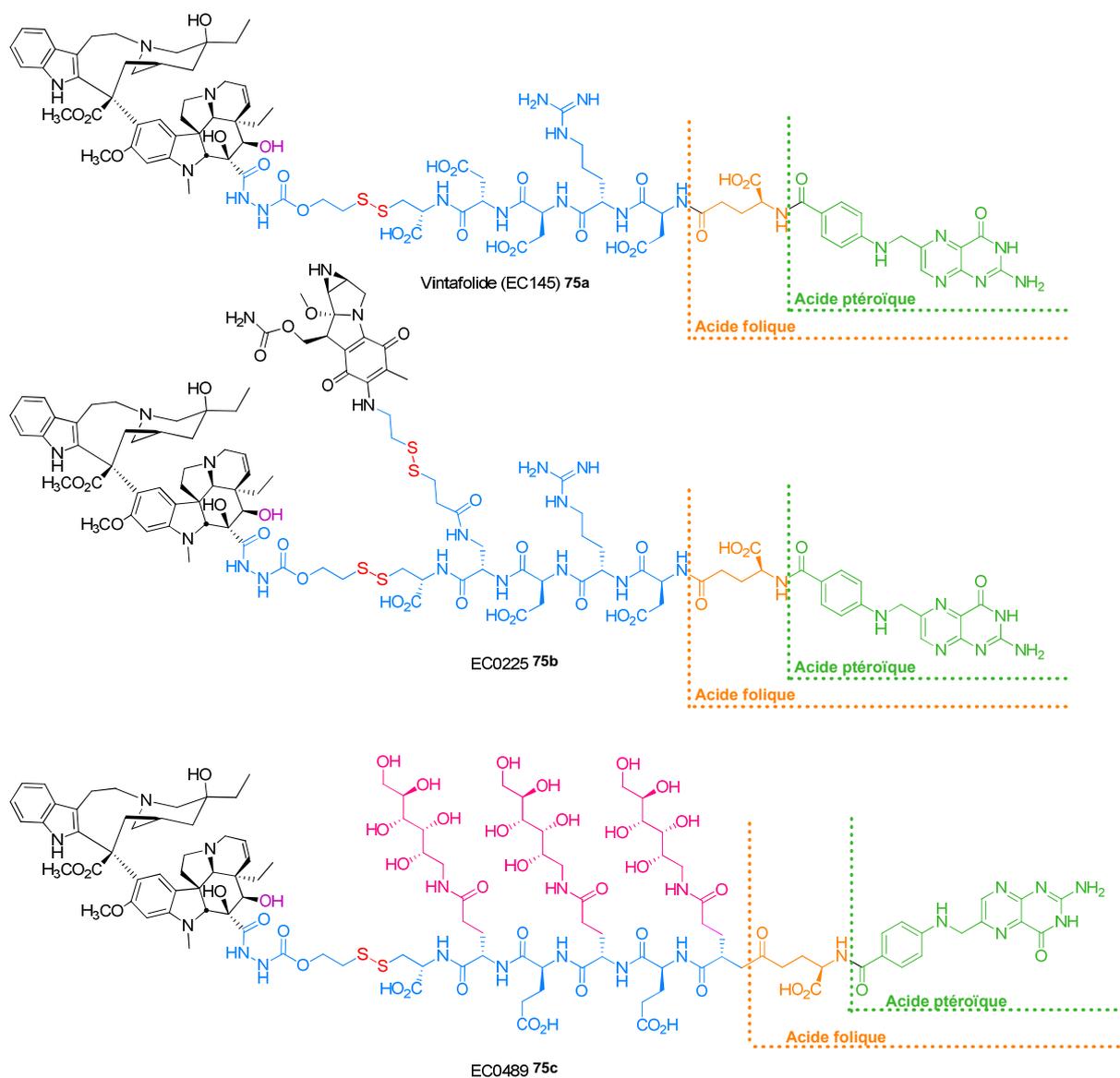


Figure 46. Les molécules hybrides 75a-c.

La vintafolide **75a** a montré une activité antiproliférative importante et des taux significatifs de tolérance.¹²³ Elle est actuellement en cours d'évaluation dans le cadre d'un essai clinique de phase III portant sur le cancer des ovaires résistant au platine et d'un essai de phase II portant sur le cancer du poumon non à petites cellules.¹²⁴ Initialement développée par la compagnie Endocyte, la vintafolide a été achetée par Merck&Co en avril 2012.

Un composé encore plus sophistiqué, l'EC0225 **75b** a été synthétisé (Figure 46). L'acide folique est couplé à deux pharmacophores (une unité vinca et une unité mitomycine) par des ponts disulfure. Un phénomène de synergie entre la vinblastine et la mitomycine a pu être observé. A

¹²³ Reddy, J. A., Dorton, R., Westrick, E., Dawson, A., Smith, T., Xu, L.-C., Vetzal, M., Kleindl, P., Vlahov, I. R., Leamon, C. P. *Cancer Res.*, **2007**, 9, 4434

¹²⁴ (a) Vlahov, I. R., Leamon, C. P. *Bioconjugate Chem.*, **2012**, 23, 1357-1369 (b) Pribble, P. Edelman, M. J. *Expert Opin. Investig. Drugs*, **2012**, 21, 755-761

cause de son profil préclinique impressionnant, l'EC0225 est entré en phase clinique I pour le traitement des tumeurs réfractaires et métastatiques.¹²⁵

L'EC0489 **75c** (Figure 46) est le dernier agent dans cette catégorie à entrer en phase clinique I.¹²⁶ Cette molécule est en fait un dérivé de l'EC145 **75a** qui a été conçu pour empêcher son passage hépatique. En réduisant la clairance hépatique, moins de médicament sera excrété par le foie, par conséquent, moins de toxicités hors-cible sont attendues.¹²⁷

Ces résultats indiquent clairement que la conception de nouvelles molécules hybrides à base de vinca-alcaloïdes est un domaine prometteur. Ce projet de thèse « Synthèse d'hybrides vinblastine-phomopsine » s'inscrit dans cette thématique.

¹²⁵ Leamon, C. P., Reddy, J. A., Westrick, E., Dawson, A., Dorton, R., Vetzal, M., Santhapuram, H. K., Wang, Y. *Mol. Pharmaceutics*, **2007**, *4*, 659-667

¹²⁶ <http://clinicaltrials.gov/show/NCT00852189> consulté le 06/06/2013

¹²⁷ Leamon, C. P., Reddy, J. A., Klein, P. J., Vlahov, I., Loomfield, A., Nelson, M., Westrick, E., Parker, N., Bruna, K., Vetzal, M., Gehrhe, M., Nicoson, J. S., Messmann, R. A., LoRusso, P. M., Sausville, E. A. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2011**, *336*, 336-343

III. LE PROJET : SYNTHÈSE D'HYBRIDES VINBLASTINE-PHOMOPSINE

A. NAISSANCE DU PROJET

La comparaison des deux complexes « vinblastine-tubuline-stathmine » et « phomopsine-tubuline-stathmine » montre que le site de fixation de la vinblastine **1** et celui de la phomopsine **6** sont partiellement communs. (Figure 47).

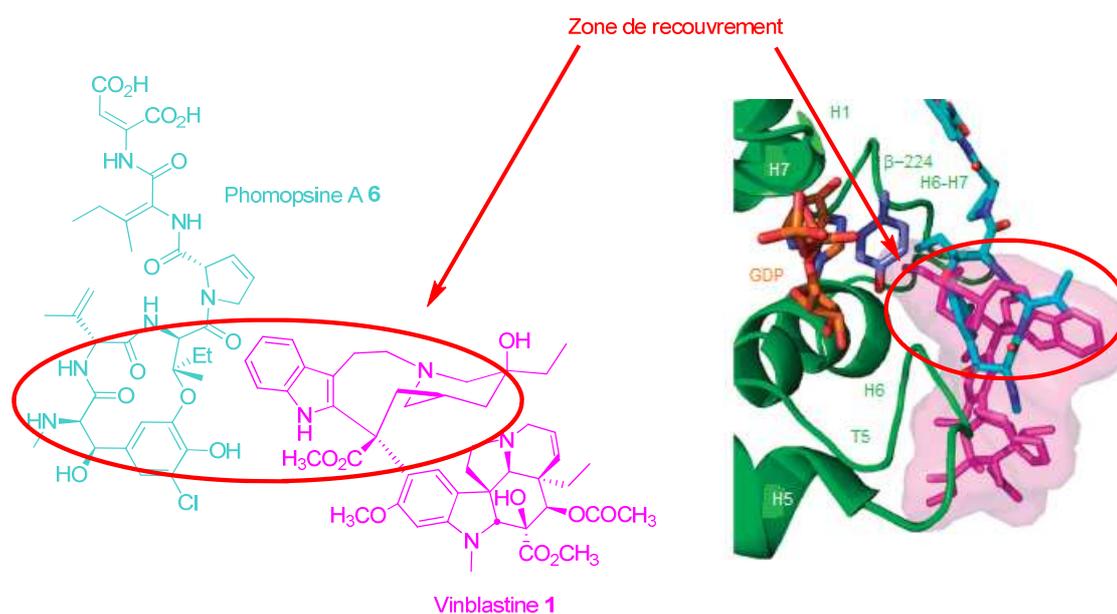


Figure 47. Superposition de la phomopsine A 6 (bleu) et de la vinblastine 1 (magenta) dans le site actif de la tubuline.⁵⁴

En fait, le site d'interaction de la partie velbenamine de la vinblastine **1** et du macrocycle de la phomopsine **6** avec la tubuline se recouvrent complètement, tandis que la partie vindoline et la chaîne latérale de la phomopsine A **6** s'orientent dans des directions opposées.

Ces résultats nous ont permis d'imaginer une nouvelle famille de composés hybrides entre la vinblastine **1** et la phomopsine A **6**. En effet, ces molécules originales pourraient interagir avec encore plus de spécificité et/ou d'affinité avec la tubuline et ainsi avoir une activité biologique accrue. De plus, ces nouveaux composés permettraient d'acquérir des informations supplémentaires sur le fonctionnement de la tubuline.

Dans ce chapitre, nous allons nous concentrer sur les résultats obtenus antérieurement au laboratoire. Les objectifs de ce projet de thèse seront également détaillés.

B. RESULTATS ANTERIEURS

Les premières séries d'hybrides reliant l'anhydrovinblastine **32** et la vinorelbine **4** avec des bras peptidiques saturés mimant la chaîne latérale de la phomopsine A (Figure 48) ont été synthétisés par Quoc Anh Ngo durant sa thèse.

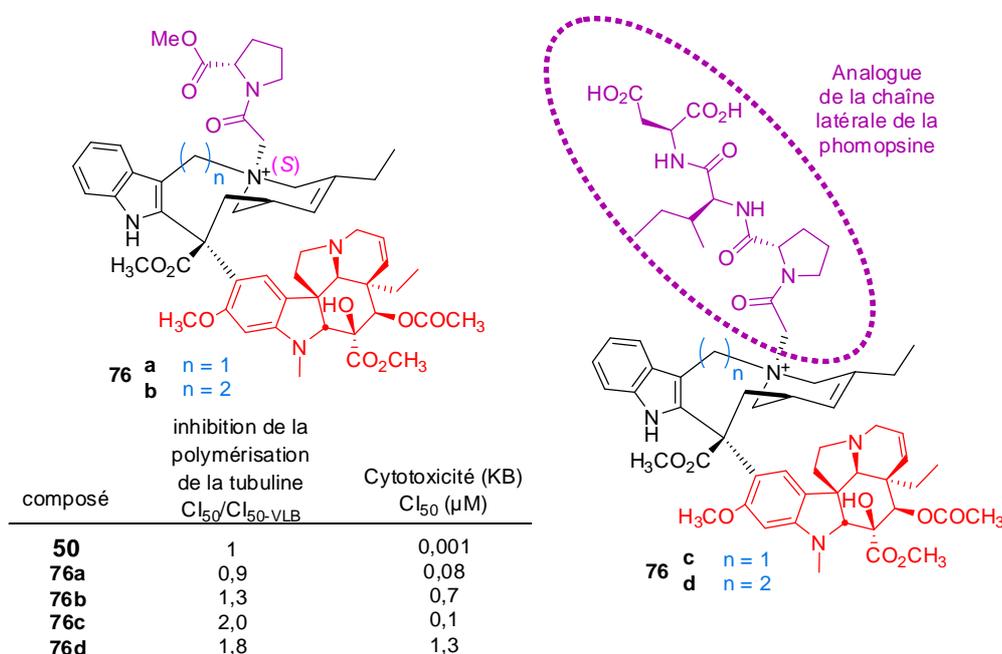


Figure 48. Exemple d'hybrides de 1^{ère} génération et leur évaluation biologique.

Ces hybrides ont montré une excellente activité biologique sur tubuline malgré leur taille importante.¹²⁸ Cependant, des études de modélisation moléculaire ont montré que la chaîne latérale des hybrides **76** ne se positionne pas dans la même poche que la chaîne d'acides aminés de la phomopsine A, mais dans une poche voisine (Figure 49). Cette orientation incorrecte serait due à la configuration absolue (*S*) de l'ammonium quaternaire.

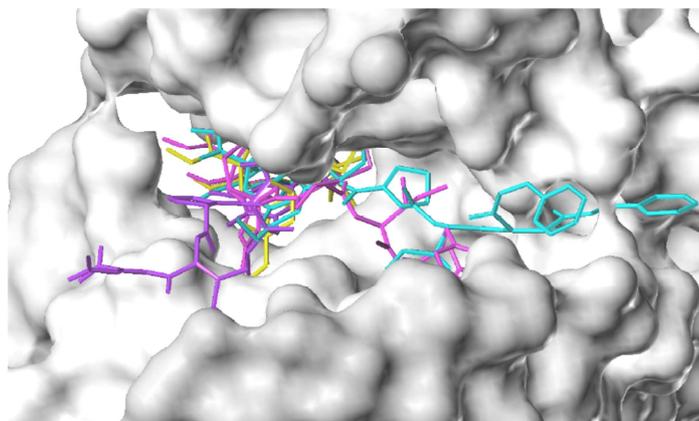


Figure 49. Superposition des conformères de plus basse énergie d'hybride AVLB **76d** (magenta) et de l'hybride VLN **76c** (cyan) après docking avec la phomopsine A **6** (violet) et la vinblastine **1** (jaune).

¹²⁸ Ngo, Q. A., Roussi, F., Cormier, A., Thoret, S., Knossow, M., Guénard, D., Guéritte, F. *J. Med. Chem.*, **2009**, *52*, 134-142

De plus, le remplacement de la partie vindoline par des aromatiques simplifiés conduit à une diminution de l'activité. L'occupation de cette nouvelle poche ne permet donc pas d'induire, à elle seule, une inhibition de la polymérisation de la tubuline.¹²⁹

Les hybrides vinblastine-phomopsine de 2^{ème} génération possèdent une partie velbenamine simplifiée. En fait, des études de modélisation moléculaire ont permis de postuler que des conformères de basse énergie de ces composés simplifiés pouvaient se superposer à la vinblastine et à la phomopsine dans leur conformation active, quand le cycle simplifié était à six ou neuf chaînons (Figure 50A).

La série d'hybrides **77a-d** avec un cycle C' à neuf chaînons (Figure 50B) a été préparée par Claire Rannoux pendant sa thèse, grâce à une voie de synthèse efficace et stéréosélective avec un contrôle total des centres stéréogènes C-3 et C-8, indispensables à la bonne orientation de la molécule. Malheureusement ces composés perdent entièrement leur activité biologique, probablement en raison d'une trop grande flexibilité du cycle C' ainsi formé.¹³⁰

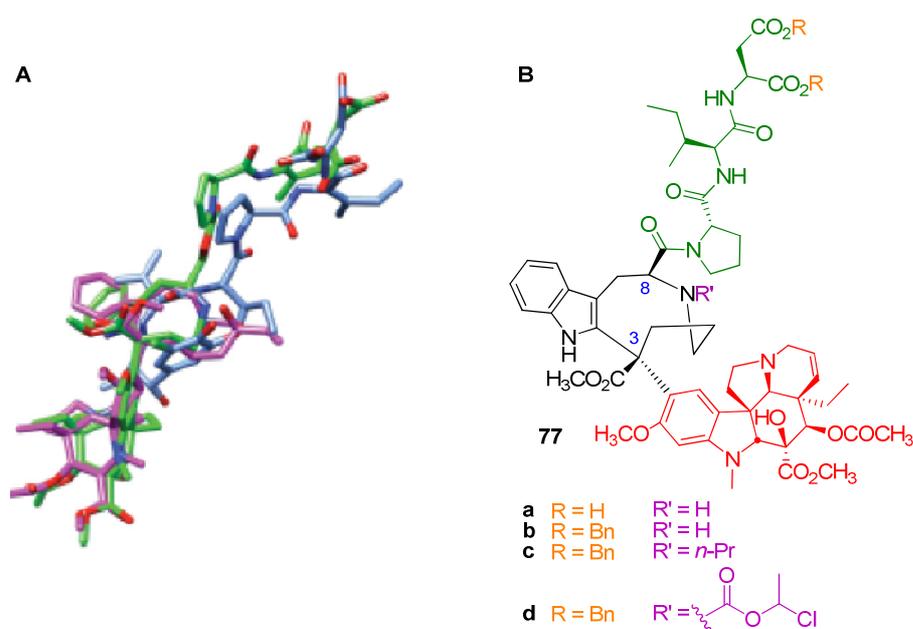


Figure 50. Hybrides de 2^{ème} génération. A. Superposition de la phomopsine (bleu) et de la vinblastine (magenta) dans leur conformation active et d'un conformère de basse énergie de la structure hybride (vert) B. Hybrides simplifiés phomopsine-vinblastine.

C. PROJET DE THESE ET OBJECTIFS

Mon projet de thèse a consisté à synthétiser des hybrides phomopsine-vinblastine dont la chaîne latérale serait correctement orientée et qui garderaient le cycle D' pour plus de rigidité.

¹²⁹ Ngo, Q. A., Roussi, F., Thoret, S., Guéritte, F. *Chem. Biol. Drug Des.*, **2010**, 75, 284-294

¹³⁰ Rannoux, C., Roussi, F., Martin, M.-T., Guéritte, F., *Org. Biomol. Chem.*, **2011**, 9, 4873-4881

Deux types de « templates » ont successivement été envisagés (Figure 51).

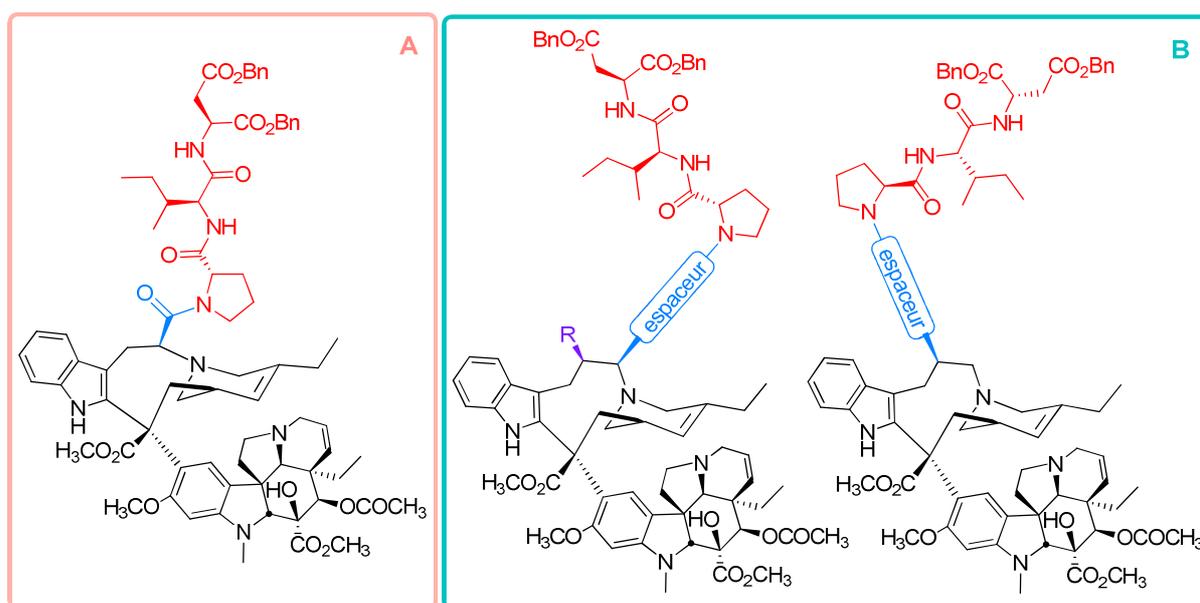


Figure 51. Molécules hybrides envisagées.

Dans un premier temps la synthèse des structures **A**, provenant de l'insertion d'une chaîne d'acides aminés au niveau du pont gramine de la vinorelbine **4** a été étudiée. Dans un deuxième temps, des dérivés **B** de la 7'-*homo*-anhydrovinblastine **61**, fonctionnalisés en position C-7' et C-8' par la chaîne latérale de la phomopsine A, ont fait l'objet de nos études. Dans tous les cas, la stéréochimie du centre en C-7' et C-8' doit être parfaitement contrôlée afin d'orienter correctement la chaîne peptidique dans son site de fixation sur la tubuline.

L'ensemble de ces résultats sera présenté dans la suite du manuscrit.

DEUXIEME PARTIE : RESULTATS
PERSONNELS

I. DERIVES DE L'ANHYDROVINBLASTINE FONCTIONNALISES EN POSITION 7'

A. INTRODUCTION ET OBJECTIFS

Dans la première partie de ces travaux, nous nous sommes intéressés aux hybrides phomopsine-vinblastine possédant un macrocycle C' à 9 chaînons, résultant de l'insertion de la chaîne latérale au sein du pont gramine des ammoniums quaternaires **78** (Figure 52). La configuration du nouveau centre asymétrique créé en C-7' doit être contrôlée puisque une configuration (S) est nécessaire à la bonne orientation de la chaîne latérale de la phomopsine. Celle-ci pourrait être greffée après déprotection d'un ester convenablement choisi pour conduire à des structures de type **80**.

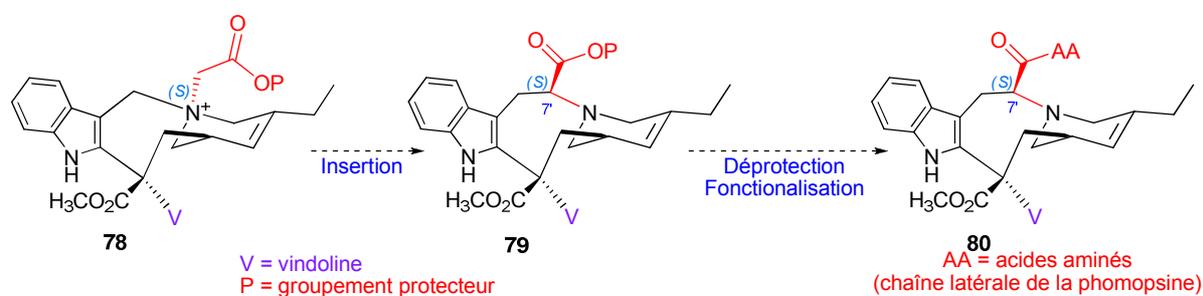


Figure 52. Stratégie envisagée pour la synthèse d'hybrides avec un cycle C' à 9 chaînons.

Pour effectuer cette insertion, trois voies distinctes (Figure 53) ont successivement été étudiées : le réarrangement de Stevens *via* l'ylure **81**, le réarrangement de Somei-Kametani *via* le composé ouvert **82** et la fonctionnalisation par organocatalyse *via* l'intermédiaire énamine **83**.

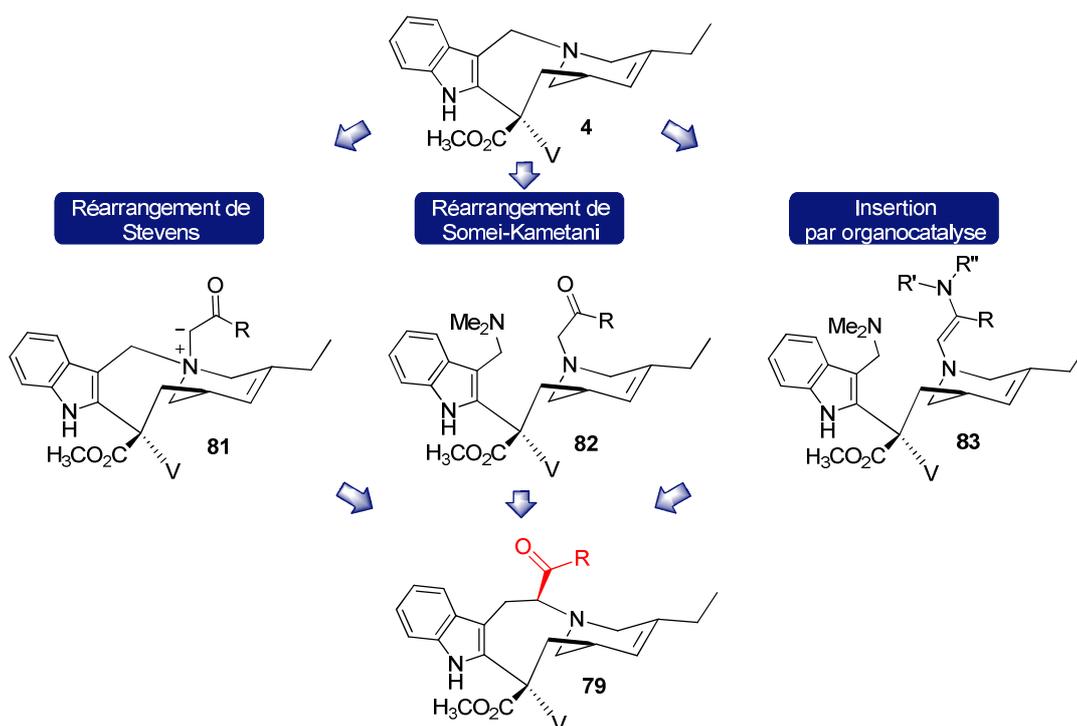


Figure 53. Les trois voies synthétiques envisagées pour la synthèse des dérivés 79

B. REARRANGEMENT DE STEVENS

1. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

En 1928, Stevens *et al.* ont décrit un nouveau réarrangement [1,2] d'ylures d'ammonium.¹³¹ Ils ont remarqué qu'en conditions basiques, le sel d'ammonium quaternaire **84** conduisait à l'amine tertiaire réarrangée **85** avec un bon rendement (Schéma 11). Ce type de réarrangement, appelé réarrangement de Stevens ou réarrangement sigmatropique [1,2], a été beaucoup étudié, puisqu'il permet d'accéder à une large variété de composés azotés.¹³²

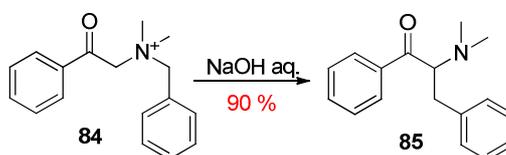


Schéma 11. Premier exemple de réarrangement de Stevens.¹³¹

Cette réaction commence par l'abstraction d'un proton acide en α de l'azote pour donner l'ylure **87** (Schéma 12). La deuxième étape, la migration du groupe R, a été beaucoup plus discutée. Trois intermédiaires distincts ont été proposés, mais le mécanisme radicalaire semble être le plus

¹³¹ Stevens, T. S., Creighton, E. M., Gordon, A. B., MacNicol, M. J. *Chem. Soc.*, **1928**, 3193-3197

¹³² Vanecko, J. A., Wan, H., West, F. G. *Tetrahedron*, **2006**, 62, 1043-1062

plausible.¹³³ Ainsi, l'ylure **87** subirait une rupture homolytique de la liaison carbone-azote, pour donner le radical le plus stable. Les radicaux ainsi formés seraient maintenus ensemble par une cage de solvants, puis se recombineraient rapidement pour conduire au composé de réarrangement [1,2].¹³²

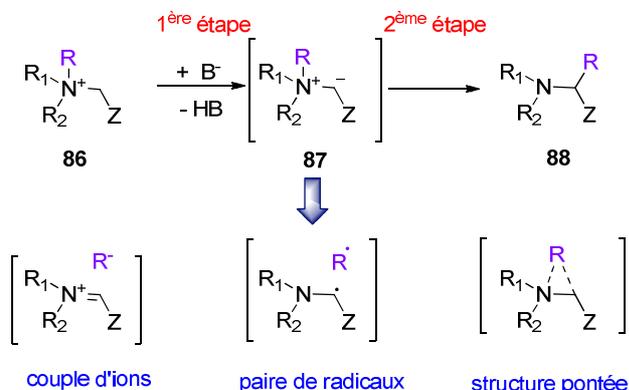


Schéma 12. Réarrangement de Stevens.¹³³ Formation de l'ylure **87** et intermédiaires proposés pour la migration du groupe R.

La plupart du temps, la rétention de configuration du groupe qui migre a été observée, ce qui permet un transfert de chiralité de l'ammonium quaternaire au carbone voisin.¹³⁴ Cependant l'étude théorique réalisée récemment par Ghigo *et al.* a permis de montrer que la recombinaison des radicaux peut conduire soit à une inversion, soit à une rétention de configuration. La deuxième option est souvent favorisée pour des considérations stériques.¹³³

Les inconvénients de ce réarrangement, limitant son champ d'application, sont les réactions secondaires (Schéma 13), puisqu'il peut être en compétition avec deux autres types de réactions : un réarrangement sigmatropique concerté [3,2]¹³⁵ (Schéma 13A), défavorisé en conditions aprotiques, mais favorisé en conditions basiques protiques,¹³⁶ et une réaction d'élimination d'Hofmann (Schéma 13B),¹³⁷ favorisée dans des solvants alcooliques en présence de bases moyennement fortes.¹³⁸

¹³³ Ghigo, G., Cagnina, S., Maranzana, A., Tonachini, G. *J. Org. Chem.*, **2010**, *75*, 3608-3617

¹³⁴ Quelques exemples : (a) Hill, R. K., Chan, T. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, *88*, 866-867 (b) Marko, I. E. dans Trost, B. M., Fleming, I. Eds., *Comprehensive Organic Synthesis*, Pergamon : Oxford, **1991**, Vol. 3, 913-973

¹³⁵ (a) Baldwin, J. E., Hackler, R. E., Kelly, D. P. *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, *90*, 4758-4759 (b) Baldwin, J. E., Hackler, R. E., Kelly, D. P. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1968**, 537-538 (c) Baldwin, J. E., Hackler, R. E., Kelly, D. P. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1968**, 899-900

¹³⁶ (a) Hayashi, Y., Oda, R. *Tetrahedron Lett.*, **1968**, 5381-5384 (b) Ratts, K. W., Yao, A. N. *J. Org. Chem.*, **1968**, *33*, 70-75

¹³⁷ Frey, L. P. A., Van Hove, L. *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **1960**, *69*, 79-94

¹³⁸ Valpueda, M., Diaz, A., Suau, R., Torres, G. *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, *21*, 4313-4318

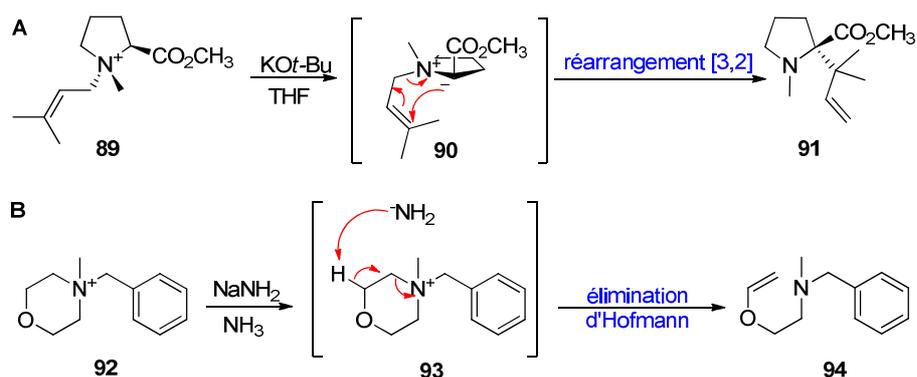


Schéma 13. Réactions secondaires possibles lors du réarrangement de Stevens¹³² A. Réarrangement [3,2] B. Élimination d'Hofmann.

La formation de l'ylure intermédiaire peut s'effectuer de différentes façons :

✓ *Déprotonation d'un ammonium quaternaire par une base* (Schéma 14).^{132, 139} Cette méthode de formation d'ylures comporte des risques de réactions secondaires. En effet, la formation régiosélective de l'ylure peut-être problématique si l'ammonium de départ comporte plusieurs sites acides et si le contre-ion est nucléophile. De plus, le réarrangement est en compétition avec l'élimination d'Hofmann.

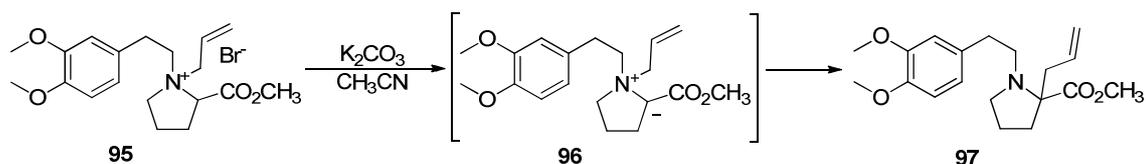


Schéma 14. Exemple d'application du réarrangement de Stevens : ylure généré en présence d'une base.¹³⁹

✓ *Utilisation d'ions fluorures pour la désilylation de sels de triméthylsilyle substitués* (Schéma 15).¹⁴⁰ Cette méthode a l'avantage de minimiser les réactions secondaires d'élimination et de permettre la génération d'un ylure de manière régiosélective.

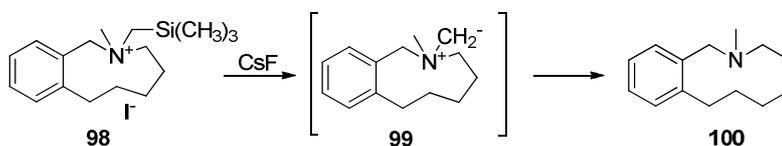


Schéma 15. Exemple d'application du réarrangement de Stevens : ylure généré par désilylation.^{140b}

✓ *Génération d'un carbène in situ* (Schéma 16).¹⁴¹ Initialement, les carbènes étaient générés par décomposition thermique ou photochimique de leur précurseur diazo. L'utilisation de

¹³⁹ Sun, M., Lu, T., Wang, Y., Yang, H., Liu, H. *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 2213-2216

¹⁴⁰ (a) Vedejs, E., West, F. G. *J. Org. Chem.*, **1983**, *48*, 4773-4775 (b) Sato, Y., Yagi, Y., Koto, M. *J. Org. Chem.*, **1980**, *45*, 613-617

¹⁴¹ (a) Ando, W. *Acc. Chem. Res.*, **1977**, *10*, 179 (b) Doyle, M. P. *Acc. Chem. Res.*, **1986**, *19*, 348. (c) Padwa, A., Weingarten, M. D. *Chem. Rev.*, **1996**, *96*, 223-269 (d) Padwa, A. Beall, L. S., Eidell, C. K., Worsencroft, K. J. *J.*

catalyseurs au cuivre ou au rhodium a permis de générer des carbènes stabilisés. Cette méthode est vite devenue une bonne alternative à l'utilisation de bases pour former les ylures.

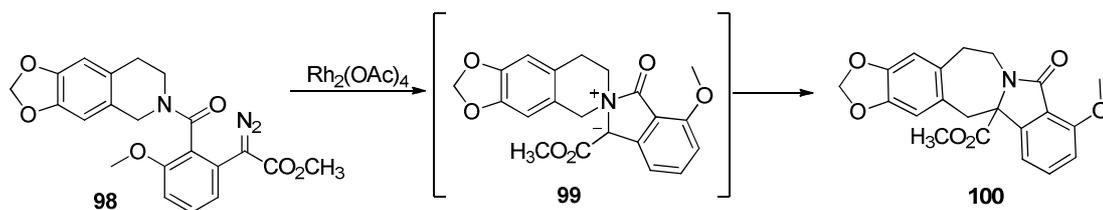


Schéma 16. Exemple d'application du réarrangement de Stevens : ylure généré via un carbène.^{141d}

Le cycle catalytique (Schéma 17) proposé pour cette réaction passe par des métallocarbènes électrophiles **103**. Dans un premier temps, l'addition du complexe métallique au dérivé diazo **101** donne l'intermédiaire **102**. La perte d'une molécule d'azote permet d'obtenir le métallocarbène stabilisé **103**. Ce dernier est attaqué par l'amine **104** pour donner l'ylure **105**. La dernière étape est la dissociation du métal pour générer l'ylure souhaité **106**.

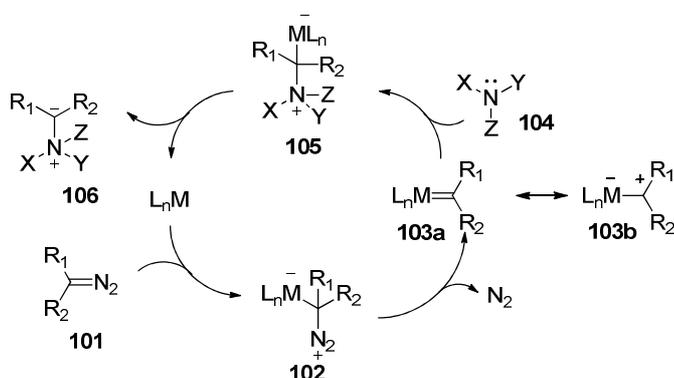


Schéma 17. Cycle catalytique pour la génération d'ylures d'ammonium via des métallocarbènes.¹³²

✓ *Utilisation des conditions de Mitsunobu* (Schéma 18). Dans ce cas, la formation de l'ammonium quaternaire et le réarrangement ont lieu en version monotope. Contrairement à d'autres méthodes, en présence de Ph₃P/DEAD (azodicarboxylate de diéthyle) ou *n*-Bu₃P/ADDP (1,1'-(azodicarbonyl)-dipiperidine), le réarrangement se fait en conditions neutres.¹⁴²

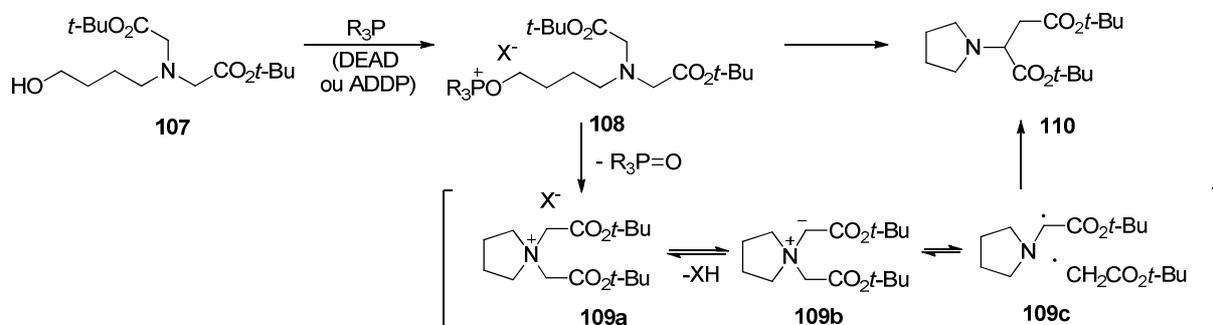


Schéma 18. Exemple d'application du réarrangement de Stevens : ylure généré dans les conditions de Mitsunobu.¹⁴²

Org. Chem., **2001**, 66, 2414-2421 (e) Honda, K., Shibuya, H., Yasui, H., Hoshino, Y., Inoue, S. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2008**, 81, 142-147

¹⁴² Walker, M. A. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 45, 8133-8136.

Cette réaction nécessite l'activation de l'alcool par la phosphine pour donner le sel de phosphonium **108**. L'attaque intramoléculaire du phosphonium par l'atome d'azote conduit au composé cyclique **109a**. La force motrice de cette réaction est l'élimination de l'oxyde de phosphine. La déprotonation du composé **109a** permet la formation de l'intermédiaire **109b**, qui, par homolyse, conduit au biradical **109c**. La recombinaison rapide des radicaux donne finalement le composé **110**.

✓ Sous l'action d'un acide de Lewis (Schéma 19). Récemment, Tuzina *et al.* ont décrit la génération d'ylure en présence d'un acide de Lewis passant par le complexe bicyclique amine-borane chargé **112**. Il est important de noter que lorsque l'acide de Lewis se coordine à l'amide, la chiralité du carbone en position α est transférée à l'atome d'azote. La déprotonation du **112** en présence de triéthylamine permet d'obtenir l'ylure **113**, qui subit une rupture homolytique de la liaison C-N. La recombinaison des radicaux **114** ainsi formés conduit au complexe **115**, qui, après hydrolyse, donne le composé **116**. Cette réaction, qui a lieu avec un transfert total de chiralité par migration sélective du radical benzyle sur la face α , est simple à mettre en œuvre et les rendements sont élevés (79-85%).¹⁴³

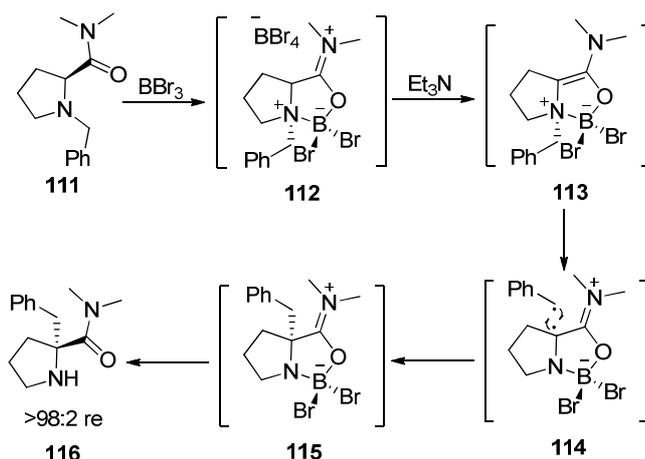


Schéma 19. Exemple d'application du réarrangement de Stevens : ylure généré en présence d'un acide de Lewis.¹⁴³

2. RESULTATS

(1) En présence d'une base

Dans un premier temps, nous avons essayé de générer l'ylure **81** en utilisant une base forte afin d'obtenir le composé d'insertion désiré **79**. Cette réaction est, comme nous l'avons vu précédemment, loin d'être triviale et l'utilisation d'une base forte peut conduire à trois réactions concurrentes : un réarrangement [1,2], un réarrangement [3,2] et/ou une élimination d'Hofmann (Figure 54).

¹⁴³ Tuzina, P., Somfai, P. *Org. Lett.*, **2009**, *11*, 919-921

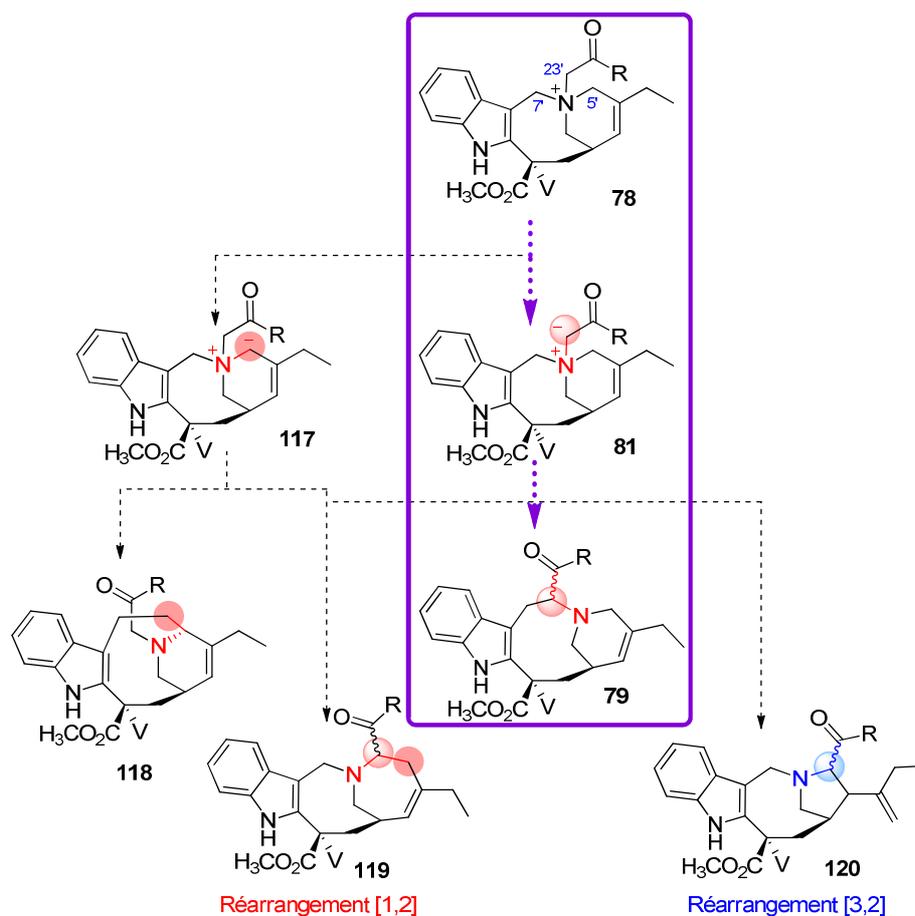


Figure 54. Produits possibles à obtenir en conditions basiques.

D'autre part, deux protons acides devraient pouvoir être facilement arrachés dans notre cas : le proton H-5' et le proton H-23'. Trois produits **79**, **118** et **119** pourraient être obtenus par réarrangement de Stevens (en fonction de la rupture homolytique N-C-7', N-C-5' et N-C-23') et un autre **120** par réarrangement sigmatropique [3,2] à cause de la présence de la double liaison allylique en C-3'-C-4'.

Les premiers essais de réarrangement ont été effectués dans l'équipe, par Quoc Anh Ngo, à la fin de sa thèse, sur le composé **76a**. En utilisant un équivalent de DBU (1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène) un nouveau produit, correspondant au composé d'isomérisation **123** a été obtenu. Cela indique, qu'à priori, le proton H-5' est plus acide que le proton H-23', mais que l'ylure **121** formé n'est pas stable et subi une isomérisation spontanée en **123**.¹⁴⁴ De plus, le DBU est connu pour favoriser les réactions d'isomérisation des doubles liaisons, ce qui pourrait faciliter la formation du produit obtenu **123**.¹⁴⁵

¹⁴⁴ Ngo, Q. A., Roussi, F., Thoret, S., Guéritte, F. *Tetrahedron Lett.*, **2012**, 53, 5821-5823

¹⁴⁵ e-EROS Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis

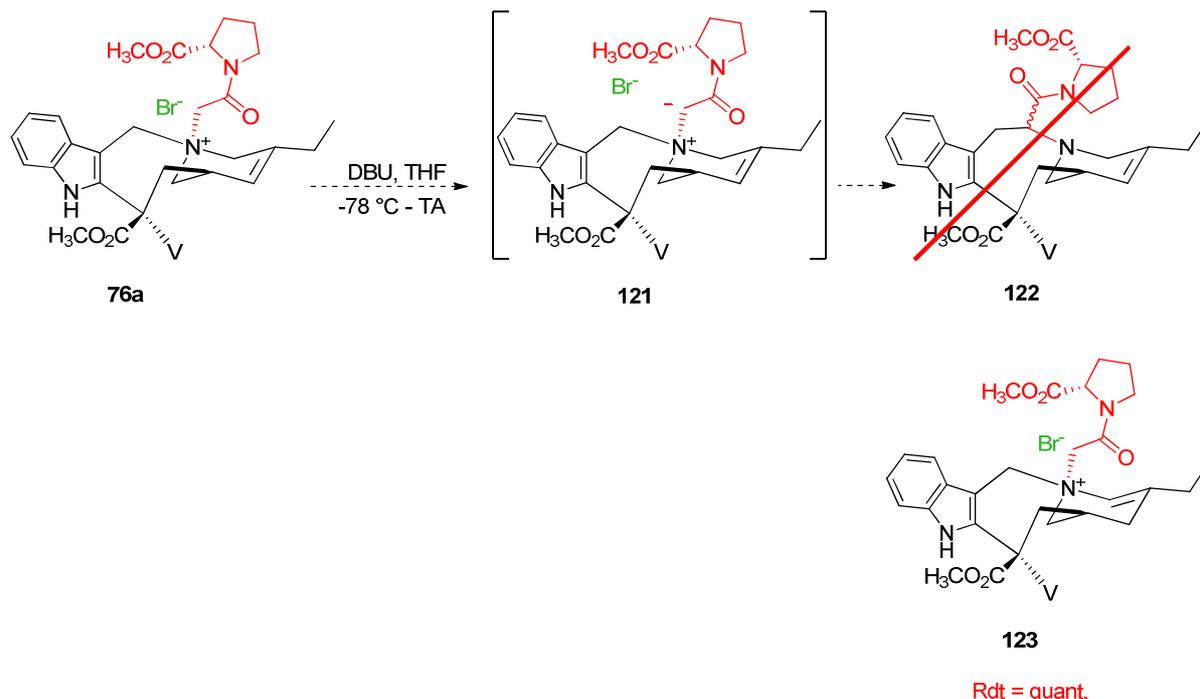


Schéma 20. Premier essai de réarrangement de Stevens sur l'ammonium quaternaire 76a.

Pour contourner ce problème, nous avons envisagé d'étudier la réactivité d'un ammonium quaternaire possédant un cycle D' saturé **125** comme substrat du réarrangement de Stevens (Schéma 21). L'absence de la double liaison en C-3'-C-4', devrait diminuer la réactivité de H-5', par rapport à celle de H-23' et l'utilisation du DBU pourrait nous permettre d'aboutir au composé d'insertion **126** souhaité.

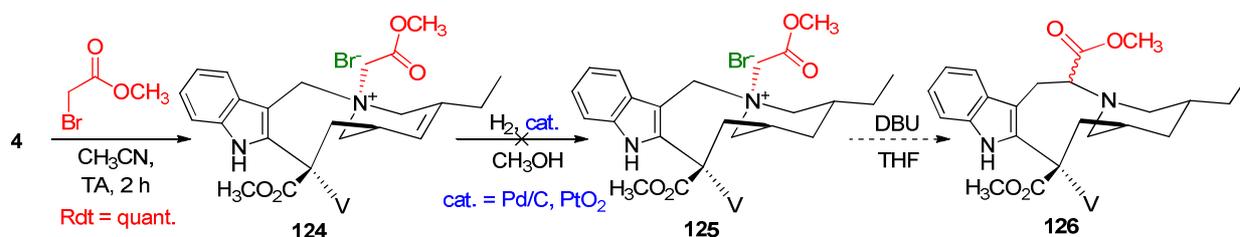


Schéma 21. Utilisation d'un ammonium quaternaire avec un cycle D' saturé.

Cependant, quelques soient les conditions utilisées pour l'hydrogénation de l'ammonium quaternaire **124** ou l'hydrogénation des précurseurs (catharanthine **26**, anhydrovinblastine **32** ou vinorelbine **4**), l'ammonium quaternaire **125** n'a pu être obtenu.

Par la suite, nous avons décidé d'étudier l'impact d'autres bases sur la déprotonation sélective de la position C-23' de l'ester **124**. Les alkoxydes métalliques (MeONa, KOt-Bu, ...) souvent utilisés dans le réarrangement de Stevens ne peuvent pas être choisis dans notre cas, puisqu'ils sont très nucléophiles et risqueraient d'ouvrir le pont gramine. Le LDA (di-*iso*-propylamide de lithium) et le KHMDS (hexaméthylidisilazide de potassium) ont été successivement essayés (Tableau 1).

Tableau 1. Essais de réarrangement de Stevens

Entrée	Base	2 équivalents
		TA
1	LDA	127 + traces de 124
2	KHMDS	128 + traces de 124

Lorsque deux équivalents de LDA ou de KHMDS sont utilisés à température ambiante dans du THF, deux nouveaux composés **127** ou **128** se forment (Schéma 22).

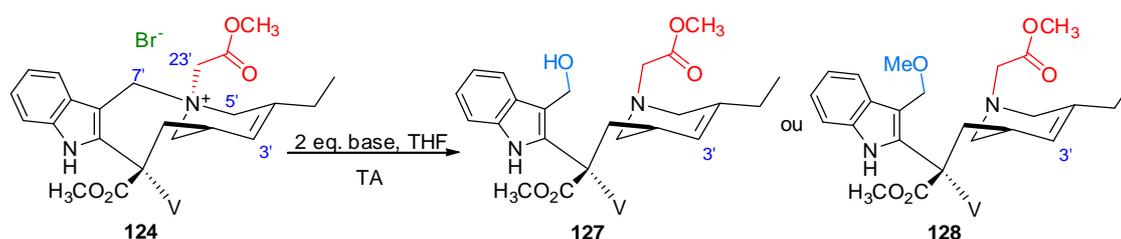
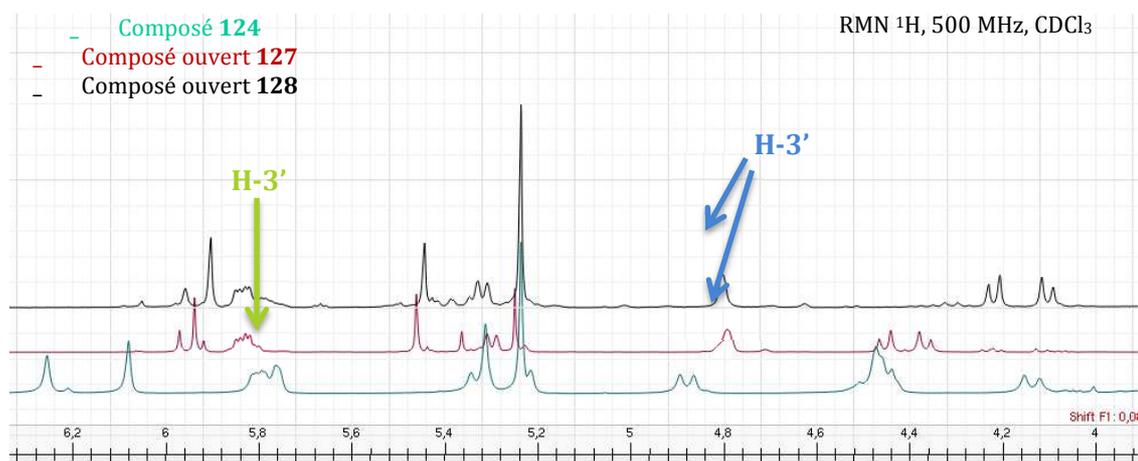


Schéma 22. Utilisation de deux équivalents de base lors des essais de réarrangement de Stevens.

La comparaison de leurs spectres RMN ^1H avec celui du composé de départ **124** nous a permis de déterminer qu'il ne s'agit pas de composés d'insertion, mais de produits résultant de l'ouverture du pont gramine. En effet, dans le cas de composés avec le pont gramine ouvert, le pic correspondant au proton H-3' est plus blindé que dans un composé avec un pont gramine intact (Figure 55).


 Figure 55. Juxtaposition des spectres RMN ^1H des composés **124**, **127** et **128**.

La formation des composés ouverts **127** et **128** pourrait être expliquée par le fait que la base déprotonne la position H-23' et génère l'ylure désiré **129**, mais la rupture homolytique de la liaison C-23'-N-6' est en concurrence avec la formation de l'indolium **130**, qui se fait plus rapidement. Une fois formé, il ne recycliserait pas et, après traitement, conduirait aux composés observés **127** et **128** (Schéma 23).

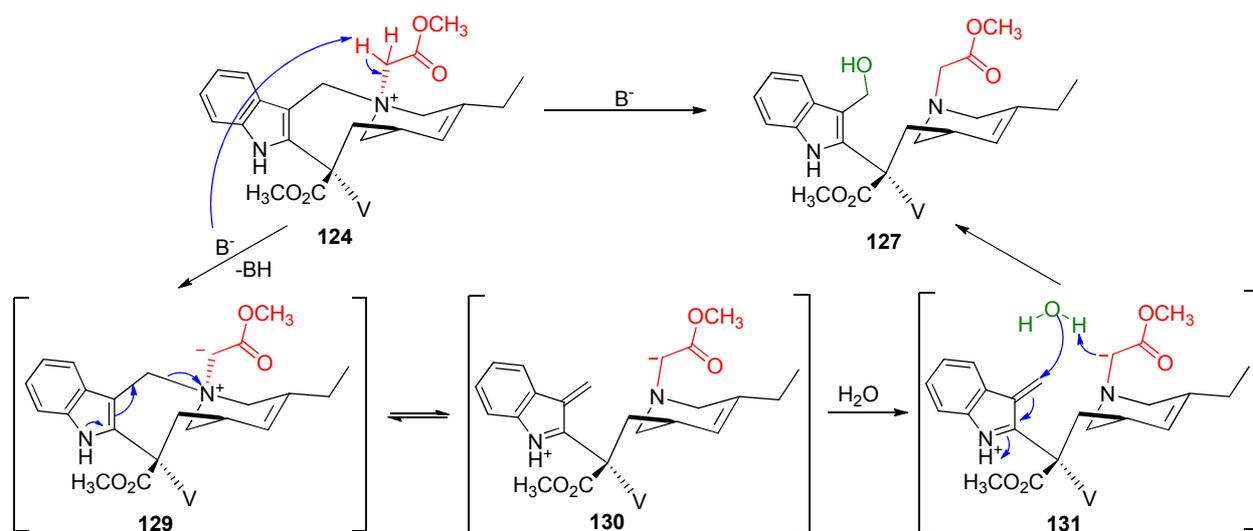
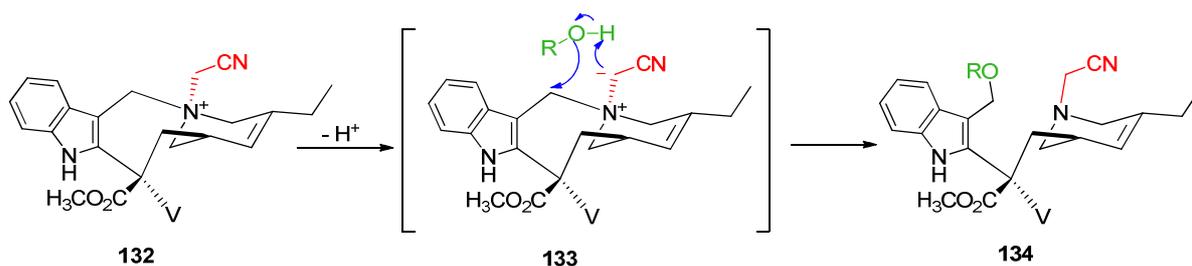


Schéma 23. Mécanisme proposé pour la formation du composé 127

Cette hypothèse est étayée par l'observation de Guéritte *et al.*, qui ont montré que l'ammonium quaternaire **132** est instable et réagit avec le méthanol utilisé comme solvant pour conduire au composé ouvert **134** (Schéma 24).¹⁴⁶ Pour expliquer cette réaction, un intermédiaire de type yluire **133** a été proposé.


 Schéma 24. Formation du composé 134 en passant par l'ylure 133 proposé par Guéritte *et al.*¹⁴⁶

Ainsi, l'ammonium **132** a été préparé et il a été chauffé au reflux d'acétonitrile en conditions anhydres pour favoriser la rupture de la liaison C-23'-N-6'. Un équivalent de bromoacétonitrile a été ajouté à une solution de vinorelbine **4** dans l'acétonitrile. Après une heure à température ambiante, nécessaire pour la formation de l'ammonium quaternaire **132**, le milieu réactionnel a été chauffé à 80 °C pendant une nuit (Schéma 25). Un seul composé a été récupéré à la fin de la réaction, dont l'élucidation structurale est en cours. L'analyse préliminaire des spectres RMN indique cependant que le composé isolé n'est pas le composé cible **135**, mais un dérivé ouvert, puisqu'encre une fois, le proton H-3' est très blindé. Ce nouveau composé ne possède pas de proton indolique, ce qui laisse penser à un composé indolénine et donc à la formation de l'intermédiaire **136** qui ne peut pas recycler spontanément.

¹⁴⁶ Guéritte, F., Pouilhès, A., Mangeney, P., Andriamialisoa, R. Z., Langlois, N., Langlois, Y., Potier, P. *Eur. J. Med. Chem.-Chim. Ther.*, **1983**, *18*, 419-424

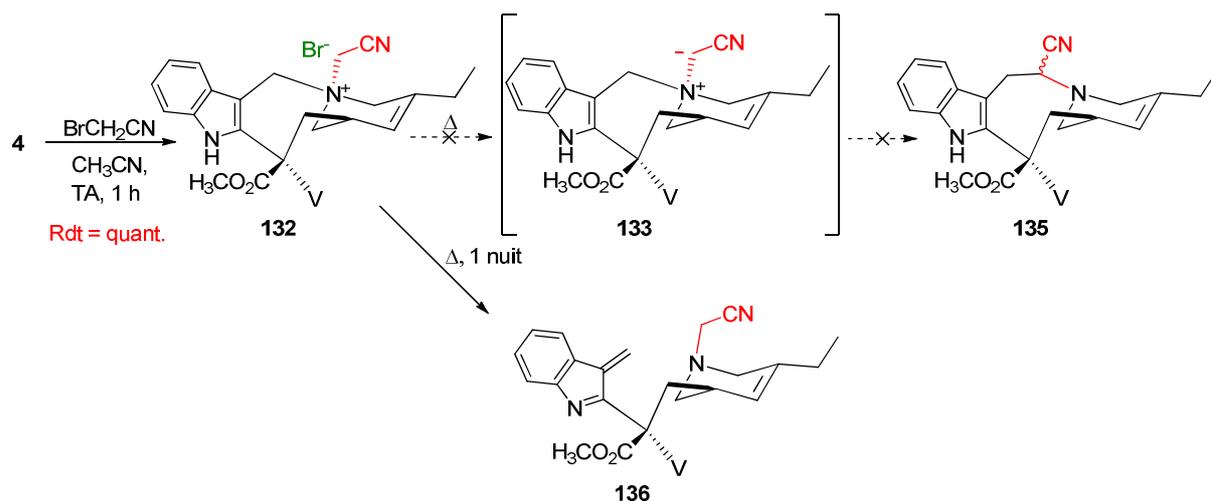


Schéma 25. Stratégie envisagée pour l'insertion via l'ylure 133.

Afin d'augmenter l'acidité du proton en position H-23' et de le rendre plus réactif, la synthèse d'un ammonium quaternaire possédant un motif malonate **137** a été envisagée (Schéma 26). En utilisant les conditions habituelles de génération d'un ammonium quaternaire (bromomalonate de méthyle et vinorelbine dans l'acétonitrile à température ambiante), un nouveau composé, dont le spectre RMN ^1H est caractéristique d'un ammonium quaternaire (*ie* présence des protons H-5' et H-7' entre 4 et 5 ppm) a été isolé. Cependant, les expériences RMN 2D ainsi que la masse du produit d'arrivée mesurée en mode ESI $^+$ ont révélé qu'il n'était pas le composé attendu, mais la vinorelbine protonnée **138**, résultant de l'arrachement du proton malonique par l'azote N-6'.

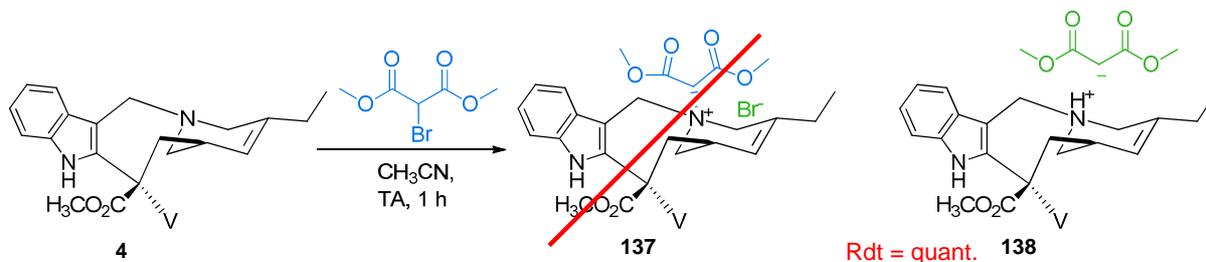


Schéma 26. Synthèse d'un ammonium quaternaire avec un motif malonate.

(2) Utilisation d'un carbène

Les premiers essais de réarrangement de Stevens en passant par un carbène ont été réalisés dans l'équipe, en partie par Quoc Anh Ngo, à la fin de sa thèse, et par Fabio La Spisa, pendant son stage de mobilité internationale.

Dans un premier temps des composés diazo commerciaux simples, comme le diazoacétate d'éthyle ou le diazoacétate de *tert*-butyle, ont été mis en réaction avec la vinorelbine **4** en présence de 10% de catalyseurs au cuivre (Cu^0 , $\text{Cu}(\text{acac})_2$, $\text{Cu}(\text{OAc})_2$, CuBr et $\text{Cu}(\text{OTf})_2$) ou au ruthénium

($\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$). Le diacétate de cuivre a été choisi, puisqu'il est le seul conduisant à la formation d'un produit majoritaire. Toutefois, les composés obtenus ne sont pas les composés souhaités **141** ou **142**, mais les composés ouverts **143** ou **144** (Schéma 27).

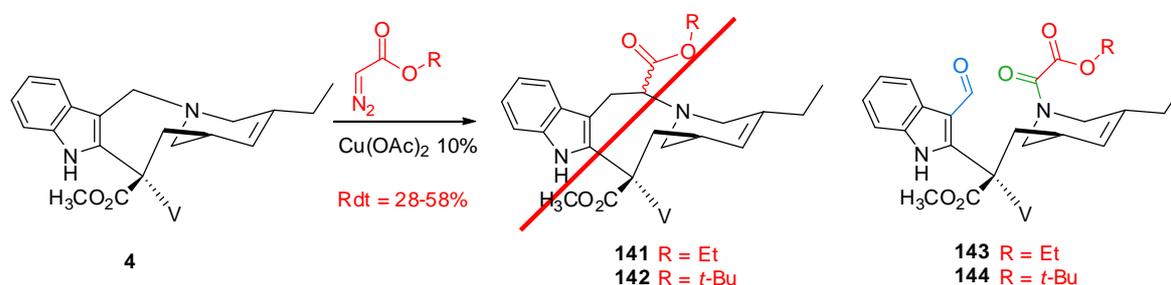


Schéma 27. Utilisation des carbènes générés *in situ*.

Afin de mieux comprendre le mécanisme de cette réaction, plusieurs conditions ont été testées, en changeant la nature du solvant, le nombre d'équivalents de diazoacétate de *tert*-butyle, le temps et la température de la réaction ou l'atmosphère gazeuse (Tableau 2).

Tableau 2. Criblage de conditions pour la mise au point de la formation de l'aldéhyde **142**^a solvants non dégazés^b l'oxygène est bullé dans la solution préalablement dégazée

Entrée	Solvant	éq. (<i>t</i> -BDA)	T (°C)	t (h)	Gaz	Composé 142
1	Toluène	4	50	20	Ar ^a	28%
2	DCM	4	50	20	Ar	-
3	Et ₂ O	4	50	20	Ar	-
4	Toluène	4	50	20	Ar	-
5	Toluène	4	50	60	-	37%
6	Toluène	4	50	12	O ₂ ^b	53%
7	Toluène	4	60	7	O ₂ ^b	58%
8	Toluène	1,5	60	20	O ₂ ^b	28%

Le toluène semble être le meilleur solvant pour cette réaction (entrée 1, 4-8). Lorsque la réaction est faite en conditions anhydres dans un solvant dégazé (entrée 4), le composé **142** ne se forme pas, tandis que la même expérience sans dégazage préalable (entrée 5) permet l'obtention du produit **142**. Cela indique que l'oxygène joue un rôle important dans la réaction. En faisant buller de l'oxygène, le temps de la réaction peut être diminué et le rendement optimisé (entrée 6). Une

légère augmentation de la température induit un meilleur rendement (entrée 7), tandis que la diminution du nombre d'équivalents de composé diazo a un effet inverse (entrée 8).

Dans le but d'empêcher la formation de l'aldéhyde de type **141** ou **142** et de favoriser le réarrangement de Stevens, l'utilisation d'un dérivé diazo disubstitué a été également envisagée (Schéma 28). Cependant la réaction de la vinorelbine **4** avec le diazoacetoacétate d'éthyle a seulement conduit au composé ouvert **143**.

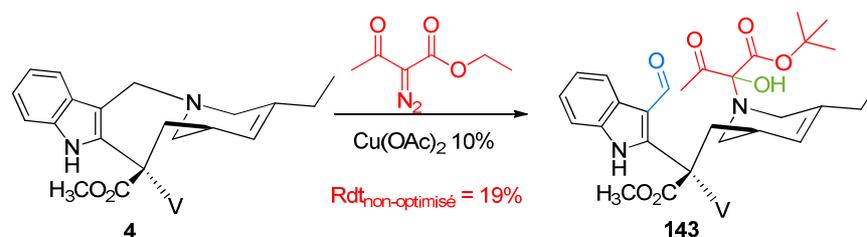


Schéma 28. Utilisation d'un composé diazo disubstitué pour les essais de réarrangement de Stevens.

Pour expliquer la formation des composés ouverts **141**, **142** et **143**, nous nous sommes intéressés aux travaux récents de Chen *et al.*,¹⁴⁷ qui ont montré qu'en présence de 20% de CuCl₂, les indoles peuvent être formylés en C-3 sous l'action de l'oxygène et d'une amine tertiaire (Schéma 29). Grâce à un marquage isotopique, les auteurs ont pu conclure que l'oxygène n'agit pas directement sur l'indole. En fait, en présence d'oxygène et du catalyseur au cuivre, l'amine tertiaire **144** est oxydée en l'intermédiaire iminium **145** en libérant de l'eau. En parallèle, la cupration de la liaison C-H en position C-3 de l'indole conduit à l'espèce réactive **146**, qui réagit avec l'iminium **145** pour former le composé **147**. Celui-ci entre dans le cycle catalytique pour former l'iminium **148**. L'hydrolyse de ce dernier par l'eau générée *in situ*, permet d'isoler le 3-formylindole **149**. Le catalyseur au Cu(II) est régénéré à partir du Cu(I) en présence d'oxygène.

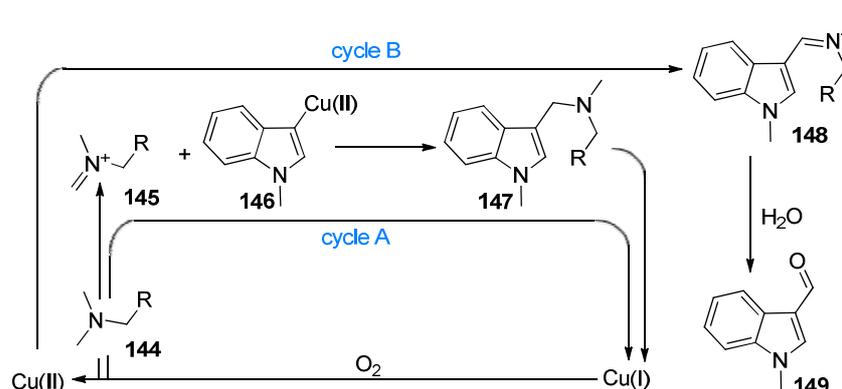


Schéma 29. Mécanisme proposé pour la synthèse de 3-formylindoles.¹⁴⁷

Par analogie avec ces résultats, la formation des composés ouverts **141**, **142** et **143** passerait, dans un premier temps, par une étape de formylation de l'indole *via* l'intermédiaire

¹⁴⁷ Chen, J., Liu, B., Liu, D., Liu, S., Cheng, J. *Adv. Synt. Catal.*, **2012**, 354, 2438-2442

iminium **152** (Schéma 30). Cet intermédiaire conduirait à l'aldéhyde **153**, qui réagirait avec le métallocarbène électrophile **151** pour donner le composé oxydé **143**.

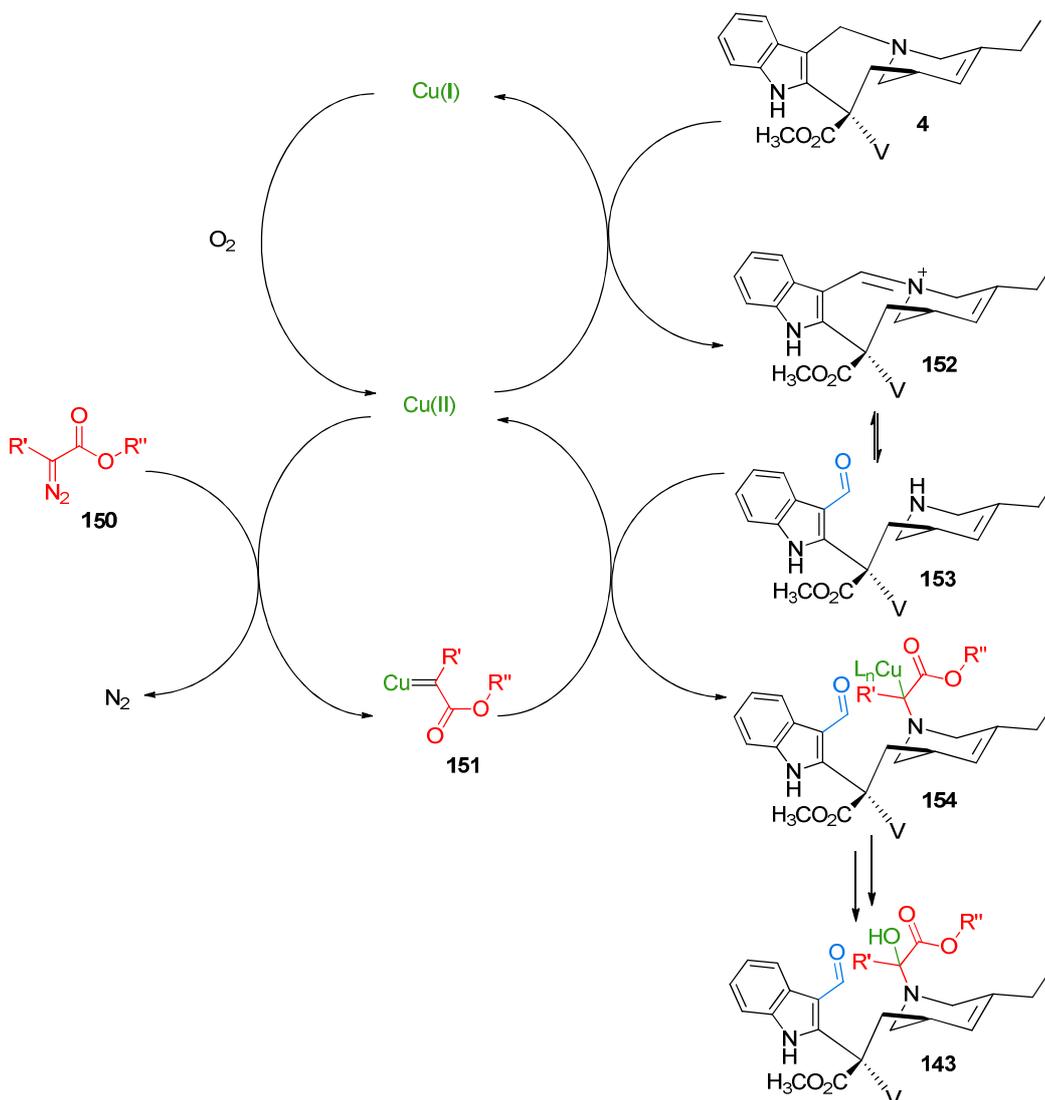


Schéma 30. Mécanisme proposé pour la formation de l'aldéhyde **143**.

Même si les composés di- ou tricarbonylés obtenus **141**, **142** et **143** ne sont pas ceux désirés, ils sont néanmoins intéressants, car des structures, ayant un motif similaires, décrites dans la littérature ont conduit à des composés cyclisés. Deux stratégies de cyclisation intramoléculaire ont été envisagées à partir de l'aldéhyde **142** (Schéma 31) : un couplage de type Wittig en utilisant des phosphites de trialkyle¹⁴⁸ (phosphite de triéthyle ou phosphite de triisopropyle) et la réaction de McMurry.¹⁴⁹

¹⁴⁸ Voir par exemple : (a) Xia, Z., Long, S., Xiao, S., Zou, X., D'Aurizio, A., Panunzio, M. *Synth. Comm.*, **2009**, *39*, 2151-2160 (b) Hanessian, S., Rozema, M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 9884-9891 (c) Seki, M., Kondo, K., Iwasaki, T. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1995**, 3-5

¹⁴⁹ Ephritikhine, M. *Chem. Comm.*, **1998**, 2549-2554

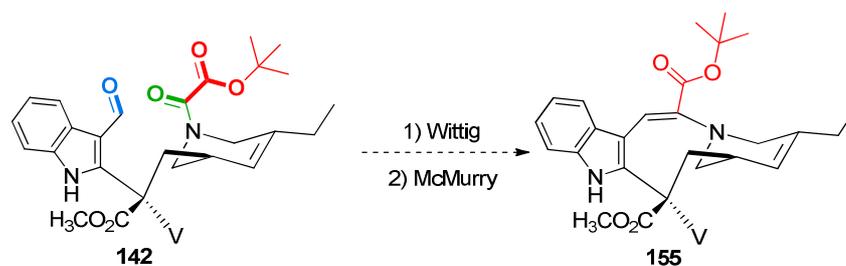


Schéma 31. Stratégies envisagées pour la cyclisation intramoléculaire de l'aldéhyde **142**.

Le phosphite de triéthyle a été utilisé de façon très élégante par l'équipe de Hanessian^{148b} et l'équipe d'Iwasaki^{148c} pour synthétiser respectivement les motifs trinem **159** et carbanem **163** (Schéma 32). Le phosphite de triéthyle s'additionne sélectivement sur l'oxoamide **161** pour conduire à l'intermédiaire **162**, qui en présence d'une base ou par chauffage réagit avec le carbonyle.

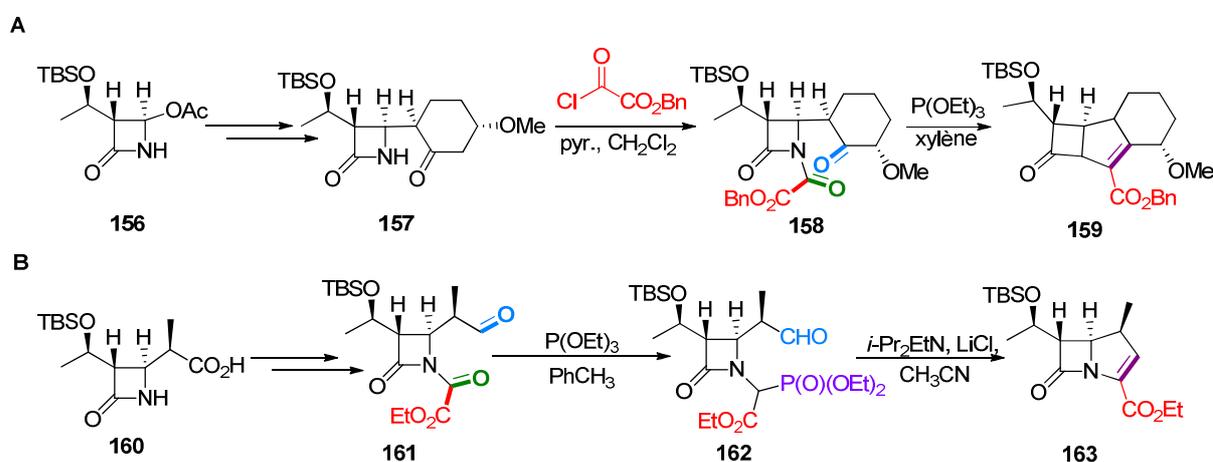


Schéma 32. Utilisation du phosphite de trialkyle. **A.** Synthèse du motif trinem par Hanessian *et al.*^{148b} **B.** Synthèse du motif carbanem par Seki *et al.*^{148c}

Nous avons appliqué cette réaction à notre substrat **142** (Schéma 33). Cependant, quelques soient les conditions utilisées (température de 90 °C à 180 °C, microondes, phosphites d'encombrement varié, nombre d'équivalents croissant) nous n'avons pas pu observer la formation du composé cyclisé **155**.

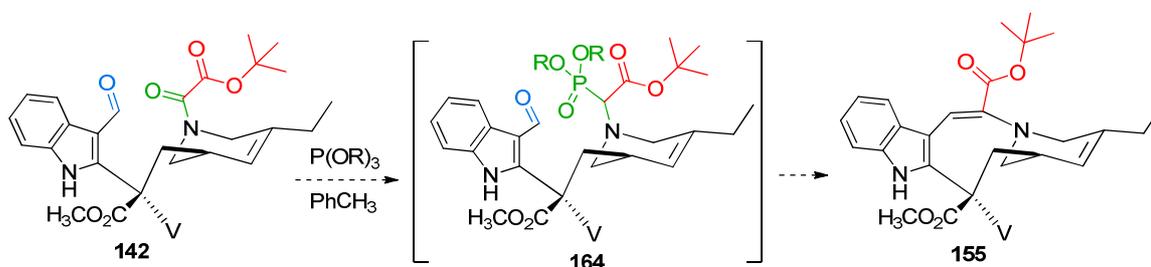


Schéma 33. Utilisation du phosphite de trialkyle pour la synthèse du composé cyclisé **155**.

Il est important de noter que, dans notre cas, contrairement aux exemples retrouvés dans la littérature, aucun groupement électro attracteur n'est lié à l'atome d'azote et son doublet non liant

reste délocalisable. Cela semble empêcher la formation de l'intermédiaire **164** et donc la cyclisation.

Afin de contourner le manque de réactivité du groupement amide, la réaction de McMurry¹⁴⁹ en présence du chlorure de titane (IV) et du zinc a été essayée pour obtenir le composé **155**. A part les aldéhydes et les cétones, cette réaction est compatible avec des substrats de type oxoesters ou oxoamides **165** (Schéma 34).¹⁵⁰

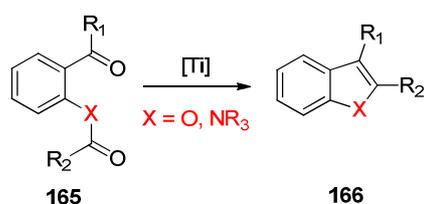


Schéma 34. Exemple de réaction de McMurry.¹⁵⁰

Toutefois, l'aldéhyde **142** s'est avéré être très stable, puisque, quelques soient les conditions utilisées, il a été retrouvé intact dans les bruts réactionnels (Schéma 35).

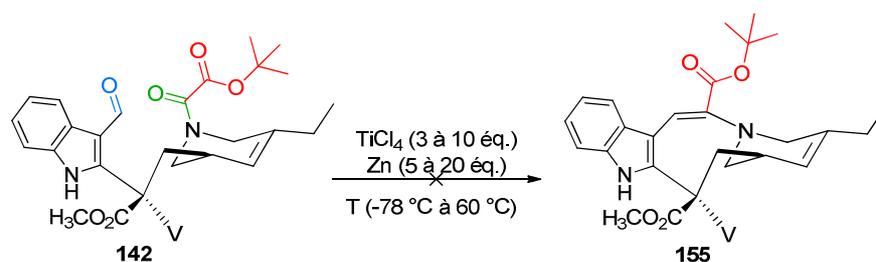


Schéma 35. Essais de synthèse du composé **155** par réaction de McMurry.

3. CONCLUSION

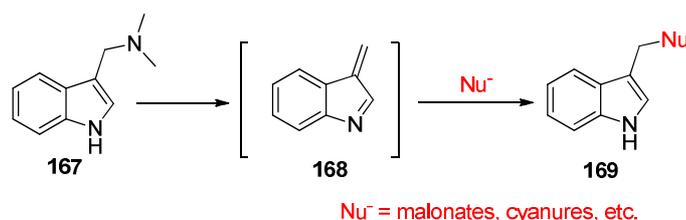
Compte tenu des résultats obtenus lors des essais de réarrangement de Stevens, nous pouvons conclure que l'ouverture du pont gramine et/ou la formation du méthylène indolénine se font plus facilement que la rupture homolytique de la liaison azote-carbone. Ce qui semble indiquer que le réarrangement de Stevens est, à priori, défavorisé dans notre cas. C'est pourquoi, par la suite, nous avons choisi d'explorer la réactivité de l'intermédiaire méthylène indolénine, en nous intéressant au réarrangement de Somei-Kametani.

¹⁵⁰ Fürstner, A., Hupperts, A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 4468-4475

C. REARRANGEMENT DE SOMEI-KAMETANI

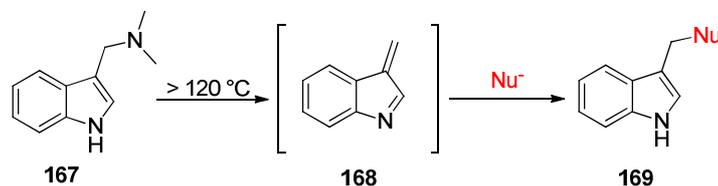
4. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

Le groupement diméthylamine de la gramine **167** est connu dans la littérature pour être un excellent groupe partant, formant des intermédiaires méthylène-indolénine de type **168** qui peuvent être piégés par des nucléophiles variés *via* une réaction de Michael (Schéma 36).¹⁵¹

Schéma 36. Réarrangement de Somei-Kametani.¹⁵²

Plusieurs méthodes, permettant de générer et fonctionnaliser l'intermédiaire **168**, sont décrites dans la littérature :¹⁵²

✓ *Températures supérieures à 120 °C.* Le chauffage de la gramine **167** à des températures supérieures à 120 °C induit la formation spontanée de l'intermédiaire méthylène-indole **168**, qui peut être ensuite piégé par différents nucléophiles (Schéma 37).

Schéma 37. Réarrangement de Somei-Kametani à haute température.¹⁵²

✓ *Utilisation de la tri n-butylphosphine.* En 1981, Somei¹⁵³ et Kametani¹⁵⁴ ont mis au point indépendamment une méthode alternative, de monofonctionnalisation de gramines par des nucléophiles variés avec d'excellents rendements à haute température (Schéma 38). Cette réaction se fait en présence de tri n-butylphosphine qui est peu basique, relativement difficilement oxydable pour une phosphine tertiaire et très nucléophile.¹⁵⁵

¹⁵¹ Voir par exemple : (a) Palmieri, A., Petrini, M., Shaikh, R. R., *Org. Biomol. Chem.*, **2010**, *8*, 1259-1270 (b) Williams, R. M., Cao, J., Tsujishima, H., Cox, R. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 12172-12178

¹⁵² Jones, D., Artman, G. D., Williams, R. M. *Tetrahedron Lett.*, **2007**, *48*, 1291-1294

¹⁵³ Somei, M., Karasawa, Y., Kaneko, C. *Heterocycles*, **1981**, *16*, 941-949

¹⁵⁴ (a) Kametani, T., Kanaya, N., Ihara, M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1981**, 959-963 (b) Kametani, T., Huang, S. P., Nagahara, T., Yokohama, S., Ihara, M. *Ibid*, 964-968 (c) Kametani, T., Kanaya, N., Ihara, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 3972-3975

¹⁵⁵ Pour d'autres utilisations de la tri n-butyl phosphine sur des gramines voir : (a) Rainier, J. D., Kennedy, A. R. *J. Org. Chem.*, **2000**, *65*, 6213-6216 (b) Low, K. H., Magodemov, N. A. *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 2003-2005

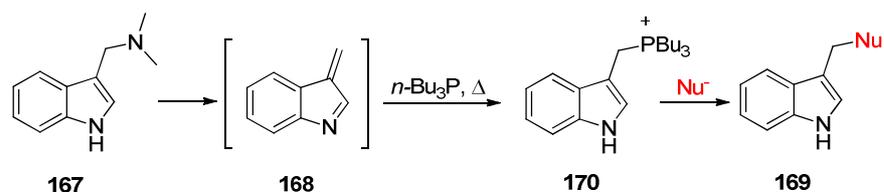


Schéma 38. Réarrangement de Somei-Kametani en présence de la *n*-Bu₃P.¹⁵²

La première étape du mécanisme (Schéma 39) est la perte de la diméthylamine (ou de diméthylamidure). Les intermédiaires méthylène-indolénine **168** ou **171** sont piégés par la tri-*n*-butylphosphine pour donner les sels de phosphonium **170** ou **172** sensibles aux attaques nucléophiles.

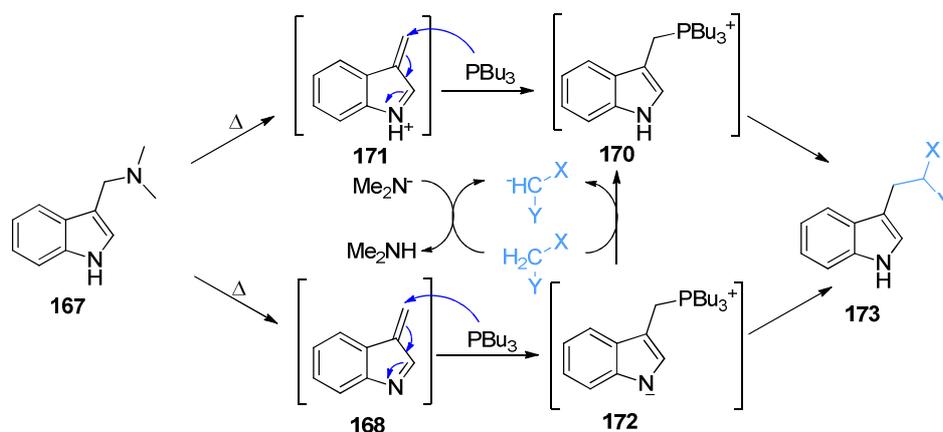


Schéma 39. Mécanisme proposé pour le réarrangement de Somei-Kametani en présence de *n*-Bu₃P.

Somei a postulé que le carbanion du nucléophile se coordonne à l'atome de phosphore du phosphonium **172** dans un état de transition **174** (Schéma 40), ce qui le rapproche du carbone électrophile adjacent.

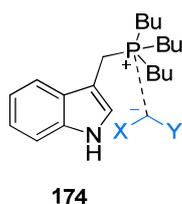


Schéma 40. Coordination entre le carbanion et le phosphonium.

Plus récemment, la même réaction a été réalisée avec succès en utilisant un organocatalyseur à base d'alcaloïdes de cinchona.¹⁵⁶

✓ *Quaternarisation de la gramine.* Une alternative plus douce consiste à déprotéger les gramines N-silylées **175** (Schéma 41). L'ammonium quaternaire **176** est formé en présence

¹⁵⁶ Dubey, N., Olenyuk, B. *Tetrahedron Lett.*, **2010**, 51, 609-612

d'iodure de méthyle ou de sulfate de méthyle. Il subit une élimination spontanée sous l'action du TBAF et génère l'intermédiaire méthylène-indolénine **168** sensible aux attaques nucléophiles.¹⁵⁷

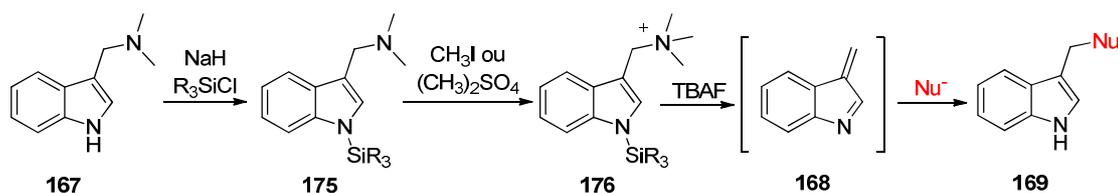


Schéma 41. Réarrangement de Somei-Kametani par quaternisation des gramine N-silylées.

✓ En présence d'acétylènes activés. S'inspirant des travaux de Sainsbury *et coll.*,¹⁵⁸ Jones *et al.* ont réussi à générer l'intermédiaire **168** en utilisant du propiolate d'éthyle (Schéma 42).¹⁵² Le mécanisme proposé passe par une addition conjuguée de l'azote de la gramine **167**, pour conduire au zwitterion **177**. L'élimination de l'énamine **178** permet ensuite d'accéder à l'indolénine **168** sur lequel un nucléophile peut s'additionner.

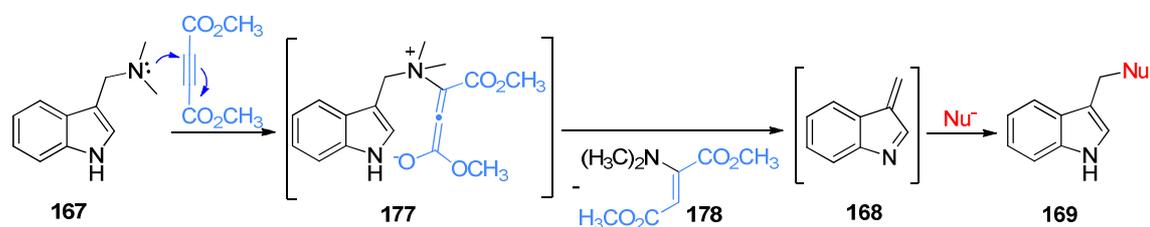


Schéma 42. Réarrangement de Somei-Kametani en utilisant des acétylènes activés.

5. RESULTATS

Nous avons essayé d'insérer la chaîne peptidique *via* un réarrangement de Somei-Kametani en utilisant la propriété du pont gramine à s'ouvrir sous l'effet d'un nucléophile. Notre objectif a été de synthétiser les intermédiaires **180** et **181** puis de les soumettre aux différentes conditions du réarrangement de Somei-Kametani pour refermer le cycle C' (Schéma 43).

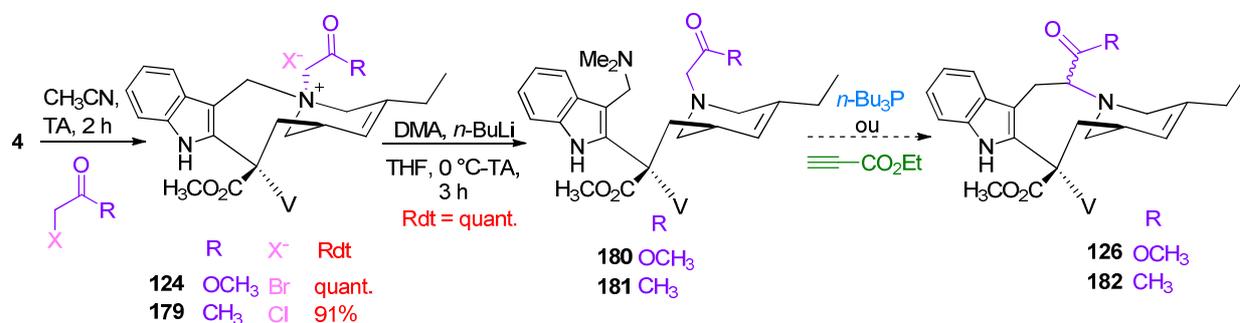


Schéma 43. Stratégie envisagée pour le réarrangement de Somei-Kametani.

¹⁵⁷ Mesequer, B., Alonso-Diaz, D., Griebenow, N., Herget, T., Waldmann, H. *Chem. Eur. J.*, **2000**, 6, 3943-3957

¹⁵⁸ Hogan, I., Jenkins, P., Sainsbury, M. *Tetrahedron*, **1990**, 46, 2943-2964

Pour synthétiser les gramines **180** et **181**, nous avons, dans un premier temps, préparé les ammoniums quaternaires **124** et **179** à partir de la vinorelbine **4** et d'un équivalent de bromoacétate de méthyle ou de chloroacétone. Les gramines **180** et **181** ont été obtenues avec un rendement quantitatif, à partir des ammoniums quaternaires en utilisant un excès (2,5 équivalents) de diméthylamidure de lithium formée *in situ*. Ces composés sont instables et ne peuvent pas être purifiés, c'est pourquoi il est préférable que la réaction soit totale. L'identification des composés attendus n'a pas été triviale. En effet, si les spectres RMN ^1H de composés **180** et **181** indiquent que le proton H-3' est très blindé, ce qui correspondrait à un composé ouvert, la valeur du pic moléculaire en mode positif (ESI $^+$) du composé **180** est identique à celle du produit départ. En électrospray, le groupement diméthylamine de **180** se protonne dans la source (Schéma 44), pour former le cation **183**, qui se fragmenterait pour conduire au cation **184** dont la masse est identique à celle de l'ammonium quaternaire de départ. Finalement, c'est l'analyse des spectres RMN 2D qui nous a permis d'identifier sans ambiguïté les composés ouverts **180** et **181**.

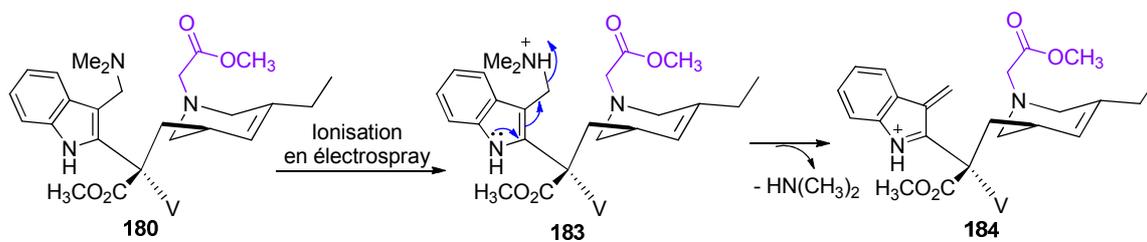


Schéma 44. Fragmentation du composé **180** en électrospray.

(1) Utilisation de la *n*-Bu $_3$ P

Des essais de cyclisation (Schéma 45) ont été effectués sur le dérivé **180** en utilisant les conditions mises au point par l'équipe de Williams^{151b} (tri *n*-butylphosphine (0,7 éq.) dans l'acétonitrile sec en présence de tamis 4 Å, à reflux pendant 24 heures). La disparition du produit de départ a été observée au profit d'un nouveau composé, qui se dégrade dans le temps. Des études par CLHP nous ont permis de déterminer qu'il s'agit de l'intermédiaire phosphonium ouvert **185**. La même réaction réalisée en absence de tamis moléculaire n'a conduit qu'à des composés de dégradation.

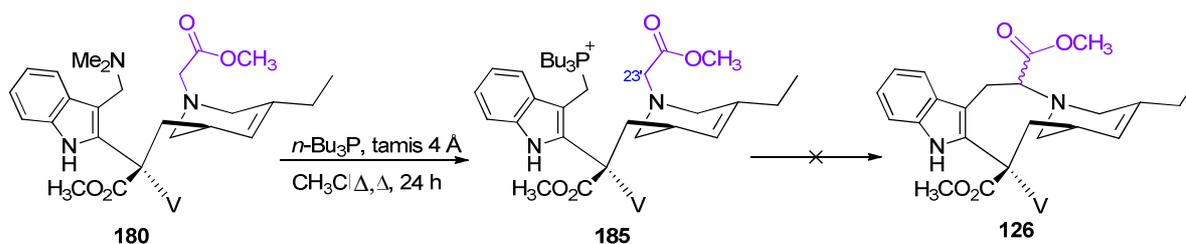


Schéma 45. Utilisation de la *n*-Bu $_3$ P pour le réarrangement de Somei-Kametani.

Ces résultats indiquent que si l'intermédiaire phosphonium **185** se forme, le diméthylamidure formé *in situ*, ne peut pas arracher le proton H-23' qui n'est pas suffisamment acide. Cependant, en ajoutant 1,5 équivalents de LDA, seuls des composés de dégradation sont obtenus.

L'intermédiaire **185** reste toutefois valorisable. En effet, en 2005 Mogamedov *et coll.*¹⁵⁹ ont montré que les gramines peuvent réagir avec des carbonyles en présence de tri *n*-butylphosphine par réaction de Wittig, pour donner des 3-vinylindoles **187**. Le mécanisme proposé (Schéma 46) passe par un intermédiaire méthylène-indolénine **168**, qui sous l'action de la tri *n*-butylphosphine peut donner le phosphorane **172**. En présence de composés carbonylés, l'ylure de phosphore **186** réagit selon une réaction de Wittig classique pour donner les vinylindoles **187**.

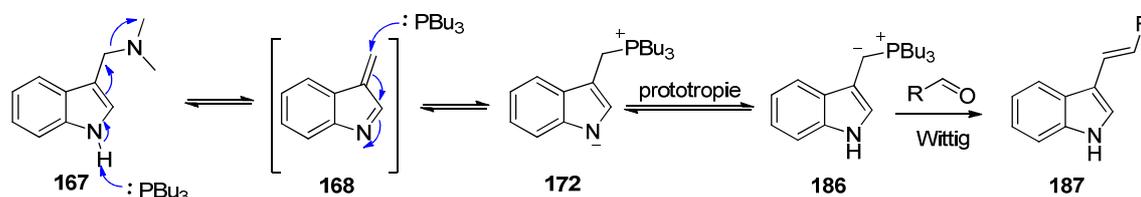


Schéma 46. Utilisation de la *n*-Bu₃P pour la synthèse de 3-vinylindoles.¹⁵⁹

Ces conditions ont été utilisées pour les essais de cyclisation du dérivé **181** possédant d'un côté, le motif gramine et, de l'autre côté, le groupement cétone (Schéma 47). Malheureusement, à la fin de la réaction, un mélange complexe de composés a été obtenu. Son analyse par CLHP ne nous pas permis d'identifier le composé attendu **188**.

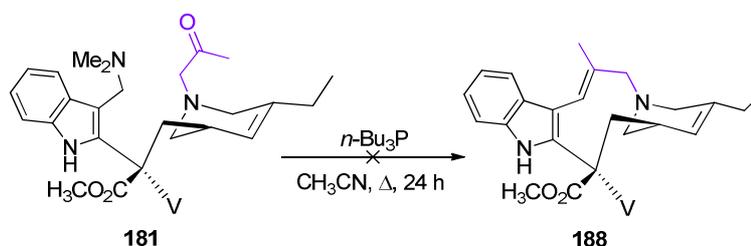


Schéma 47. Fermeture du cycle C' par réaction de Wittig.

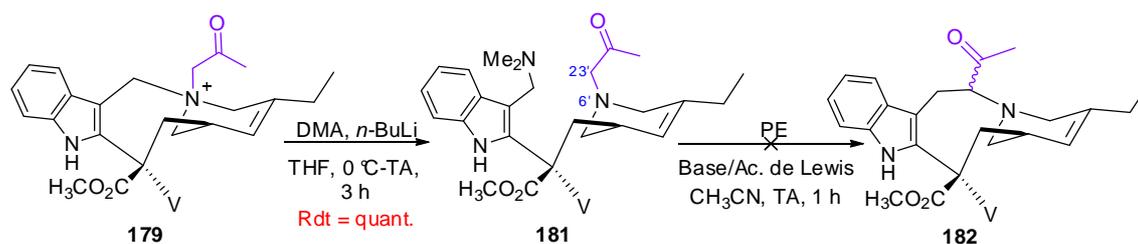
(2) Utilisation du propiolate d'éthyle

Par la suite, nous avons appliqué les conditions décrites par Jones *et al.* au dérivé **181**.¹⁵²

Compte-tenu de notre difficulté à activer la position C-23', la réaction avec le propiolate d'éthyle a été accompagnée de l'utilisation d'une base ou d'un acide de Lewis favorisant la formation d'un intermédiaire énol. Les résultats sont regroupés dans le Tableau 3.

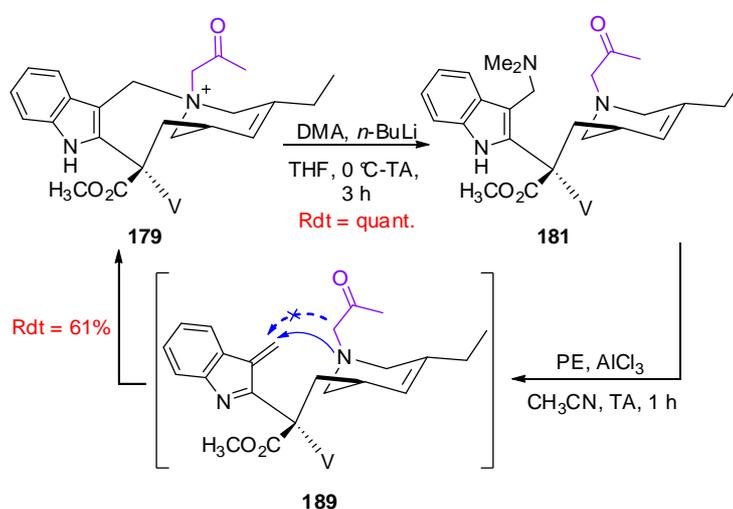
¹⁵⁹ Low, K. H., Magomedov, N. A. *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 2003-2005

Tableau 3. Criblage de bases et acides de Lewis pour le réarrangement de Somei-Kametani en présence de propiolate d'éthyle



Entrée	Base ou acide de Lewis	Résultat	Rdt
1	LDA	Produit de départ 181	-
2	TMSOTf	Produit de départ 181	-
3	AlCl ₃	Ammonium quaternaire 179	61%
4	BF ₃ .Et ₂ O	Dégradation	-
5	TiCl ₄	Dégradation	-
6	AgBF ₄	Mélange complexe	-

Malheureusement, quelle que soit la base ou l'acide de Lewis utilisé, le composé attendu **182** n'a pu être isolé. Néanmoins, nous avons pu remarquer que le chlorure d'aluminium induit la formation de l'ammonium quaternaire **179** (Schéma 48). Cela indique que le propiolate d'éthyle permet de générer l'intermédiaire méthylène-indolénine souhaité **189**. Cependant, l'acide de Lewis exalte la nucléophilie de l'amine tertiaire au détriment de la position 23'. Ainsi, cette voie de synthèse semble, a priori, inexploitable.


 Schéma 48. Utilisation du propiolate d'éthyle suivi d'AlCl₃ pour le réarrangement de Somei-Kametani.

3. CONCLUSION

Les essais infructueux de réarrangement de Somei-Kametani nous ont permis de conclure que l'intermédiaire méthylène-indolénine peut être généré facilement. En le piégeant par la tri *n*-butylphosphine, le phosphonium ouvert **185** a pu être détecté. Celui-ci se dégrade au cours du temps, indiquant que la position 23' est peu réactive.

De surcroît, lors de l'utilisation du propiolate d'éthyle en présence du chlorure d'aluminium, l'ammonium quaternaire **179** a été obtenu. Cela indique que l'amine tertiaire en N-6' est plus nucléophile que la position 23'. Face à ce manque de réactivité et dans le but d'augmenter la nucléophilie de la position 23', une insertion par organocatalyse a donc été envisagée.

E. INSERTION PAR ORGANOCATALYSE

1. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

L'utilisation de petites molécules organiques en tant que catalyseurs énantiosélectifs a connu un intérêt croissant depuis le début des années 2000, grâce aux conditions douces dans lesquelles ces transformations sont effectuées, ainsi que à la grande disponibilité et au coût peu élevé des catalyseurs. Par conséquent, l'organocatalyse asymétrique est maintenant considérée comme l'un des « piliers » de la catalyse énantiosélective et est de plus en plus utilisée dans les étapes clés de synthèse totale de produits naturels complexes.¹⁶⁰

Parmi les modes d'activation connus, l'un des plus étudié est le passage par un intermédiaire énamine.¹⁶¹ Ainsi, les aldéhydes et les cétones énolisables peuvent être fonctionnalisés, en présence d'amines, par une grande variété d'électrophiles. Le cycle catalytique (Schéma 49) passe par la formation de l'iminium **192**, qui se transforme en intermédiaire clé énamine **193**. La réaction de celle-ci avec un électrophile génère un iminium **194**, dont l'hydrolyse libère le produit fonctionnalisé **195** et le catalyseur amine **190** qui peut réintégrer le cycle catalytique. L'énantiosélectivité de la réaction est contrôlée par l'attaque de l'énamine sur l'électrophile. D'où l'intérêt d'utiliser des catalyseurs fonctionnalisés par des groupements L encombrants, chargés ou capables de former des liaisons hydrogènes.

¹⁶⁰ Pour des revues récentes voir : (a) Moyano, A., Rios, R. *Chem. Rev.*, **2011**, *111*, 4703-4832 (b) Alba, A. N., Companyó, X., Viciano, M., Rios, R. *Curr. Org. Chem.*, **2009**, *13*, 1432-1474 (c) Bertelsen, S., Jørgensen, K. A. *Chem. Soc. Rev.*, **2009**, *38*, 2178-2189 (d) MacMillan, D. W. C. *Nature*, **2008**, *455*, 304-308 (e) Dondoni, A., Massi, A. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, *47*, 4638-4660 (f) Melchiorre, P., Marigo, M., Carlone, A., Bartoli, G. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, *47*, 6138-6171

¹⁶¹ Mukherjee, S., Yang, J. W., Hoffmann, S., List, B. *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, 5471-5569

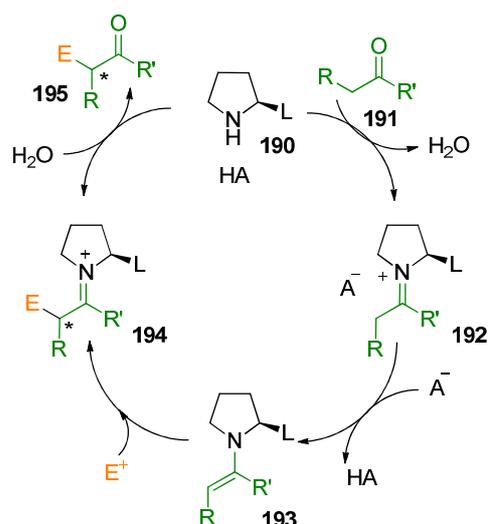


Schéma 49. Cycle catalytique pour la fonctionnalisation en α de carbonyles en présence d'une amine chirale.

Les organocatalyseurs utilisés pour ce type de fonctionnalisation sont très variés. Beaucoup parmi eux sont des dérivés de la pyrrolidine **196** (Figure 56).

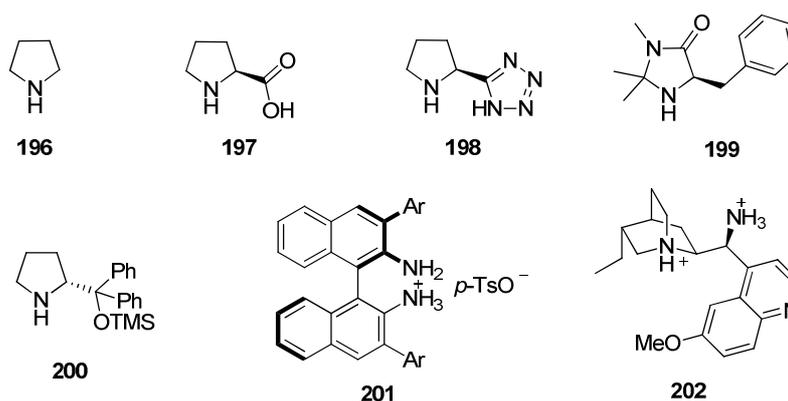


Figure 56. La pyrrolidine **196** et quelques organocatalyseurs utilisés pour la catalyse imine-énamine.

2. RESULTATS

Lors des essais de réarrangement de Stevens ou de réarrangement de Somei-Kametani, nous avons été confrontés au manque de réactivité des protons en C-23'. Afin de contourner cette difficulté, nous avons envisagé de passer par un intermédiaire clé énamine **83** (Schéma 50). Nous avons supposé que celui-ci, pourrait attaquer la position électrophile du pont gramine, ce qui serait favorisé par le départ de diméthylamine. De plus, si le catalyseur est convenablement choisi, l'attaque de l'énamine pourrait se faire de façon énantiosélective, donc la stéréochimie du nouveau centre asymétrique pourrait être contrôlée.

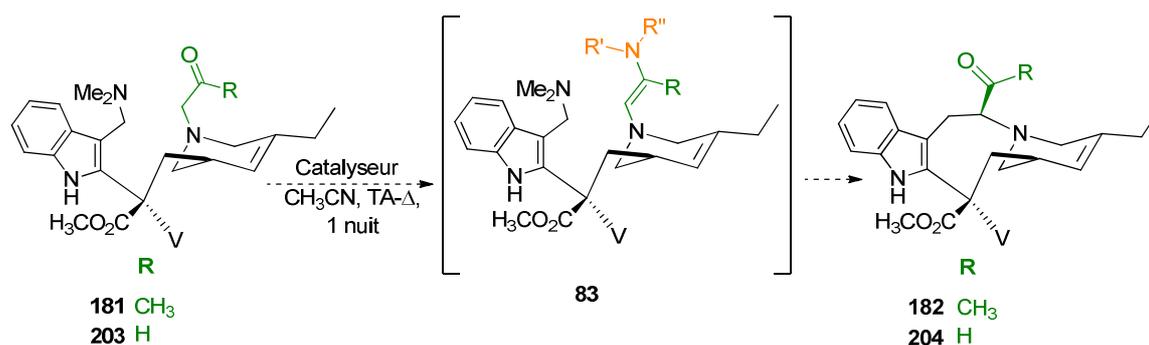


Schéma 50. Stratégie envisagée pour la fermeture du cycle C' par organocatalyse.

La synthèse de l'ammonium quaternaire cétone **179** étant déjà mise au point (voir Schéma 43) la formation de l'ammonium quaternaire aldéhyde **205** a été étudiée. Cette réaction s'est avérée délicate, puisque la réaction de la vinorelbine **4** avec le 2-chloroacétaldehyde n'est jamais totale et cela quel que soit le nombre d'équivalents de 2-chloroacétaldehyde employé. De plus, l'ammonium quaternaire aldéhyde **205** se dégrade sur colonne de silice, ce qui rend difficile sa caractérisation et son utilisation pour l'étape d'organocatalyse.

Pour éviter les réactions secondaires dues à la contamination du produit de départ à l'étape d'organocatalyse, des méthodes de synthèse en deux étapes de l'ammonium quaternaire aldéhyde **205** ont été envisagées (Schéma 51). L'avantage de ces méthodes est que les ammoniums quaternaires **132**, **206–209** peuvent être purifiés avant d'être transformés et que leur conversion en dérivé aldéhyde **205** devrait être totale, évitant ainsi son purification.

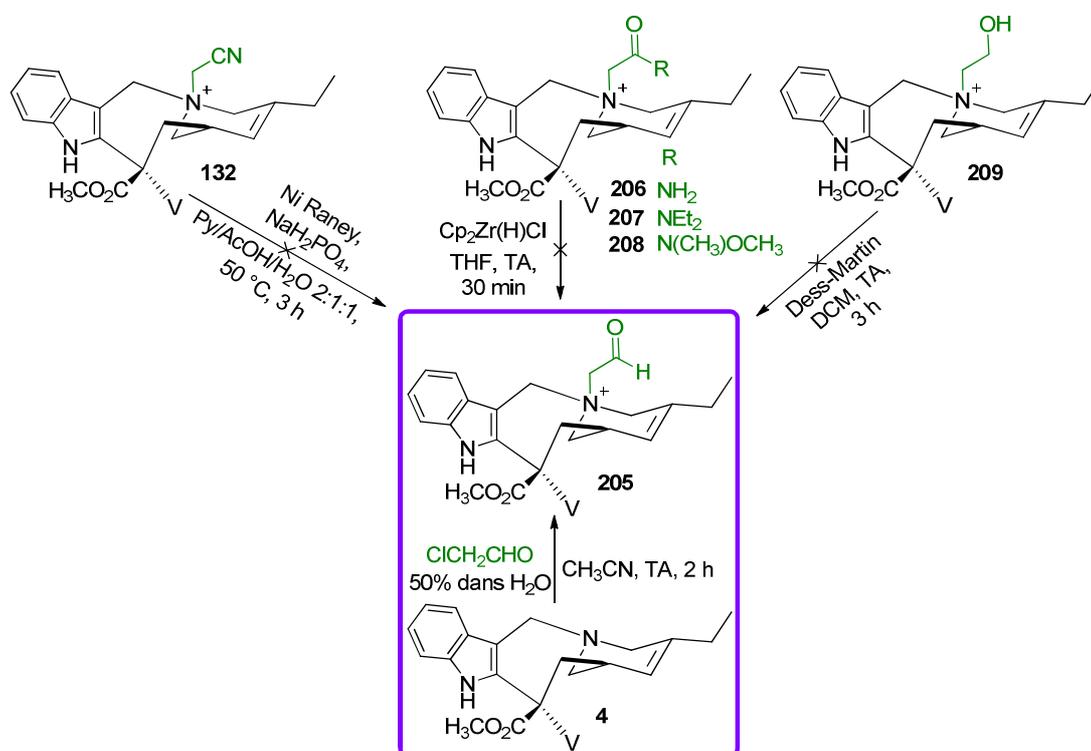


Schéma 51. Différentes voies de synthèse de l'ammonium quaternaire aldéhyde **205**.

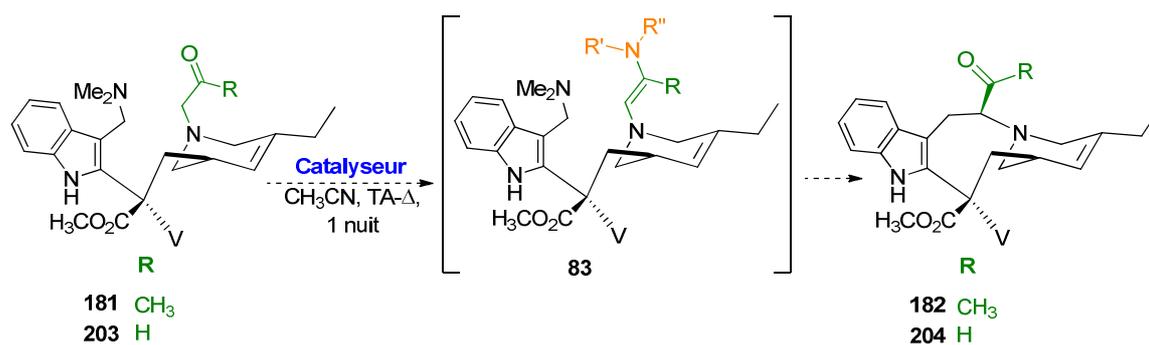
Pour synthétiser l'aldéhyde **205**, plusieurs voies synthétiques ont été essayées : l'hydrozirconation des amides **206-208** en présence du réactif de Schwartz,¹⁶² l'hydrolyse puis la réduction du dérivé nitrile **132** en présence du nickel de Raney¹⁶³ ou l'oxydation de l'alcool correspondant **209**¹⁶⁴. Aucune de ces voies ne nous a permis d'obtenir le dérivé aldéhyde souhaité **205**, nous contraignant à garder les conditions premières. Ainsi, pour l'étape d'ouverture du pont gramine, nous avons utilisé d'un côté le dérivé cétone **179** purifié, et de l'autre côté, le brut réactionnel obtenu lors de la réaction de la vinorelbine **4** avec le 2-chloroacétaldehyde. Les composés ouverts **181** et **203**, ne pouvant être purifiés à cause de leur dégradation sur colonne de silice, ont été directement engagés dans l'étape d'organocatalyse.

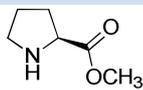
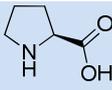
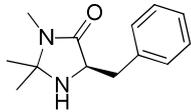
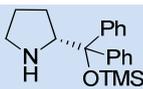
Plusieurs organocatalyseurs ont été essayés : la pyrrolidine **196**, la L-proline **197**, le catalyseur de MacMillan **199** et les dérivés **200** et **210** (Tableau 4), mais ni la formation de l'intermédiaire énamine **83**, ni celle des composés d'insertion n'ont été observées.

¹⁶² Spletstoser, J. T., White, J ; M., Tunoori, A. R., Georg, G. I. *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 3408-3419

¹⁶³ Campagnone, R., Rapoport, H. *J. Org. Chem.*, **1986**, *51*, 1713-1719

¹⁶⁴ Dess, D. B., Martin, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7277-7287

Tableau 4. Organocatalyseurs utilisés pour la fonctionnalisation par organocatalyse


Entrée	Catalyseur	Résultat
1	 196	Produit de départ 82
2	 210	Produit de départ 82
3	 197	Dégradation
4	 199	Dégradation
5	 200	Dégradation

Plusieurs essais de fonctionnalisation par organocatalyse ont ainsi été effectués sans résultat encourageant. Cette voie de synthèse a donc été abandonnée.

F. CONCLUSION

Dans ce premier chapitre, nous avons présenté les résultats obtenus en tentant d'insérer un précurseur de la chaîne latérale de la phomopsine, dans le pont gramine de la vinorelbine **4** selon trois stratégies distinctes : le réarrangement de Stevens, le réarrangement de Somei-Kametani et l'insertion par organocatalyse (Figure 57).

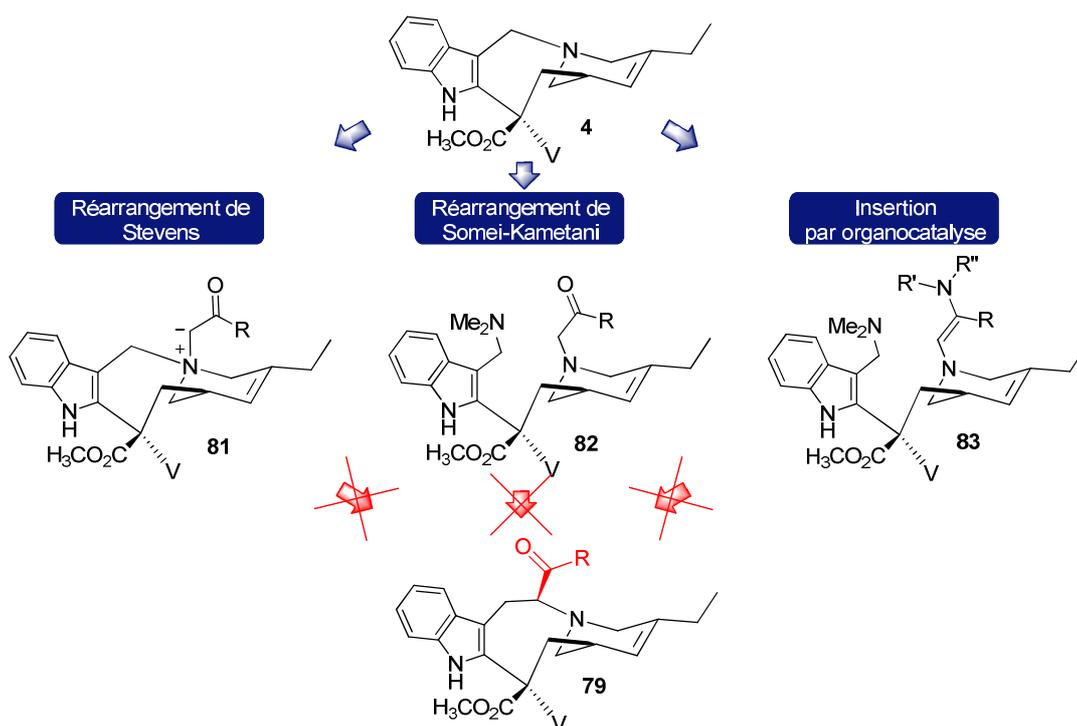


Figure 57. Les trois voies synthétiques envisagées pour la synthèse des dérivés 79.

Aucune des trois stratégies n'a conduit aux composé désiré **79**. Les études portant sur le réarrangement de Stevens nous ont permis de synthétiser plusieurs dérivés des vinca-alcoïdes avec un cycle C' ouvert et de montrer que la rupture homolytique de la liaison N-6'-C-23' n'a pu se faire quelques soient les conditions utilisées. Ainsi, cette voie de synthèse, semble, à priori, inexploitable dans notre cas.

Les essais de réarrangement de Somei-Kametani ont été réalisés en utilisant différentes conditions pour générer l'intermédiaire méthylène-indolénine. Ils n'ont pas abouti aux composés d'insertion souhaités, à cause d'une compétition entre la nucléophilie de l'amine tertiaire en N-6' et celle de C-23'. Cependant, nous avons remarqué que l'intermédiaire méthylène-indolénine des vinca-alcoïdes est généré sélectivement dans des conditions douces. Nous avons décidé de mettre à profit cette réactivité, qui fera l'objet d'une étude plus approfondie, dans le chapitre suivant.

Finalement, l'insertion par organocatalyse n'a pas abouti aux composés souhaités.

Les hybrides vinblastine-phomopsine avec un cycle C' à 9 chaînons n'ont pas pu être obtenus, malgré les différentes stratégies considérées.

II. DERIVES FONCTIONNALISES DE LA 7'-HOMO-ANHYDROVINBLASTINE¹⁶⁵

A. INTRODUCTION ET OBJECTIFS

Au cours de nos travaux sur le réarrangement de Somei-Kametani dans les conditions décrites par Williams *et coll.*¹⁵² nous nous sommes demandés si la vinorelbine **4**, qui possède un motif gramine, ne pourrait pas réagir avec des acétylènes activés, comme le propiolate d'éthyle (PE) ou l'éthylènedicarboxylate de diméthyle (DMAD) (Figure 58).

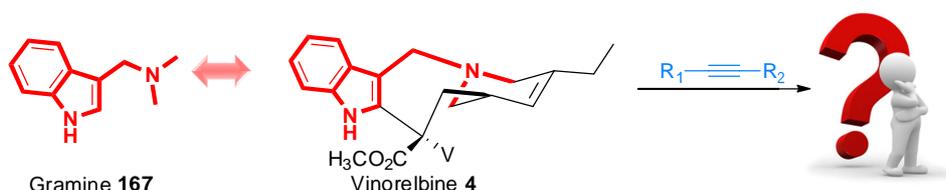


Figure 58. Réaction hypothétique entre la vinorelbine et des acétylènes activés.

En effet, dans le cas d'une gramine simple **167** (Schéma 52), l'atome d'azote N-11 s'additionne spontanément sur un acétylène activé par une réaction de Michael et génère un intermédiaire « allénique » instable **177**, qui se décompose spontanément en énamine **178** et indolénine **168** sensible aux attaques nucléophiles.

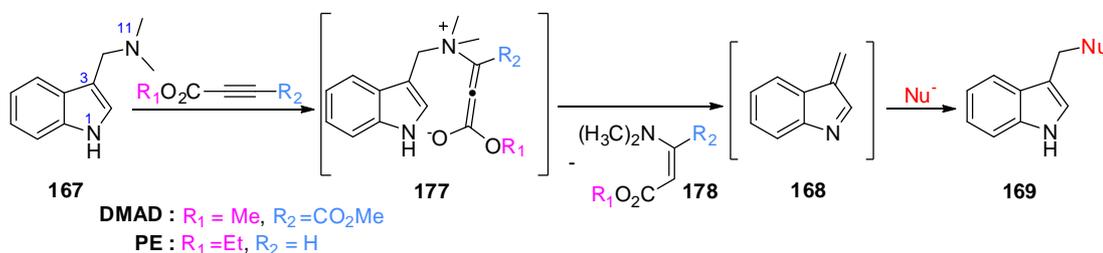


Schéma 52. Réaction entre la gramine **167** et des acétylènes activés.

Nous avons postulé que la vinorelbine **4** en présence de DMAD ou de PE pourrait réagir de la même manière que la gramine **167** et conduire à un intermédiaire zwitterionique **211** (Figure 59) possédant une partie nucléophile, l'énamine « allénique », et une partie électrophile, l'« indoléninium ».

¹⁶⁵ Gherbovet, O., Coderch, C., García Alvarez, M. C., Bignon, J., Thoret, S., Martin, M.-T., Guéritte, F., Gago, F., Roussi, F. *J. Med. Chem.*, **2013**, *56*, 6088-6100

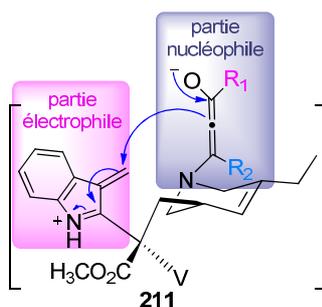


Figure 59. Intermédiaire zwitterionique 211.

L'addition intramoléculaire de la partie nucléophile sur l'« indolium » devrait conduire à des analogues fonctionnalisés de l'anhydrovinblastine homologués d'un carbone **212**. En fonction de la nature des groupements introduits, il pourrait être envisagé de greffer sélectivement en position C-8' ou C-7' la chaîne latérale de la phomopsine A **6**, afin d'obtenir les hybrides vinblastine-phomopsine **213** ou **214** (Figure 60).

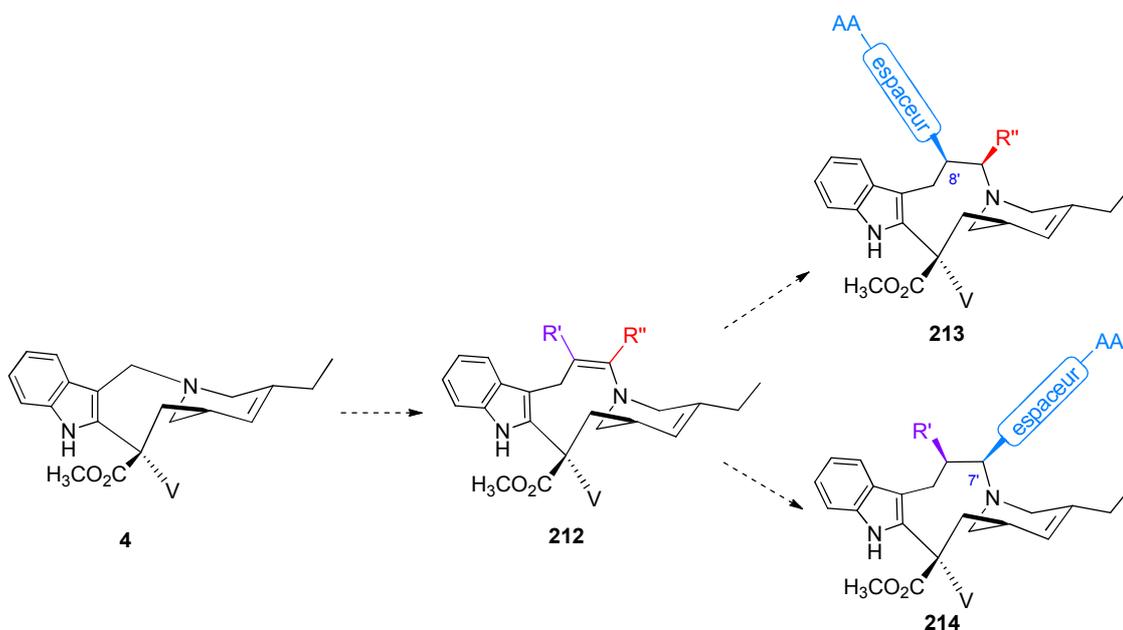


Figure 60. Stratégie envisagée pour la synthèse d'hybrides en C-7' ou C-8'.

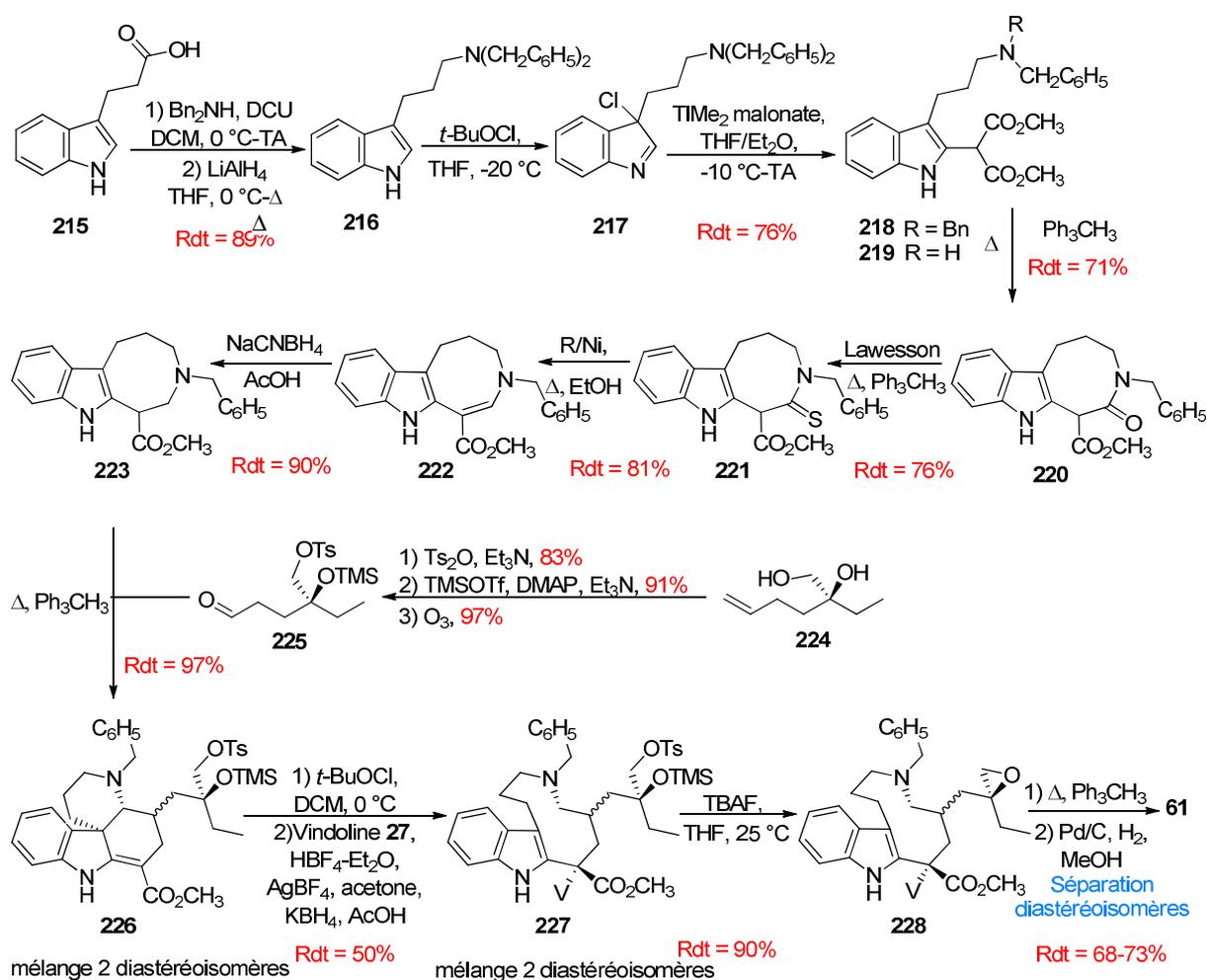
Nous nous sommes, dans un premier temps intéressés à l'étude et au développement de cette réaction d'insertion en version monotope.

B. REACTION D'INSERTION

1. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

A) LA 7'-HOMO-VINBLASTINE

Malgré les nombreuses études de pharmacomodulation qui ont été effectuées sur les vincalcoïdes, il n'existe dans la littérature, qu'un seul exemple, de dérivé homologué en 7' de la vinblastine (voir chapitre II.C.5). Celui-ci a été obtenu par l'équipe de Kuehne, par synthèse totale en douze étapes à partir de l'acide indole-3-propionique **215** et de l'alcène **224** (Schéma 53).¹⁰⁹



La N,N-dibenzyl-homo-tryptamine **216** est obtenue par amidation de l'acide **215**, suivie d'une réduction au LiAlH₄. Sa chloration avec de l'hypochlorite de *tert*-butyle conduit à la chloroindolénine **217**, qui, en présence de diméthylmalonate de thallium, donne le 2-indoylemalonate **218** avec un rendement de 76% sur deux étapes. L'hydrogénolyse de celui-ci, suivi de la cyclisation thermique de l'amine secondaire **219** permet d'isoler le lactame ester **220**, qui est

transformé en thiolactame **221** grâce à l'utilisation du réactif de Lawesson. Le thiolactame **221** est ensuite traité avec du nickel de Raney pour conduire au 1,2,3,4-tetrahydroazocine **222**, qui peut être réduit jusqu'à l'indoloazocine **223**. La condensation du composé **223** avec l'aldéhyde protégé **225** conduit à l'intermédiaire **226** sous forme d'un mélange de deux diastéréoisomères. Le couplage avec la vindoline **27** permet d'isoler l'éther silylé **227** (en mélange de deux diastéréoisomères). Le traitement par le fluorure de tributylammonium conduit au mélange d'époxydes **228**. La cyclisation, puis la réduction de **228** conduisent à un mélange dont la 7'-homo-vinblastine **61** a pu être séparée.

La 7'-homo-vinblastine **61** inhibe la polymérisation de la tubuline à une concentration similaire à celle de la vinblastine, tandis que son activité cytotoxique ($CI_{50-L1210-61} = 50 \text{ nM}$) est inférieure ($CI_{50-L1210-VLB} = 1 \text{ nM}$). L'agrandissement du cycle C' n'est donc pas préjudiciable à l'activité sur tubuline.

Ces résultats bibliographiques nous ont conforté dans l'idée que des dérivés de la 7'-homo-vinblastine **61** fonctionnalisés au niveau du cycle C' en position C-7' et C-8' devraient être actifs, surtout si les groupements fonctionnels sont orientés, au sein du domaine vinca, à proximité du site de fixation du GTP, comme dans le cas de la phomopsine A **6**.

B) INSERTION D'ACÉTYLÈNES ACTIVES DANS LE PONT GRAMINE

En effectuant une recherche bibliographique approfondie sur l'insertion d'alcynes activés dans un pont gramine, nous n'avons trouvé qu'une seule publication portant sur ce sujet. En effet, en 2004, Voskressensky *et al.* ont décrit la synthèse de tétrahydroazocinoindoles **231** à partir des tétrahydro- γ -carbolines **229** (Schéma 54), en utilisant deux acétylènes activés : le PE et le DMAD.¹⁶⁶

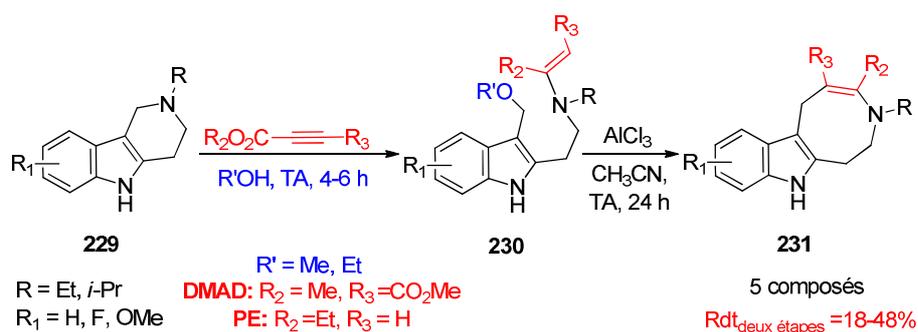


Schéma 54. Synthèse de tétrahydroazocinoindoles à partir de tétrahydrocarbolines¹⁶⁶

Dans des solvants aprotiques, un mélange complexe de composés a été obtenu, tandis qu'en utilisant un alcool comme solvant, à température ambiante, les alcoxyméthylindoles **225** ont pu

¹⁶⁶ Voskressensky, L. G., Borisova, T. N., Kulikova, L. N., Varlamov, A. V., Catto, M., Altomare, C., Carotti, A. *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, 3128-3135

être isolés. La cyclisation de ces composés **230** en présence de chlorure d'aluminium, a permis d'isoler les tétrahydroazocinoindoles cibles **231** avec des rendements compris entre 18-48% sur deux étapes. Dans quelques cas, les azocinoindoles **231** ont pu être détectés dans le milieu réactionnel dès la première étape, indiquant que leur formation peut se faire aussi de façon monotope. Cependant, les auteurs ne se sont pas intéressés à favoriser la réaction en une seule étape.

Ces résultats sont très encourageants puisqu'ils indiquent que l'insertion d'alcyne dans la vinorelbine **4** peut être envisageable.

2. SYNTHÈSE

A) MISE AU POINT DE LA RÉACTION

La réaction entre la vinorelbine **4** et le propiolate de méthyle **232** a été étudiée afin de déterminer si le composé d'insertion **233** peut se former dans des conditions douces (Schéma 55).

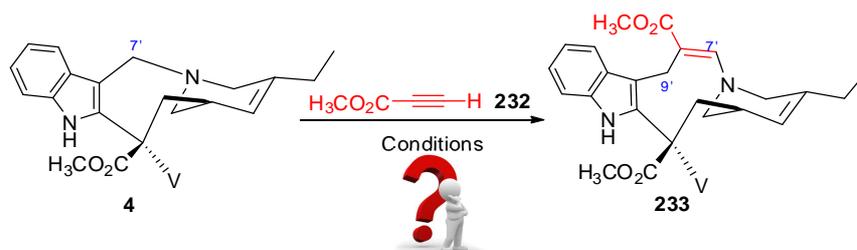


Schéma 55. Insertion du propiolate de méthyle dans le pont gramine de la vinorelbine.

Dans un premier temps, les conditions utilisées par Voskressensky *et al.* ont été testées (Schéma 56). Elles nous ont permis d'isoler l'intermédiaire ouvert **234**, qui, comme tous les composés ouverts synthétisés auparavant, montre en RMN ^1H un signal du proton H-3' blindé. En utilisant une quantité catalytique de chlorure d'aluminium, le composé cible **233** a été obtenu avec un rendement modeste de 10% sur deux étapes, dû à la formation de nombreux produits secondaires non identifiés.

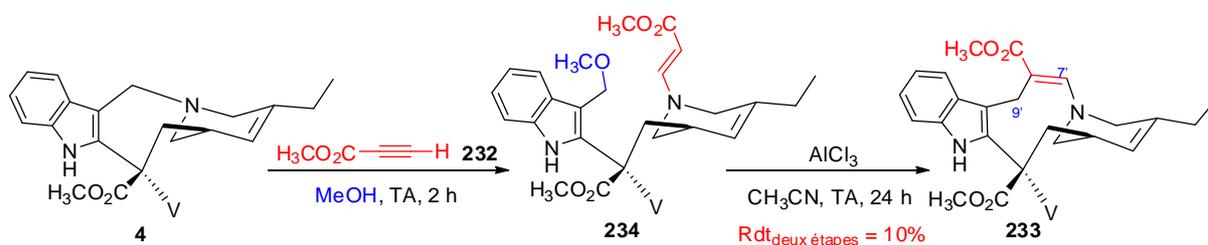


Schéma 56. Utilisation de conditions de Voskressensky *et al.*

Les différences entre le spectre RMN ^1H du produit de départ **4** et du produit **233** sont majeures (Figure 61). En particulier, nous avons observé la disparition des protons H-7' de la

gramine à 4,0 ppm et l'apparition de deux signaux à 3,8 et 7,0 ppm correspondant aux protons énamine H-7' et aux protons H-9'.

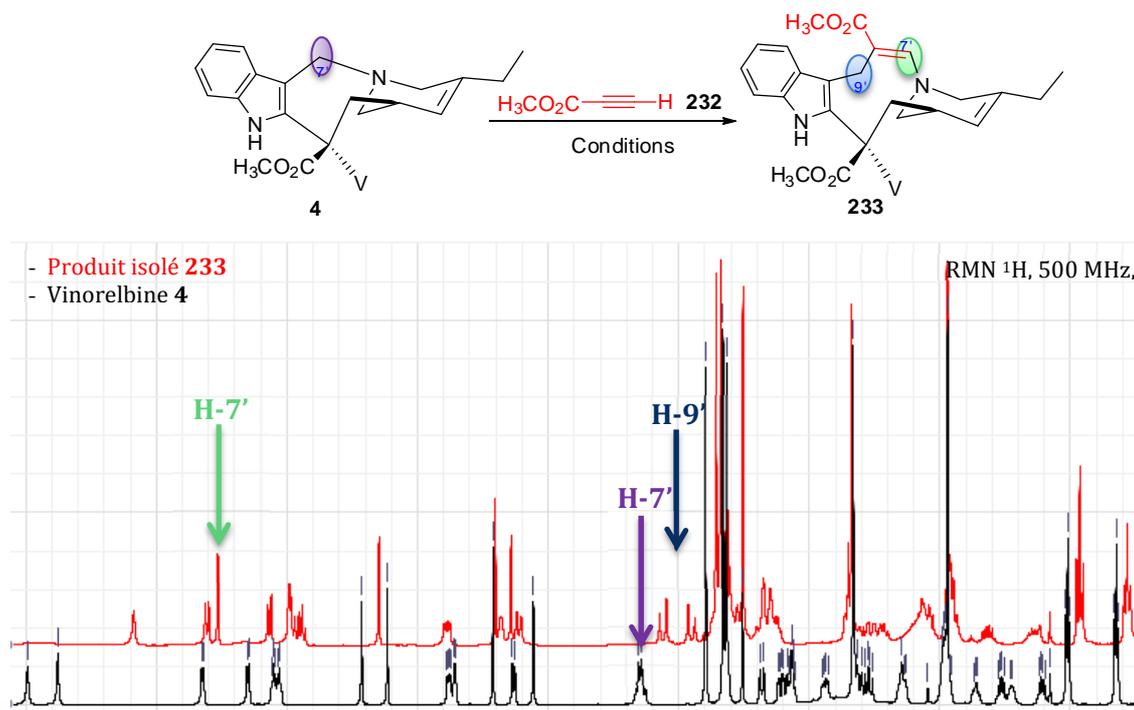


Figure 61. Juxtaposition des spectres RMN ^1H de la vinorelbine et du produit isolé à la fin de la réaction.

Plusieurs paramètres ont été criblés pour mettre au point cette réaction et la rendre monotopie, notamment le solvant et la température (Tableau 5).

Tableau 5. Mise au point de la réaction d'insertion. ^a 0,4 équivalent de chlorure d'aluminium ont été utilisés pour favoriser la cyclisation ^b 1,5 équivalents d'alcyne ont été utilisés ^c ratios déterminés par CLPH en utilisant une détection par DEDL.

Entrée	Conditions	Conversion en 233 (%) ^c
1	MeOH, TA, 2 h ^a	33
2	DCM, TA, 2 h	57
3	THF, TA, 2 h	57
4	ACN, TA, 2 h	79
5	DMF, TA, 2 h	70
6	DMF, 0 °C, 2 h	33
7	DMF, TA, 2 h ^b	60

Dans le méthanol, à température ambiante (entrée 1), le produit majoritaire (47%) du brut réactionnel est l'intermédiaire méthoxyméthylindole **234**, au détriment du β -énaminoester **233** (33%). En remplaçant le méthanol par des solvants aprotiques (entrées 2-3), la cyclisation en version monotope est favorisée. Mieux encore, l'utilisation de solvants polaires (entrées 4-7), comme le DMF ou le CH₃CN, augmente la conversion de **4** en **233** de 57 à 79%. L'augmentation du nombre d'équivalents d'alcyne (entrée 7) favorise les sur-réactions.

L'excès d'alcyne peut, en effet, réagir sur le β -énaminoester **233** conformément à l'observation de Jiang *et al.*, qui ont montré que les énamines aliphatiques tertiaires **235** réagissent avec le DMAD pour donner des composés de cycloaddition réarrangés **236** (Schéma 57).¹⁶⁷

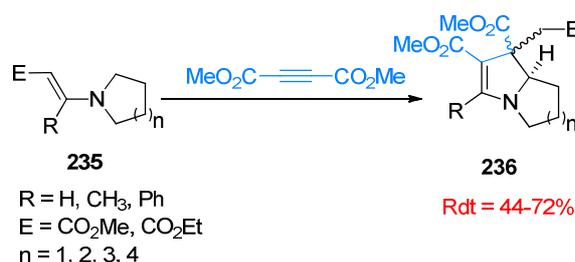


Schéma 57. Sur-réactions selon Jiang *et al.*¹⁶⁷

Ainsi, les meilleurs résultats pour la réaction d'insertion ont été obtenus avec 1,1 équivalents de propiolate de méthyle **232** dans le DMF ou le CH₃CN, à température ambiante (entrées 4-5) pendant 2 heures.

Il est également important de remarquer la différence entre le taux de conversion de **4** en **233** (79%) détecté par CHPL et le rendement en composé **233** isolé à la fin de la réaction (30%). Cela peut être expliqué par les difficultés rencontrées pendant la purification du brut réactionnel. Le composé d'insertion **233** ne semble pas être stable sur silice. Ainsi, l'utilisation de l'alumine neutre lors des purifications, nous a permis d'augmenter le rendement en composé isolé jusqu'à 36%. Même si ce rendement n'est pas très élevé, il reste satisfaisant au regard de la complexité du réarrangement et des molécules. Il serait certainement possible de l'augmenter en faisant appel à la chimie en flux.

Cette mise au point de la réaction, nous a permis de confirmer notre hypothèse selon laquelle la vinorelbine réagit avec des acétylènes activés pour conduire aux dérivés fonctionnalisés **212**. De plus, cette réaction d'insertion est très sélective, puisque seul l'azote N-6' attaque l'alcyne. Aucune réaction entre l'azote N-8 de la partie vindoline et le propiolate de méthyle n'a pas été observée.

¹⁶⁷ Jiang, S., Janousek, Z., Viehe, H. G. *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 1185-1188

B) MECANISME PROPOSE

Le mécanisme proposé pour cette réaction d'insertion (Schéma 58) passerait par une première étape d'addition de Michael de l'azote tertiaire N-6' de la vinorelbine **4** sur l'acétylène pour générer le zwitterion **237**. Une fragmentation spontanée du pont gramine conduirait à l'intermédiaire méthylèneindolénium **211**. Cet ion pourrait être ensuite piégé de façon intramoléculaire pour donner les composés d'insertion **212**.

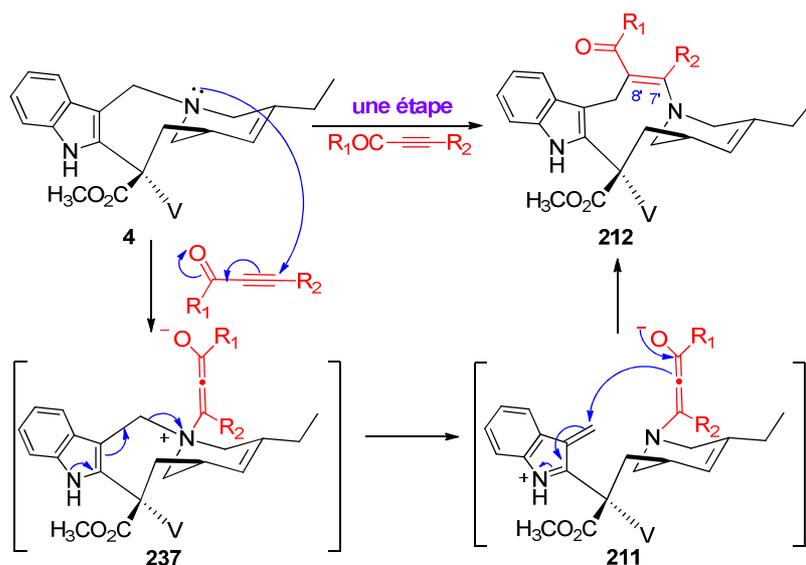


Schéma 58. Mécanisme proposé pour la réaction d'insertion.

C) ETENDUE DE LA REACTION D'INSERTION

Le champ d'application de cette insertion a été étendu à différents alcynes activés. Nous avons fait varier l'encombrement du groupement R_1 et la nature de R_2 (Schéma 59).

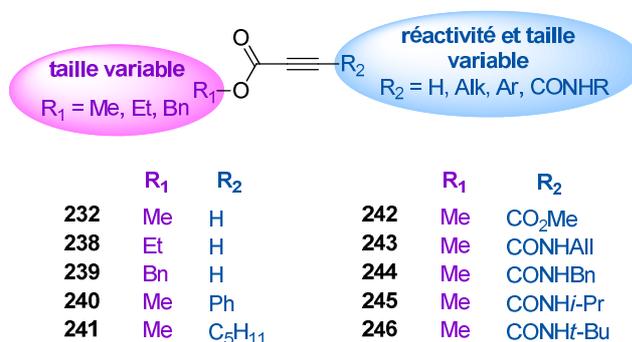


Schéma 59. Acétylènes activés utilisés.

Les alcynes **232**, **238**, **240-242** sont commerciaux, tandis que l'ester benzylique **239** a été obtenu par protection de l'acide propynoïque **247** (Schéma 60),¹⁶⁸ et les ester-amides **243-246** ont dû être préparés par déprotonation de **232** et ajout d'un isocyanate commercial (Schéma 61).¹⁶⁹

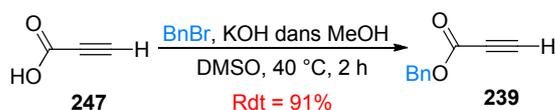


Schéma 60. Synthèse de l'acétylène **239**.

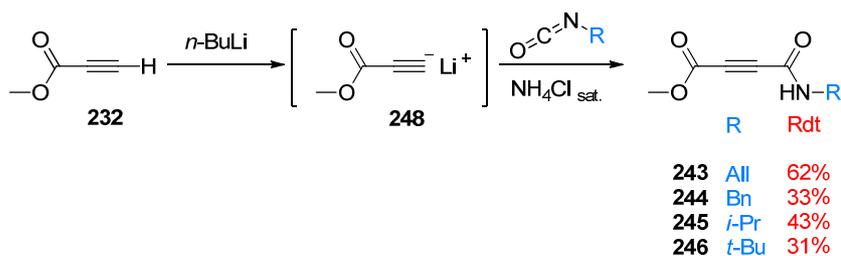


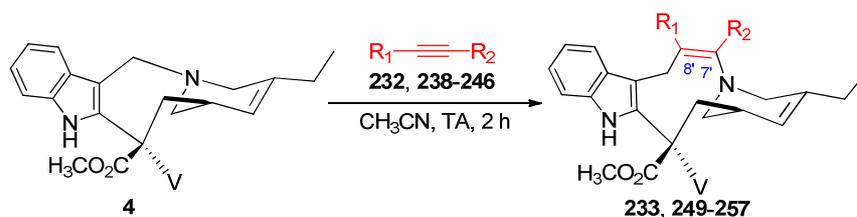
Schéma 61. Synthèse d'acétylènes asymétriques ester-amide **243-246**.

Le rendement de cette dernière réaction dépend de la qualité de l'organolithien utilisé. Si sa concentration est inférieure à 1 M, les rendements ne dépassent pas les 33%, à cause peut-être de la présence d'hydroxyde de lithium favorisant l'hydrolyse de l'ester méthylique. De plus, des sous-produits d'addition du *n*-BuLi sur l'ester ont systématiquement été isolés. L'utilisation d'une base plus encombré et moins nucléophile, comme le LDA, ne nous a pas permis d'améliorer les rendements.

L'effet et la réactivité de ces alcynes monosubstitués ou disubstitués, symétriques ou asymétriques ont été étudiés lors de la réaction d'insertion sur la vinorelbine **4**, dans les conditions optimisées précédemment (Tableau 6).

¹⁶⁸ Weber, D., Heller, E., Hoenke, C., Hörer, S., Bäuerle, P., Austel, V. *Synthesis*, **2005**, *14*, 2357-2366

¹⁶⁹ Austin, D., J., Nguyen, V.-A. A., Pupowicz, D., Deisseroth, A., Wang, T., Lerma, E., US 7304092B1

Tableau 6. Etendue de la réaction d'insertion. ^a 1,1 équivalents d'alcyne ont été utilisés ^b 1,5 équivalent d'alcyne ont été utilisés ^c Rendement après purification

Entrée	Alcyne	R ₁	R ₂	Composé d'insertion	Rdt (%) ^c
1 ^a	232	CO ₂ Me	H	233	36
2 ^a	238	CO ₂ Et	H	249	33
3 ^a	239	CO ₂ Bn	H	250	32
4 ^a	240	CO ₂ Me	Ph	251	/
5 ^a	241	CO ₂ Me	C ₅ H ₁₁	252	/
6 ^a	242	CO ₂ Me	CO ₂ Me	253	37
7 ^b	243	CO ₂ Me	CONHAlI	254	50
8 ^b	244	CO ₂ Me	CONHBn	255	50
9 ^b	245	CO ₂ Me	CONHi-Pr	256	52
10 ^b	246	CO ₂ Me	CONHt-Bu	257	52

Nous avons pu observer que :

- ✓ les acétylènes activés par un seul groupement électroattracteur, génèrent les composés désirés avec des rendements modérés de 32-36% (entrées 1-3) ;
- ✓ aucune réaction n'est observée avec les alcynes substitués par un groupement aryle **240** ou alkyle **241** (entrées 4-5). Comme Williams *et coll.*¹⁵² l'ont rapporté dans leur étude sur la gramine **167**, ce manque de réactivité peut être expliqué par un encombrement stérique trop important (entrée 4) ou un enrichissement électronique défavorisant l'addition conjuguée (entrée 5) ;
- ✓ l'insertion se fait bien en présence d'alcynes disubstitués par des groupements électroattracteurs. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec les acétylènes asymétriques ester-amides **243-246** (entrées 7-10). Dans ce cas, l'utilisation de deux équivalents d'alcynes augmente le rendement de façon significative.

Il faut noter que la régiosélectivité de cette réaction est totale, puisqu'un seul régioisomère est obtenu à la fin de la réaction, permettant ainsi de contrôler les groupements fonctionnels insérés en position 7' et 8'. Cette excellente régiosélectivité pourrait être expliquée par la nature polarisée de la triple liaison des esters amides **243-246**.

En 2002, Alami *et al.* ont réalisé une étude sur la régiosélectivité de la réaction d'hydrostannation de tolanes *ortho*-substitués **258** (Schéma 62).^{170a} Ils postulent que celle-ci est due à la polarisation des alcynes qu'ils fonctionnalisent et corrélient cette polarisation au déplacement chimique différent des C_α et C_β de la triple liaison.

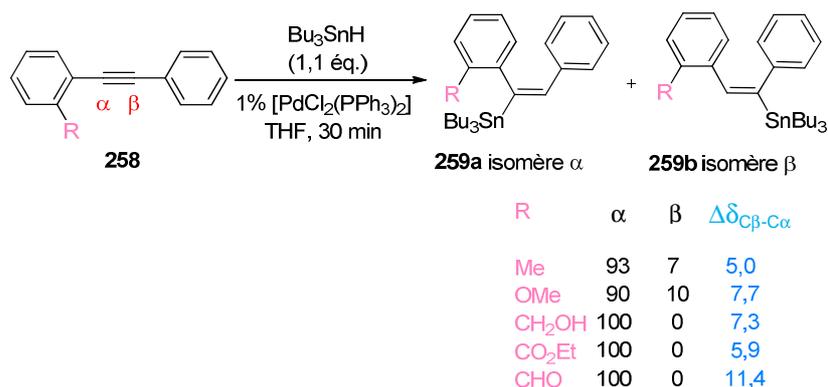


Schéma 62. Selectivité de l'hydrostannation des tolanes.¹⁷⁰

Selon Alami *et al.*, l'atome C_β, plus déblindé en RMN, est « électron positif », donc plus susceptible aux attaques nucléophiles, tandis que l'atome C_α est « électron négatif ».^{170a} Cette hypothèse a été remise en cause par Rubin *et al.*, qui ont montré, par des calculs théoriques, que les déplacements chimiques des carbones acétyléniques des tolanes *ortho*-substitués ne corrélient pas avec la distribution de la densité électronique au niveau de la triple liaison et que des facteurs stériques engendrent la sélectivité.^{170b}

Par analogie avec les travaux d'Alami *et al.*, nous avons mesuré les différences de déplacement chimique entre C_α et C_β en RMN ¹³C (Figure 62, Tableau 7). Dans tous les cas, la différence de déplacement chimique corréle avec la sélectivité observée. Ainsi, l'azote N-6' attaque préférentiellement le C_β « électron positif » au détriment du C_α « électron négatif ».

¹⁷⁰ (a) Alami, M., Liron, F., Gervais, M., Peyrat, J.-F., Brion, J.-D. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, *41*, 1578-1580 (b) Rubin, M., Trofimov, A., Gevorgyan, V. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 10243-10249

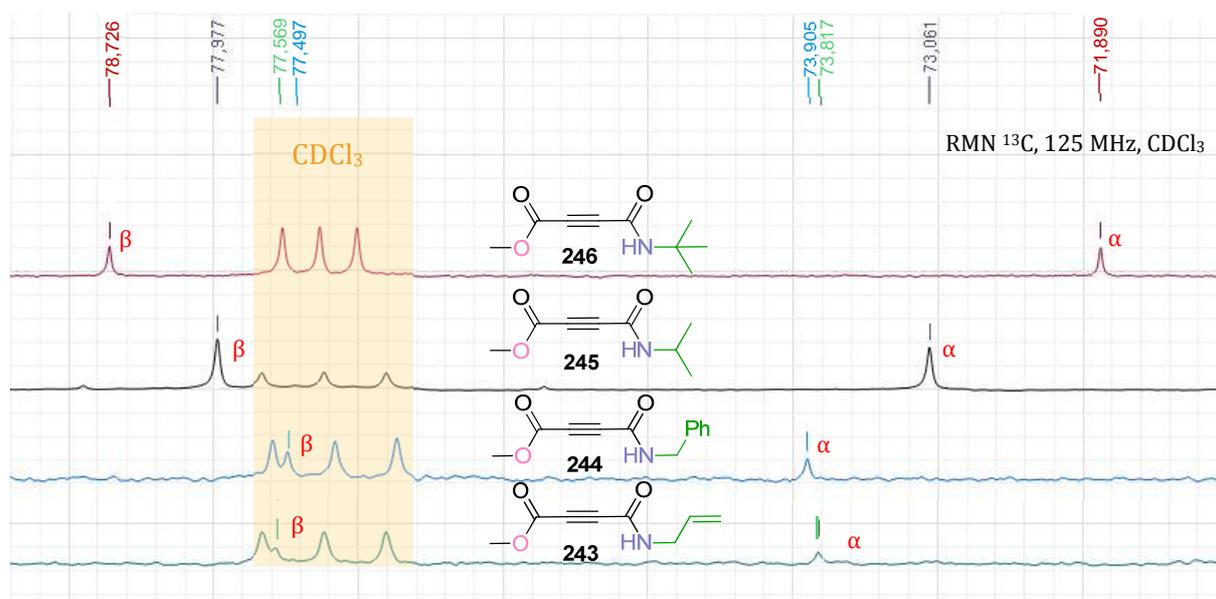


Figure 62. Juxtaposition d'une partie des spectres RMN ^{13}C des alcynes asymétriques 243-246.

Tableau 7. Différence de déplacement chimique entre le C_α et le C_β dans les alcynes 243-246.

Entrée	Alcyne	R	Différence de déplacement chimique (ppm)
1	243	All	3,8
2	244	Bn	3,6
3	245	<i>i</i> -Pr	4,9
4	246	<i>t</i> -Bu	6,8

3. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Nous avons pu confirmer que la vinorelbine **4** réagit avec des acétylènes activés pour donner les composés d'insertion **233**, **249-250**, **253-257**. Des acétylènes mono- et disubstitués, symétriques et asymétriques peuvent être utilisés lors de cette réaction. De plus, dans le cas d'alcynes asymétriques, la régiosélectivité de l'insertion est totale. Les groupements ainsi insérés en position C-8' et C-7' peuvent être contrôlés, ce qui devrait nous permettre d'accéder sélectivement à deux familles de dérivés de vinca-alcaloïdes hybrides avec la chaîne latérale de la phomopsine A en position 7' ou 8'.

C. REACTIVITE DU MOTIF ENAMINOESTER

1. DIFFERENTES POSSIBILITES DE FONCTIONNALISATION DE L'ENAMINOESTER

Par la suite, nous nous sommes proposé de valoriser le motif β -énamoester du composé **233** afin de pouvoir le fonctionnaliser sélectivement.

En tant qu'ester α,β -insaturé, le motif β -énamoester **260** est susceptible de réagir lors d'additions conjuguées.¹⁷¹ Il est également connu dans la littérature comme substrat de réactions de cycloaddition,¹⁷² ou de substitution^{173,174} et peut également subir des réductions^{175,176}

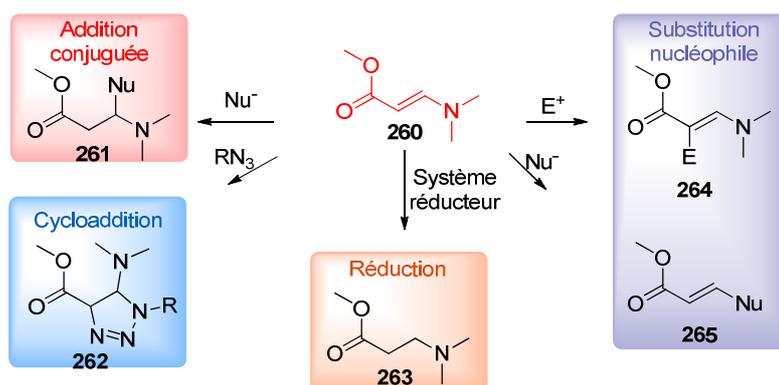


Schéma 63. Réactivité du motif β -énamoester.

Ainsi, dans la continuité de nos travaux, nous nous sommes intéressés à l'addition conjuguée, à la cycloaddition et à la réduction du motif β -énamoester du composé d'insertion **233**.

2. REACTION D'ADDITION CONJUGUEE

A) RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

L'addition conjuguée de nucléophiles à des substrats organiques α, β -insaturés **266** est une méthode largement utilisée pour fonctionnaliser des doubles liaisons polarisées (Schéma 64).¹⁷¹ Lors de cette réaction, une entité nucléophile, très souvent un organométallique, s'additionne au

¹⁷¹ Rossiter, B. E., Swingle, N. M. *Chem. Rev.*, **1992**, 92, 771-806

¹⁷² (a) De Boeck, B., Jiang, S., Janousek, Z., Viehe, H. G. *Tetrahedron*, **1994**, 50, 7075-7092 (b) Jiang, S., Janousek, Z., Viehe, H. G. *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 1185-1188 (c) Bourgois, J., Tonnard, F., Texier, F., *Bull. Soc. Chem. Fr.*, **1976**, 11-12, 2025-2030 (d) Bourgois, J., Mathieu, A., Texier, F. *J. Heterocyclic Chem.* **1984**, 21, 513

¹⁷³ (a) Irlapati, N. R., Baldwin, J. E., Adlington, R. M., Pritchard, G. J., Cowley, A., R. *Tetrahedron*, **2006**, 62, 4603-4614 (b) Irlapati, N. R., Baldwin, J. E., Adlington, R. M., Pritchard, G. *J. Org. Lett.*, **2003**, 5, 2351-2354

¹⁷⁴ Grohe, K. US4699992A1

¹⁷⁵ Cimarelli, C., Palmieri, G. *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 5557-5563

¹⁷⁶ Fustero, S., Pina, B., Salavert, E., Navarro, A., Ramírez de Arellano, M. C., Fuentes, A. S. *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 4667-4679

carbone β d'un alcène appauvri en électrons **266**, pour donner un carbanion stabilisé **267**. Celui-ci est piégé par un électrophile pour donner des composés fonctionnalisés **268**.

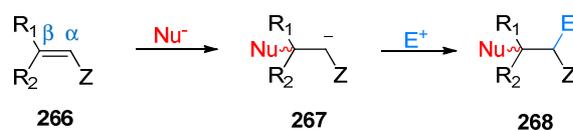
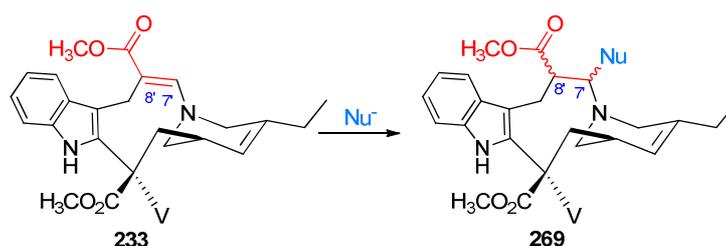
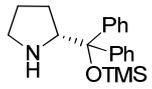
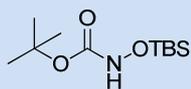
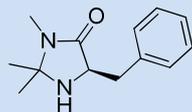


Schéma 64. Addition conjuguée de nucléophiles à des substrats α , β -insaturés.

B) RESULTATS

Dans le but de fonctionnaliser le β -énamoester **233** en position 7', des additions conjuguées 1,4 ont été envisagées.¹⁷¹ L'avantage de cette réaction est la grande variabilité des groupements qui peuvent être introduits régiosélectivement, voire stéréosélectivement en position C-7'. Cependant, il faut garder à l'esprit que seul les composés fonctionnalisés sur la face supérieure β nous intéressent, puisque cette configuration est indispensable à la bonne orientation de la chaîne phomopsine greffée ultérieurement. Plusieurs conditions d'addition conjuguée 1,4 ont ainsi été testées (Tableau 8).

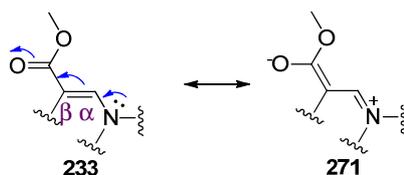
Tableau 8. Conditions utilisées pour les essais d'addition conjuguée 1, 4 sur le β -énaminoester 233.

Entrée	Nucléophile	Activation
1	CuI, <i>n</i> -BuLi	-
2	MeMgBr	-
3	CuI, <i>n</i> -BuLi	BF ₃ .Et ₂ O
4	MeMgCl	DMA
5	MeMgCl	
6	1,2,4-Triazole	 200
7	Malonate de diméthyle	
8	 270	 199

Ni les cuprates (entrée 1),^{177a} ni les magnésiens (entrée 2), ni les nucléophiles plus doux (entrées 6-8), ni l'activation par un acide de Lewis (entrée 3),¹⁷¹ ou une amine (entrée 4-8),^{177b,c} ne nous ont pas permis d'obtenir les composés souhaités **269**.

Ce manque de réactivité peut être expliquée par le fait que, contrairement à d'autres substrats α,β -insaturés, les β -énaminoesters sont moins appauvris en électrons à cause de l'effet mésomère donneur du groupement amine en position β (Schéma 65).

¹⁷⁷ (a) Snyder, J. P. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 11025-11026 (b) Dinér, R., Nielsen, M., Marigo, M., Jørgensen, K. A. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 1983-1987 (c) Chen, Y. K., Yoshida, M., MacMillan, D. W. C. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 9328-9329

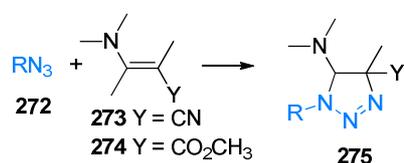
Schéma 65. Effet mesomère donneur du groupement amine en position β .

Néanmoins, nous pensons que la réaction d'addition conjuguée sur le composé **233** pourrait être possible. Des études plus poussées, en variant la nature de l'agent d'activation et la nature du nucléophile, sont nécessaires pour la mettre au point. Cependant, compte-tenu de nos excellents résultats en matière du contrôle de la stéréosélectivité que nous avons obtenus lors de la réduction de **233** (voir chapitre II.C.4), ces études n'ont pas été poursuivies.

3. REACTION DE CYCLOADDITION

A) RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

Les énamines sont connues depuis longtemps pour être des bons substrats pour les réactions de cycloaddition (voir chapitre II.B.2). Ainsi, en 1976, Bourgois *et al.* ont décrit la cycloaddition 1,3-dipolaire de l'énaminonitrile **273** et de l'énaminoesters **274** avec des azotures **272** (Schéma 66) pour former des dihydrotriazoles 1, 4, 5-trisubstitués **275**.^{172c}

Schéma 66. Synthèse du dihydrotriazole **268** à partir des énamines **267**.^{172d}

Par analogie, nous avons fonctionnalisé le cycle C' par à un motif dihydrotriazole. D'autres groupements pourraient être ainsi introduits, grâce à une fonctionnalisation au préalable de l'azoture **272**.

B) RESULTATS

Pour tester la faisabilité de cette réaction, le composé **233** a été chauffé à 62 °C pendant une nuit avec un large excès (20 éq.) d'azoture d'acétate de méthyle **276** (Schéma 67) pour conduire au dihydrotriazole **277** avec un rendement de 53% après purification.

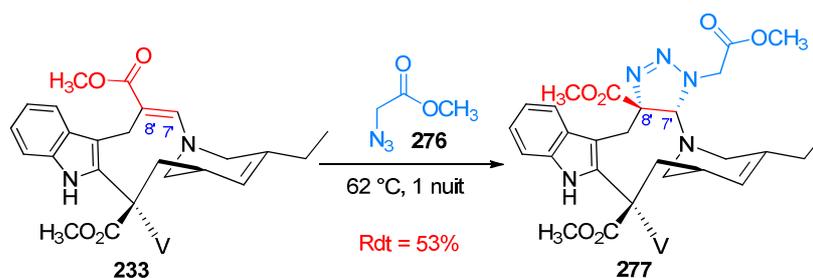


Schéma 67. Synthèse du dihydrotriazole 277 par cycloaddition thermique 1,3-dipolaire.

Nous avons observé une régio- et stéréosélectivité totale. Cela peut être expliqué par l'approche de l'azoture par la face inférieure, moins encombrée de la partie velbenamine (Schéma 68). Le bras acétate de l'azoture 276 étant encombrant, il s'oriente à l'opposé du groupement ester du composé 233 en passant par un état de transition concerté 278.¹⁷⁸

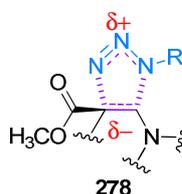


Schéma 68. Approche de l'azoture par la face inférieure de la partie velbenamine.

Cependant la stéréosélectivité de la réaction de cycloaddition ne correspond pas à celle recherchée, puisque le bras acétate n'est pas orienté dans la direction désirée (*ie* au dessus du plan moyen de la partie velbenamine). C'est pourquoi, cette voie de fonctionnalisation a été abandonnée par la suite.

4. REACTION DE REDUCTION

A) RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

Depuis une vingtaine d'années, les chercheurs s'intéressent aux différentes voies d'accès aux acides β -aminés de façon stéréosélective. En plus de leur potentiel thérapeutique, l'intérêt des acides β -aminés est leur utilisation en tant qu'intermédiaires dans la synthèse de produits naturels, d'antibiotiques ou d'autres molécules à intérêt biologique et médical.

Dans ce contexte, en 1996, Palmieri *et coll.* ont décrit une méthode stéréosélective de réduction de β -énamoesters par le triacétoxyborohydrure de sodium.¹⁷⁵ Plus tard, l'équipe de Fuentes a proposé de réduire des β -énamoesters γ -fluorés en utilisant un système $ZnI_2/NaBH_4$ dans un milieu aprotique non chélatant.¹⁷⁶

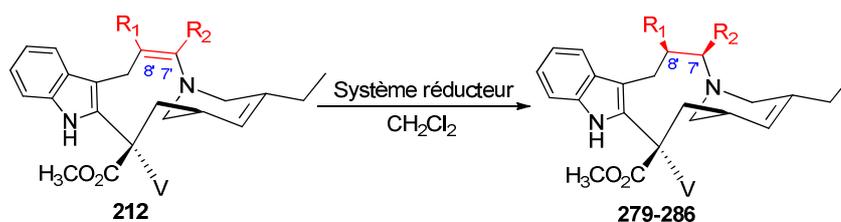
¹⁷⁸ Huisgen, R. *J. Org. Chem.*, **1976**, *41*, 403-419

B) RESULTATS

La réduction des β -énaminoesters **212** a donc été envisagée. Trois systèmes réducteurs différents ont été testés : le NaBH_4 , le $\text{NaBH}_4/\text{ZnI}_2^{176}$ et le $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$.¹⁷⁵ Les deux derniers ont permis de réduire les composés d'insertion **233**, **249-250**, **253-257**, avec une légère augmentation du rendement dans le cas du $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (Tableau 9).

Les conditions des réductions décrites dans la littérature ont été adaptées aux vinca-alcaloïdes. En effet, l'acide acétique utilisé par Cimarelli *et al.*,¹⁷⁵ qui permet de contrôler la stéréochimie d'un des centres asymétriques formés ne peut pas être employé dans notre cas, puisqu'il risque de favoriser la protonation de l'azote N-6' et d'empêcher la réaction de réduction. C'est pourquoi, la réaction a été effectuée dans du dichlorométhane anhydre et a été traitée par une solution de chlorure d'ammonium saturée.

Tableau 9. Réaction de réduction ^a Rendement en composé isolé ^b Conditions : CH_2Cl_2 anh., 3 éq. de ZnI_2 à 0 °C pendant 1 h, puis 5 éq. de NaBH_4 pendant 1 nuit à TA ^c Conditions : CH_2Cl_2 anh., 3 éq. de $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ à 0 °C pendant 4 h.



Entrée	Composé d'insertion	R ₁	R ₂	Composé de réduction	Rdt (%) ^a		
					NaBH_4	$\text{NaBH}_4/\text{ZnI}_2^b$	$\text{NaBH}(\text{OAc})_3^c$
1	233	CO_2Me	H	279	-	52	69
2	249	CO_2Et	H	280	-	51	95
3	250	CO_2Bn	H	281	-	86	90
4	253	CO_2Me	CO_2Me	282	-	33	nd
5	254	CO_2Me	CONHAlI	283	-	nd	78
6	255	CO_2Me	CONHBn	284	-	nd	95
7	256	CO_2Me	CONHi-Pr	285	-	34	81
8	257	CO_2Me	CONHt-Bu	286	-	nd	72

De façon notable, en utilisant des réducteurs achiraux, la réaction est totalement diastéréosélective et permet le contrôle stéréochimique d'un à deux centres asymétriques en 8' et/ou 7' pour conduire aux 8'-(*R*)- ou 7'-(*S*), 8'-(*R*)- β -aminoesters énantiopurs. Ces configurations correspondent à celles souhaitées.

La stéréochimie de tous les composés a été déterminée grâce à des expériences nOe (Figure 63). Par exemple pour le composé 7'-(*S*), 8'-(*R*) **285**, des corrélations peuvent être observées entre les protons H-20' β et H-5' β , H-5' β et NH-28', NH-28' et H-9' β , H-9' β et H-1' β , H-26' et H-30' sur la face supérieure, et entre les protons H-20' α et H-14, H-5' α et H-7' sur la face inférieure.

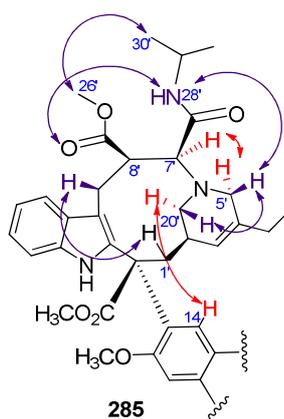


Figure 63. Quelques corrélations nOe permettant de déterminer la stéréochimie de **285**.

- (1) Stéréosélectivité de la réaction
 - (a) Mécanismes proposés dans la littérature
 - (1) Système $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$

Pour expliquer la stéréosélectivité observée lors de la réduction des β -énaminoesters **287** en utilisant du $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, Cimarelli *et al.* ont proposé un mécanisme (Schéma 69) passant par l'ester d'énol **288**, formé suite à l'échange de ligand entre le β -énaminoester **287** et un des groupements acétoxy du réducteur.¹⁷⁵ L'intermédiaire **288** est un donneur d'hydrure plus fort que le $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ et conduit par réduction intramoléculaire au complexe β -aminoester d'énol-borane **289**. Celui-ci est hydrolysé sous l'action de l'acide acétique présent dans le milieu.

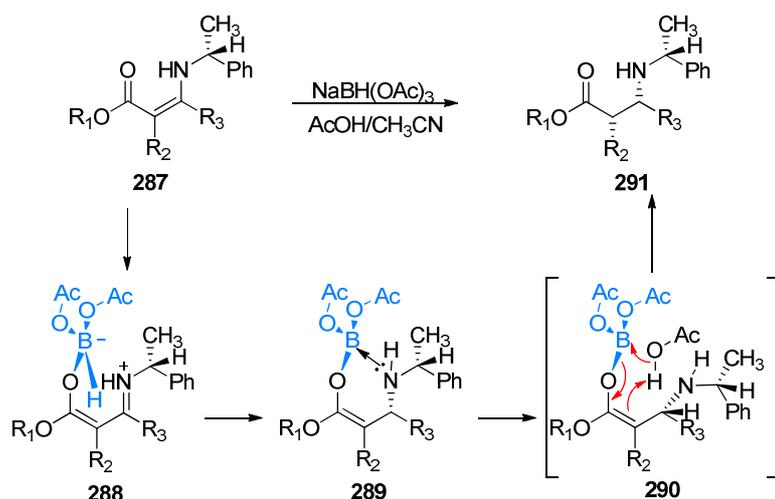


Schéma 69. Mécanisme proposé par Cimarelli *et al.* pour expliquer le contrôle de la stéréosélectivité.¹⁷⁵

(II) Système $ZnI_2/NaBH_4$

Pour expliquer la diastéréosélectivité relative observée lors de la réduction des β-énaminoacides γ -fluorés **292**, en utilisant un système $ZnI_2/NaBH_4$, Fustero *et al.* ont proposé un état de transition à six centres **293** (Schéma 70), l'attaque de l'hydruure se faisant par la face opposée (la face *si*) au groupement R_2 .¹⁷⁶ Par contre, si le groupement R_3 induit un encombrement stérique important, l'hydruure attaque par la face la moins encombrée (la face *ré*).

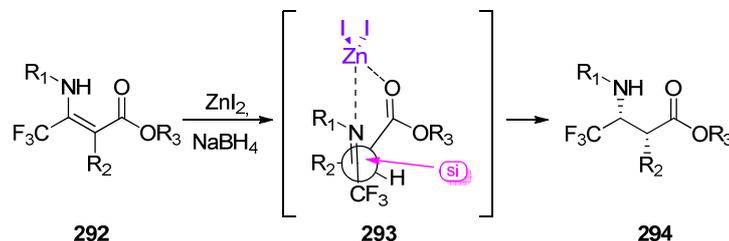


Schéma 70. Etat de transition proposé par Fustero *et al.* pour expliquer la diastéréosélectivité observée.¹⁷⁶

(b) Mécanismes proposés pour les vinca-alcaloïdes

(I) Système $NaBH(OAc)_3$

Dans le cas de l'utilisation du triacétoxyborohydrure de sodium, le mécanisme proposé par Cimarelli *et al.* permet d'expliquer la stéréosélectivité observée dans le cas des vinca-alcaloïdes (Schéma 71). Compte-tenu du fait que tous les ammoniums quaternaires dérivés de la vinorelbine **4**, obtenus antérieurement au laboratoire,¹²⁸ étaient de configuration absolue (*S*), le doublet non liant de l'azote N-6' doit être situé en dessous du plan moyen de la partie velbenamine. Il définit une face « concave » située au-dessus du plan moyen de la velbenamine et une face « convexe », moins encombrée, en dessous. Ceci expliquerait l'attaque de l'hydruure par la face inférieure et la configuration observée en C-7'.

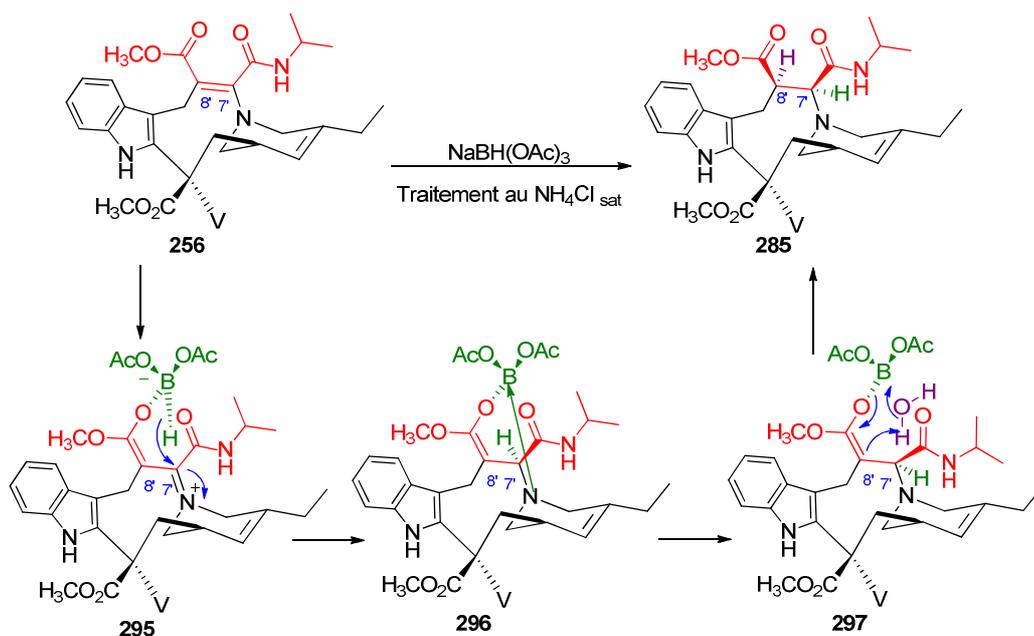


Schéma 71. Mécanisme proposé pour expliquer le contrôle de la stéréosélectivité lors de l'utilisation du $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$.

Quant au proton en C-8', nous avons postulé qu'il proviendrait de l'eau utilisée lors du traitement. Pour prouver cela, nous avons traité le brut réactionnel avec de l'eau deutérée (Schéma 72).

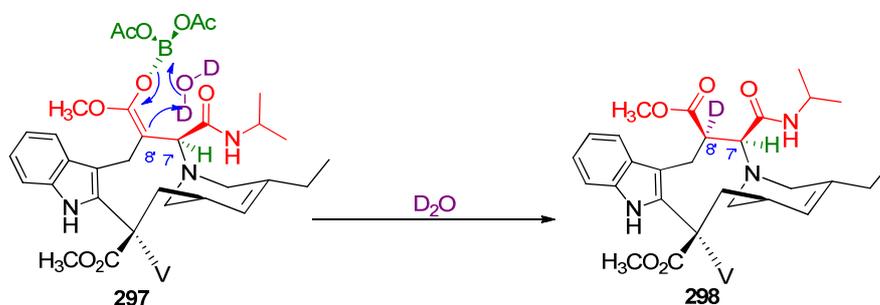


Schéma 72. Traitement du brut réactionnel par le D_2O

La comparaison des spectres RMN ^1H du composé **285** et du composé **298** montre la modification de la multiplicité du signal correspondant au proton H-7' (doublet vers 3,19 ppm pour **285** et singulet pour **298**), confirmant ainsi notre hypothèse. La stéréosélectivité en C-8' pourrait être contrôlée via un complexe β-aminoester d'énol borane **296**.

(II) Système $\text{ZnI}_2/\text{NaBH}_4$

Il est important de noter que lorsque le système $\text{ZnI}_2/\text{NaBH}_4$ est utilisé, l'iodure du zinc est indispensable à la réaction, puisque en son absence, les β-énaminoesters **212** ne sont pas réduits. L'iodure du zinc doit activer les β-énaminoesters **212** en s'y coordonnant, pour les rendre plus sensibles à la réduction.

Le mécanisme proposé par Fustero *et al.* ne peut pas expliquer la stéréosélectivité dans le cas des vinca-alcaloïdes, puisque même si un intermédiaire iminium peut se former, l'iodure du zinc ne peut plus être coordonné à l'atome d'azote, son doublet non liant étant engagé dans la double liaison. Ainsi, un état de transition à six centres semblable à l'intermédiaire **293** ne peut pas être postulé. Contrairement aux propositions de Fustero *et al.*, nous sommes convaincus qu'à part l'iodure du zinc, la coordination de l'atome de bore au niveau du motif β -énaminoester joue un rôle important dans le contrôle de la stéréosélectivité. Par analogie avec le mécanisme proposé au paragraphe précédent, l'attaque de l'hydrure se ferait par la face inférieure moins encombrée, ce qui expliquerait la configuration observée en C-7'. Encore une fois, le proton en C-8' proviendrait de l'eau utilisée lors du traitement et la stéréosélectivité en cette position serait contrôlée grâce à un intermédiaire sûrement proche de **296**.

C) CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La réduction des β -énaminoesters **212**, nous a permis d'isoler huit nouveaux β -aminoesters **279-286** avec des rendements allant de bons à excellents. Cette réaction a lieu de façon entièrement diastéréosélective donnant accès aux 8'-(*R*)- ou 7'-(*S*), 8'-(*R*)- β -aminoesters énantio-purs. Elle est d'autant plus intéressante que les configurations en C-7' et C-8' des composés ainsi synthétisés est identique à celle recherchée pour les deux familles d'hybrides vinblastine-phomopsine **213** et **214**.

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Nous avons réussi à confirmer que la réaction d'insertion d'acétylènes activés dans le pont gramine de la vinorelbine **4** est possible, ce qui nous a donné accès à huit β -énaminoesters de façon totalement régiosélective.

La fonctionnalisation du motif β -énaminoesters par cycloaddition, nous a permis de synthétiser le dihydrotriazole **277** de façon régio- et stéréosélective. Néanmoins, le bras acétate du composé **277** n'est pas orienté au-dessus du plan moyen de la velbenamine comme attendu. Cela nous empêcherait, par la suite, d'orienter la chaîne latérale de la phomopsine A **6** dans la bonne direction, c'est pourquoi nous avons abandonné cette voie de fonctionnalisation.

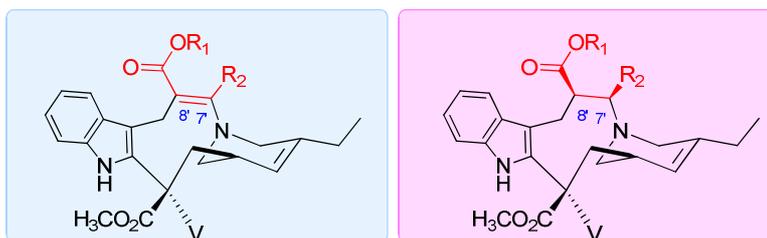
En même temps, des résultats excellents ont été obtenus lors de la réaction de réduction, puisqu'une diastéréosélectivité totale a été observée. De plus, ce type de fonctionnalisation nous a permis d'accéder aux 8'-(*R*)- ou 7'-(*S*), 8'-(*R*)- β -aminoesters énantio-purs, dont les configurations en 7' et 8' correspondent à celles nécessaires à la bonne orientation de la chaîne latérale de la phomopsine A **6**.

D. EVALUATION BIOLOGIQUE

A) INHIBITION DE LA POLYMERISATION DE LA TUBULINE

Tous les composés synthétisés ont été évalués en tant qu'inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline (Tableau 10). Les essais biologiques sur la tubuline ont été réalisés par Sylviane Thoret (équipe de Joëlle Dubois, ICSN) à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles.

Tableau 10. Inhibition de la polymérisation de la tubuline des composés 233, 249-250, 253-257, 279-286. ^a CI_{50} est la concentration du composé nécessaire pour inhiber l'assemblage de microtubules à un taux de 50%, CI_{50-VLN} est la concentration de vinorelbine nécessaire pour inhiber l'assemblage de microtubules à un taux de 50% ^b $CI_{50-VLN} = 0,81 \pm 0,002 \mu M$ ^c $CI_{50-VLN} = 0,65 \pm 0,008 \mu M$



Entrée	R ₁	R ₂	Composé d'insertion	CI_{50}/CI_{50-VLN}^a	Composé de réduction	CI_{50}/CI_{50-VLN}^a
1	Me	H	233	22,2 ^b	279	3,1 ^b
2	Et	H	249	>100 ^b	280	>100 ^b
3	Bn	H	250	>100 ^b	281	>100 ^b
4	Me	CO ₂ Me	253	7,4 ^b	282	10,6 ^b
5	Me	CONHAlI	254	4,6 ^b	283	6,0 ^b
6	Me	CONHBn	255	16,0 ^c	284	4,1 ^c
7	Me	CONHi-Pr	256	2,0^b	285	0,6^b
8	Me	CONHt-Bu	257	16,0 ^c	286	1,7^c

La plupart des composés, sauf **249**, **250**, **280** et **281** ont montré une activité inhibitrice de l'assemblage des microtubules. Le composé **285** s'est avéré être plus actif ($CI_{50-285}/CI_{50-VLN} = 0,6$) que notre composé de référence, la vinorelbine **4**, et les composés **256** et **286** ont une activité similaire ($CI_{50-256}/CI_{50-VLN} = 2,0$ et $CI_{50-286}/CI_{50-VLN} = 1,7$).

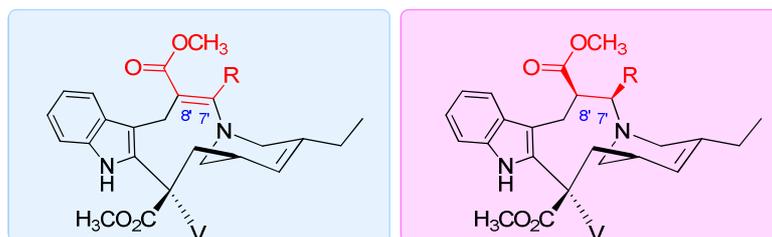
De façon générale, la position 8' ne tolère pas de groupements trop encombrants, puisque le passage de l'ester méthylique **233** à l'ester éthylique **249** ou benzylique **250** induit une perte totale d'activité. La position 7', au contraire, peut être fonctionnalisée par des groupements encombrants, comme dans le cas du composé **285**, qui est le plus actif.

De plus, généralement, les composés réduits **279-286** montrent une meilleure activité inhibitrice de la polymérisation de la tubuline que les β -énaminoesters **233**, **249-250**, **253-257** correspondants. Les composés **282** et **283**, dont l'activité est comparable à celle des composés **253** et **254** font exception à la règle.

Le dihydrotriazole 1, 4, 5-trisubstitué **277** a été également évalué en tant qu'inhibiteur de l'assemblage des microtubules. Cependant, il n'a pas montré d'activité biologique intéressante. Nous avons considéré que cela est dû à un trop grand encombrement du cycle dihydrotriazole, mais aussi à l'orientation du bras acétate. Ce manque d'activité biologique, nous confirme encore une fois, qu'une orientation des fonctionnalisations au dessus du plan moyen de la partie velbenamine est indispensable à l'activité biologique.

B) CYTOTOXICITE

La toxicité des composés **233**, **253-257**, **279**, **282-286**, inhibiteurs de l'assemblage des microtubules, a été évaluée sur quatre lignées cellulaires différentes : le carcinome colorectal HCT116, la leucémie K562, le glioblastome U87-MG et les cellules endothéliales HUVEC (Tableau 11). Les essais de cytotoxicité ont été réalisés par Maria Concepción García Alvarez (équipe de Johanna Bakala, ICSN) à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles.

Tableau 11. Cytotoxicité de composés 233, 253-257, 279, 282-286 ^aCI₅₀ correspond à la concentration nécessaire pour l'inhibition de la prolifération cellulaire à un taux de 50% après 72 h d'incubation

Entrée	R	Composé d'insertion	CI ₅₀ ^a (nM)				Composé de réduction	CI ₅₀ ^a (nM)			
			HCT116	K562	U87	HUVEC		HCT116	K562	U87	HUVEC
1	VLN 4	-	-	-	-	-	-	35	20	2	2
2	H	233	500	500	700	250	279	18	15	7	8
3	CO ₂ Me	253	500	1000	700	100	282	6	5	1,5	2,5
4	CONHAll	254	1800	1000	3000	2000	283	45	50	10	25
5	CONHBn	255	250	80	10	40	284	200	75	70	60
6	CONHi-Pr	256	2500	1500	350	700	285	100	60	20	150
7	CONH <i>t</i> -Bu	257	60	50	25	25	286	300	250	80	70

Dans la plupart des cas, les activités sont de l'ordre du nanomolaire. Encore une fois, la majorité des β -aminoesters **279**, **282-286** se sont avérés être 10 à 500 fois plus actifs que leurs équivalents non-réduits **233**, **253-257**. Exception faite des composés **255** et **284**, qui ont montré des toxicités similaires et les composés **257** et **286**, pour lesquels le composé réduit **286** est moins actif.

Il est important de noter qu'aucune corrélation entre la cytotoxicité et l'activité inhibitrice de la polymérisation de la tubuline n'a pu être établie, les composés les plus actifs sur la tubuline n'étant pas les plus cytotoxiques et inversement. Ainsi, par exemple, les composés **279** ($IC_{50}/IC_{50-VLN}=3,1$) et **282** ($IC_{50}/IC_{50-VLN}=10,6$) sont plus actifs que la vinorelbine **4** au niveau des cellules HCT116 et K562. De plus, le composé **282** est aussi actif que **4** sur la lignée U87 et les cellules endothéliales.

C) EFFET SUR LE CYCLE CELLULAIRE

Pour confirmer que le mode d'action des composés les plus cytotoxiques **279** et **282** est similaire à celui de la vinorelbine **4**, leur effet sur la distribution du cycle cellulaire des lignées K562 et U87-MG a été étudié par cytométrie de flux, à différentes concentrations (Figure 64). Ces travaux ont été réalisés par Dr. Jérôme Bignon (équipe de Johanna Bakala, ICSN) à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles.

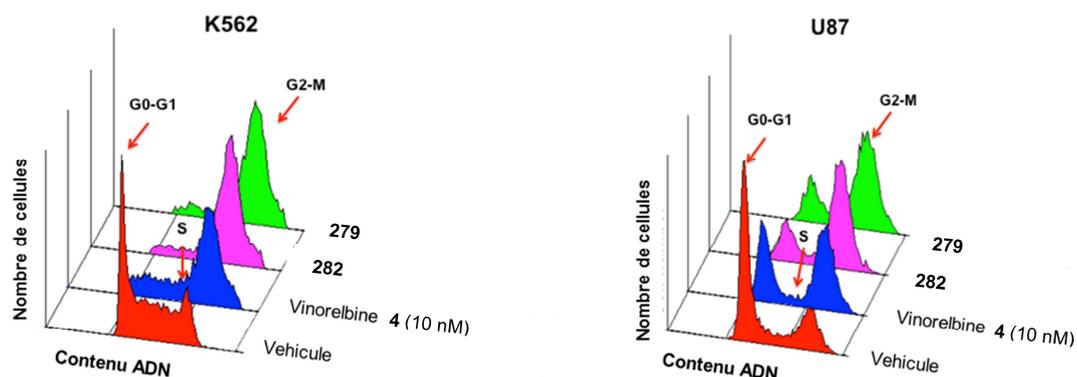


Figure 64. Effet des composés 279 et 282 sur la distribution du cycle cellulaire de la leucémie K562 et du glioblastome U87-MG étudié par cytométrie de flux. Le contenu en ADN a été déterminé par coloration avec l'iodure de propidium.

Après 24 h de traitement des cellules K562 avec 50 nM de **272** ou 10 nM de **275**, une augmentation nette du nombre des cellules arrêtées en phase G₂-M a été observée. Un profil similaire du cycle cellulaire a été obtenu avec les cellules U87-MG après 24 heures de traitement avec 50 nM de **272** ou 5 nM de **275**.

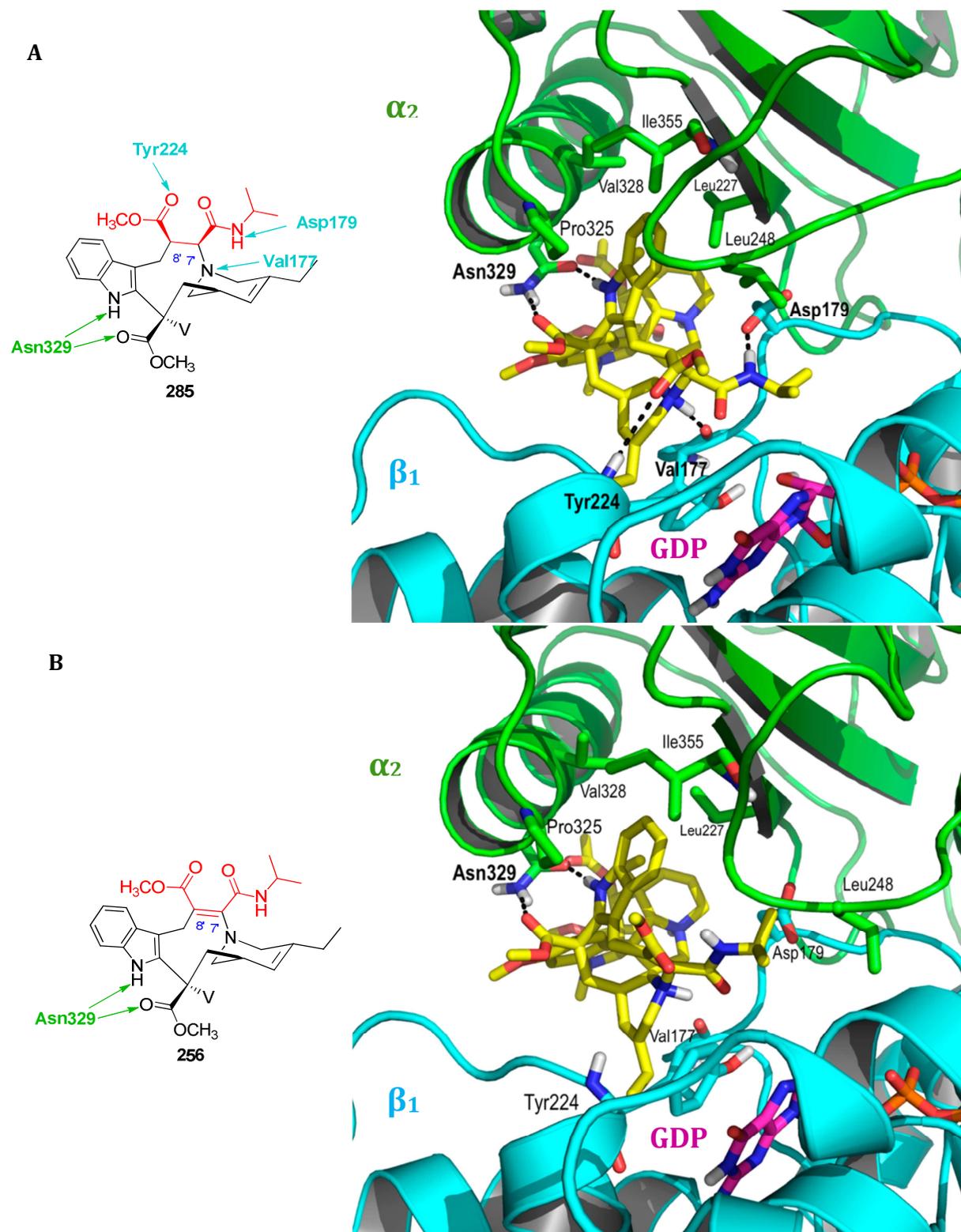
Le fait que les composés arrêtent le cycle cellulaire en phase G₂-M, indiquerait que leur activité sur le fuseau mitotique et leur mode d'action sont similaires à ceux des vinca-alcaloïdes connus.

2. ETUDES DE MODELISATION MOLECULAIRE

Afin de comprendre les différences d'activité biologique observées entre les composés, des études de modélisation moléculaire ont été réalisées grâce à la mise en place d'une collaboration avec l'équipe de Prof. Federico Gago à l'Université d'Alcalá, en Espagne.

Les complexes formés par les composés **256** et **285** avec l'interface de la tubuline $\beta_2\alpha_1$, ont été modélisés par Dr. Claire Coderch. Les deux composés sont localisés entre la sous-unité α_2 lié à une molécule de GTP et la sous-unité β_1 lié à une molécule de GDP. Nous avons observé une adaptation mutuelle entre les ligands et les résidus des acides aminés du site de fixation au niveau de la tubuline pendant les simulations de dynamique moléculaire. Ce phénomène a permis

d'améliorer les interactions intermoléculaires et de fournir des détails pour chaque complexe (Figure 65).



Les interactions de van der Waals et les liaisons hydrogènes observées pour le composé **285** sont globalement similaires à celles déjà décrites pour la vinblastine **1**.^{13b} Cependant, l'élargissement du cycle C' favorise la formation d'une liaison hydrogène supplémentaire. Ainsi, la liaison hydrogène entre l'azote NH-28' du groupement CONH*i*-Pr en position 7' et la chaîne latérale de l'Asp_{β1}179 favorise la formation d'une liaison hydrogène directe entre le groupement amine chargé N-6' de la partie velbenamine et le carbonyle de la Val_{β1}177, tandis que dans le cas de la vinblastine **1** cette interaction nécessite la participation d'une molécule d'eau. Cette liaison hydrogène, ainsi que la flexibilité du cycle C' à 10 chaînons et les groupements en position 7' et 8', favorisent la formation de deux liaisons hydrogène supplémentaires avec le résidu de l'Asn_{α2}329, l'une entre le carbonyle du carboxamide et l'azote indolique NH-17' du cycle B' et l'autre entre l'azote du carboxamide et le carbonyle C-23' du cycle C'. De plus, le carbonyle de l'ester en position 8' établit une liaison hydrogène avec le NH de la Tyr_{β1}224, acide aminé qui fait partie du site d'hydrolyse du GTP (voir chapitre I.A.1). La fixation du composé **285** est également stabilisée par des interactions van der Waals entre le groupement *i*-Pr de la fonctionnalisation en position 7' et la chaîne latérale de la Leu_{α2}248 de la boucle T7 de la sous-unité α₂ de la tubuline.

Contrairement au composé réduit **285**, la double liaison du composé **256** empêche la bonne orientation des différents groupements. Ainsi, les deux substituants en position 7' et 8' en face de la sous-unité α₂ forcent le réajustement de la boucle T7. L'interaction de van der Waals entre le groupement *i*-Pr et Leu_{α2}248 et Ala_{α2}247 se fait toujours, mais elle empêche la formation des liaisons hydrogène avec l'Asp_{β1}179 et la Tyr_{β1}224. Cet arrangement de la molécule induit une différence d'orientation de la partie vindoline dans le site de fixation, ainsi l'interaction entre l'azote N-6' de la partie velbenamine et le carbonyle de la Val_{β1}177 nécessite la participation d'une molécule d'eau. Les seules liaisons hydrogène maintenues sont celles avec l'Asn_{α2}329 et cela grâce au cycle C' élargi.

Ces études de modélisation moléculaire nous ont également permis de comprendre pourquoi le passage d'un ester méthylique à un ester éthylique ou benzylique en position 8' est accompagné d'une perte totale d'activité. En fait, les substituants en position 8' sont orientés vers la poche formée par la sous-unité α₂ (Figure 66). Cette poche est assez proche du ligand et ne tolère pas de groupements trop encombrants.

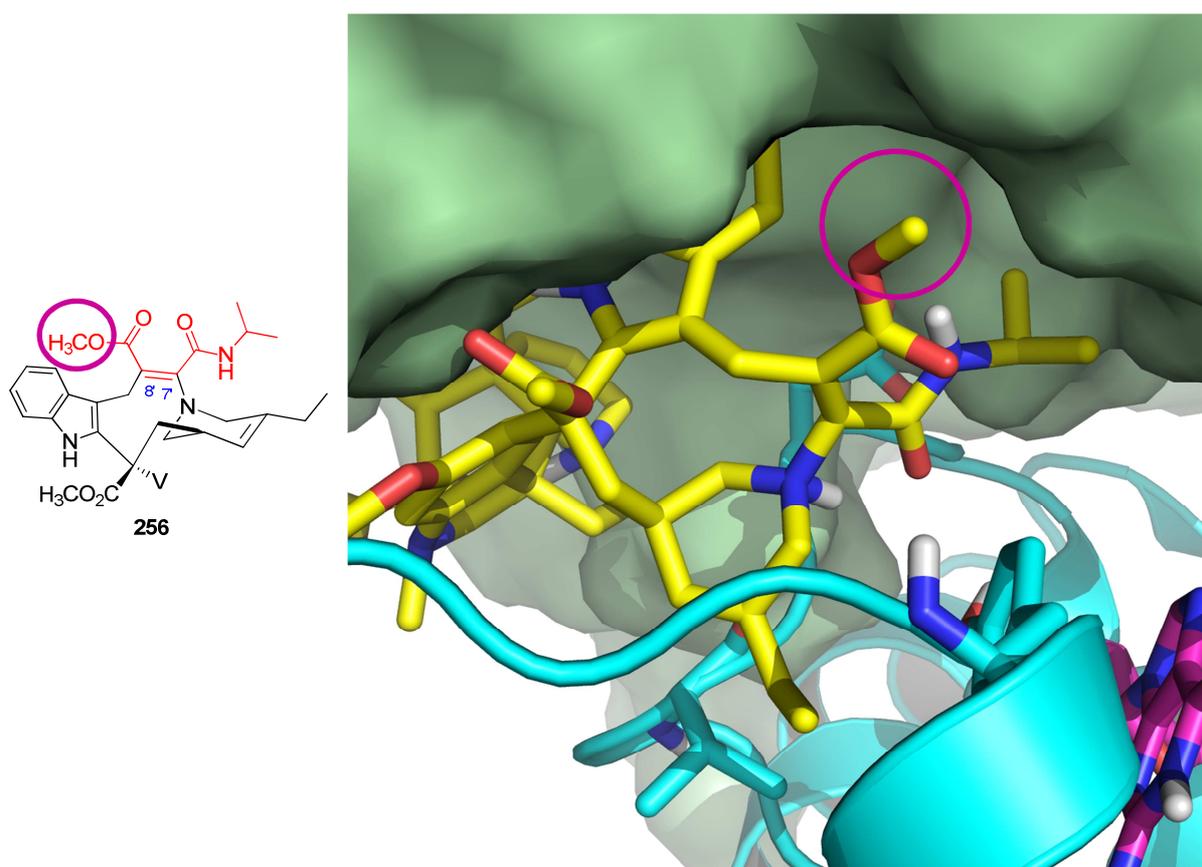


Figure 66. Image agrandie du composé 256 dans son site de fixation. L'ester en position 8' étant proche de la sous-unité α_2 , les groupements trop encombrants ne sont pas tolérés en cette position.

3. CONCLUSION

Dix-sept nouveaux dérivés de la 7'-homo-anhydrovinblastine fonctionnalisés en position 7' et 8' ont été synthétisés en une ou deux étapes à partir de la vinorelbine **4**. Les β -énamoesters **233**, **249-250**, **253-257** ont été obtenus dans des conditions douces grâce à une réaction d'insertion d'acétylènes activés mono- ou disubstitués, symétriques ou asymétriques, au niveau du pont gramine de la vinorelbine **4** et cela de façon régiosélective, confirmant ainsi notre hypothèse de départ.

Ultérieurement, ces β -énamoesters ont été réduits en utilisant deux systèmes réducteurs différents, donnant accès aux 8'-(*R*)- ou 7'-(*S*), 8'-(*R*)- β -aminoesters énantio-purs **279-286**. Ceux-ci possèdent l'orientation des fonctionnalisations indispensable à l'activité biologique.

Tous les composés ont été testés en tant qu'inhibiteurs de l'assemblage des microtubules. Ainsi le composé **285** a montré une meilleure activité que la vinorelbine **4**. Nous avons pu montrer que, de façon générale, les β -aminoesters **279-286** sont plus actifs que les β -

énaminoesters **233**, **249-250**, **253-257** correspondants à cause de leur plus grande flexibilité au niveau du cycle C' permettant une meilleure adaptation dans le domaine des vinca.

Nous avons également pu conclure que la position 7' tolère des groupements encombrants, contrairement à la position 8'. En fait, les substituants en position 8' sont orientés vers la poche formée par la sous-unité α_2 , tandis que les groupements en 7' se placent à l'interface interdimérique.

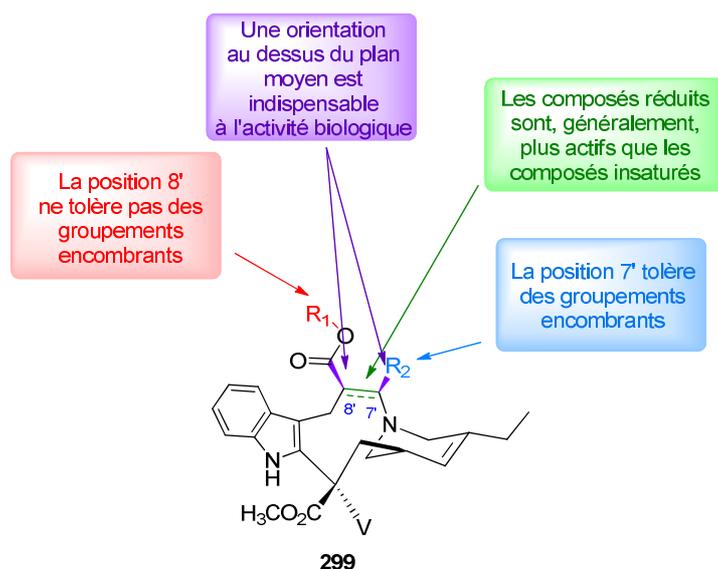


Figure 67. Relations structure-activité des nouveaux composés synthétisés **299**.

Deux β -aminoesters **279** et **282**, moins actifs sur tubuline, se sont avérés être très cytotoxiques. En particulier, le composé **282** est plus cytotoxique que la vinorelbine **4** sur les lignées cellulaires HCT116 et K562. Toutefois, le mode d'action de ces composés semble être similaire à celui de la vinorelbine **4**, puisque l'étude de leur effet sur le cycle cellulaire a montré qu'ils l'arrêtent en phase G_2 -M.

Tous ces résultats nous ont permis de concevoir deux familles d'hybrides vinblastine-phomopsine avec la chaîne latérale en position 7' ou 8', dont la synthèse et l'évaluation biologique sera décrite dans le chapitre suivant.

III. HYBRIDES VINBLASTINE-PHOMOPSINE

A. INTRODUCTION ET OBJECTIFS

Dans la dernière partie de nos travaux nous nous sommes intéressés aux hybrides phomopsine-vinblastine possédant un macrocycle C' à 10 chaînons, en utilisant la méthodologie mise au point pour la synthèse des dérivés de la 7'-*homo*-anhydrovinblastine **212** (voir chapitre II). Ainsi nous avons envisagé de synthétiser des hybrides avec la chaîne latérale de la phomopsine A en position 8', pour obtenir les composés **213**, ou en position 7', pour accéder aux composés **214**, tout en contrôlant la stéréochimie des nouveaux centres asymétriques (Schéma 73).

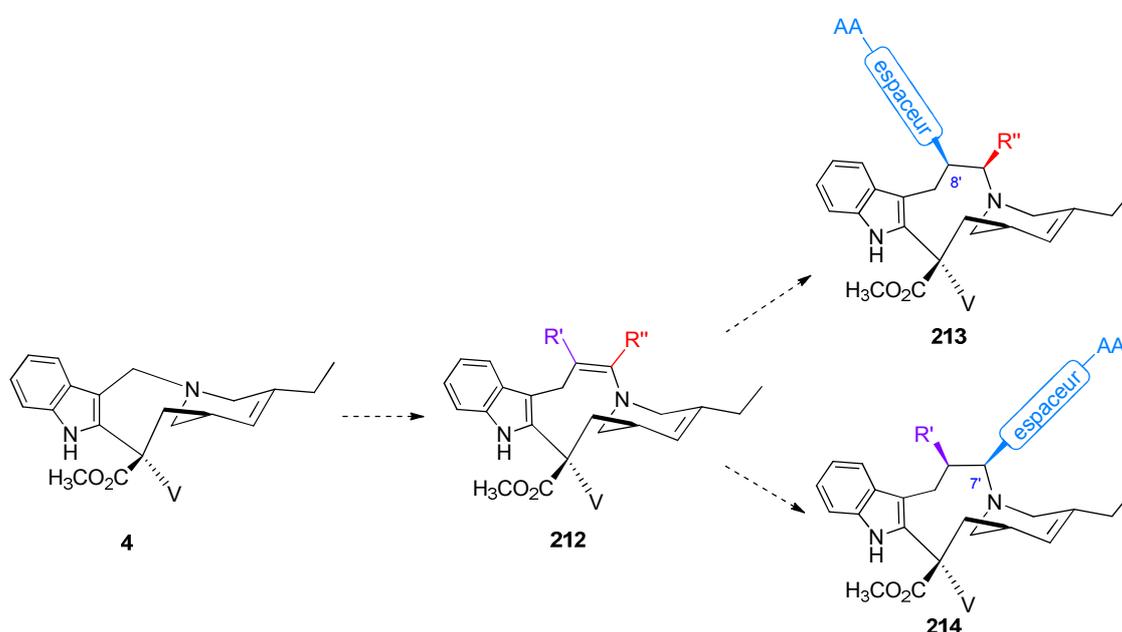


Schéma 73. Hybrides vinblastine-phomopsine avec un cycle C' à 10 chaînons envisagés.

B. HYBRIDES EN POSITION C-8'

1. INTRODUCTION

Dans un premier temps nous nous sommes intéressés à la synthèse des hybrides fonctionnalisés en position 8'. Pour cela, deux stratégies différentes ont été envisagées (Schéma 74) :

- ✓ l'insertion de l'alcyne **300** préalablement fonctionnalisé avec la chaîne latérale souhaitée, pour donner les composés de type **301**, puis, après réduction, les hybrides **302**. L'avantage de

cette approche convergente est que les dérivés de vinca-alcaloïdes ne sont manipulés qu'à la fin, ce qui évite des étapes délicates de purification.

✓ le passage par un synthon commun aldéhyde **304**, facilement fonctionnalisable par réaction d'amination réductrice pour conduire aux hybrides **305**.

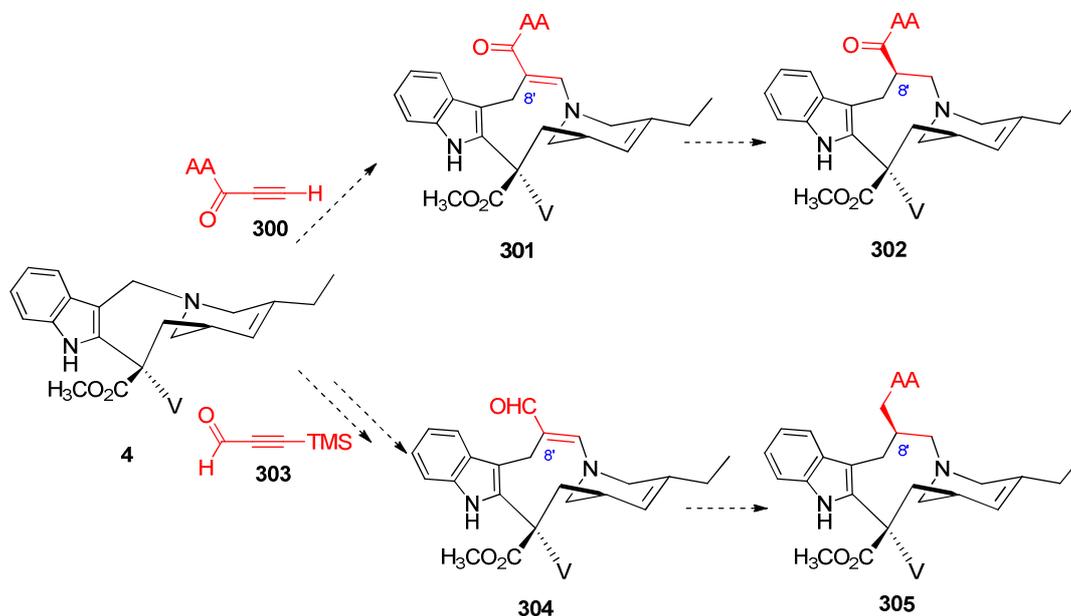


Schéma 74. Stratégies envisagées pour la synthèse d'hybrides en position 8'.

Le risque de ces deux approches est que l'encombrement en C-8' induise une perte totale d'activité biologique. En effet, nous avons vu au chapitre précédent que la position 8' ne tolère pas des groupements trop encombrants. Cependant, il est possible que l'espaceur méthylène des composés **305** soit assez flexible pour bien orienter la chaîne peptidique.

2. SYNTHÈSE

A) « BRAS PEPTIDIQUES » SOUS FORME AMINE

Afin de pouvoir étudier la faisabilité des deux stratégies envisagées, nous nous sommes intéressés, dans un premier temps, à la synthèse des bras peptidiques.

Nous avons travaillé sur la chaîne latérale saturée de la phomopsine A **6** obtenue à partir des acides aminés commerciaux naturels : la L-Proline (L-Pro), la L-Isoleucine (L-Ile) et l'acide L-aspartique (L-Asp). En effet, la synthèse de la véritable chaîne latérale de la phomopsine A est longue⁵⁷ et même si les doubles liaisons des acides déhydroaminées induisent une rigidité conformationnelle, il a été montré par Lacey *et al.*⁵⁹ (voir chapitre I.B.2.B) que la saturation de la chaîne peptidique de la phomopsine A **6** diminue peu son activité biologique.

L'objectif de notre travail est d'obtenir rapidement une nouvelle série d'hybrides vinblastine-phomopsine afin de déterminer leur activité biologique. En fonction de cette activité, nous envisagerons, mais seulement dans un deuxième temps, de greffer la véritable chaîne de la phomopsine A **6**.

Afin d'étudier l'influence de cette chaîne, trois peptides de longueur différente ont été élaborés : la L-ProOMe **306**, le dipeptide L-ProIleOMe **309** et le tripeptide L-ProIleAsp(OBn)₂ **314**, analogue saturé de la chaîne peptidique de la phomopsine A **6**. Une fois greffées sur la partie alcaloïde, ces trois chaînes donneront accès à trois hybrides vinblastine-phomopsine de type **213**.

La L-ProOMe **306** est commerciale, alors que le di et tripeptide (L-ProIleOMe **309** et L-ProIleAsp(OBn)₂ **314**), dont la synthèse a été déjà réalisée au laboratoire,¹²⁸ ont été préparés par couplage peptidique classique (Schéma 75).

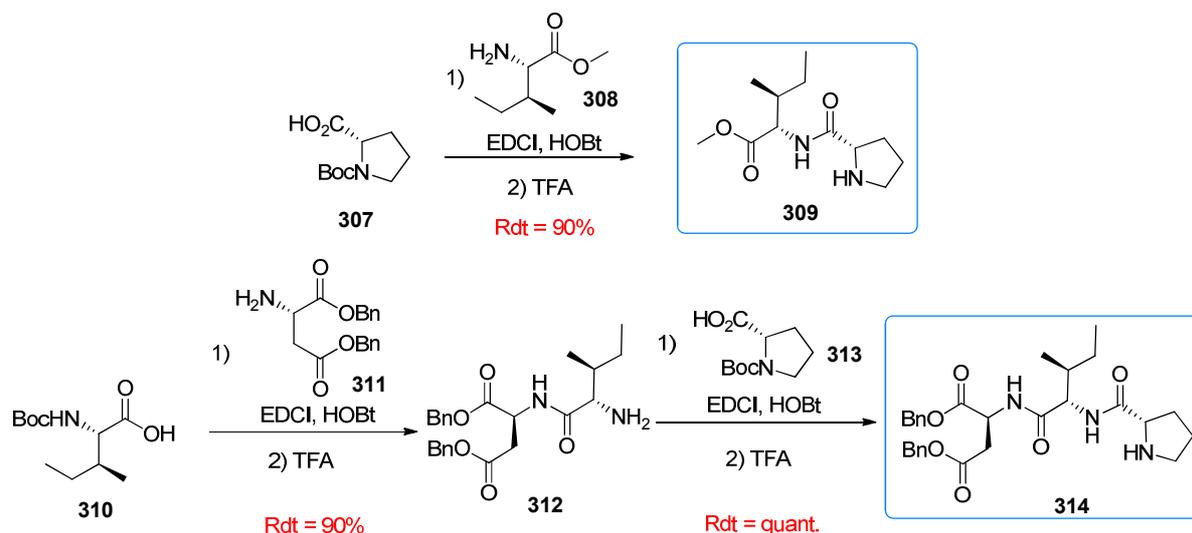


Schéma 75. Préparation du dipeptide **309** et du tripeptide **314**.

De l'EDCI¹⁷⁹ a été utilisé comme agent de couplage et l'HOBt¹⁸⁰ comme additif afin de limiter les réactions secondaires, comme la formation du N-acylurée **317** très stable (Schéma 76), et la racémisation de centres asymétriques.

¹⁷⁹ Sheedan, J. C., Cruickshank, P. A., Boshart, G. L. *J. Org. Chem.*, **1961**, *26*, 2525-2528

¹⁸⁰ (a) König, W., Geiger, R. *Chem. Ber.*, **1970**, *103*, 788-798 (b) König, W., Geiger, R. *Chem. Ber.*, **1970**, *103*, 2024-2033

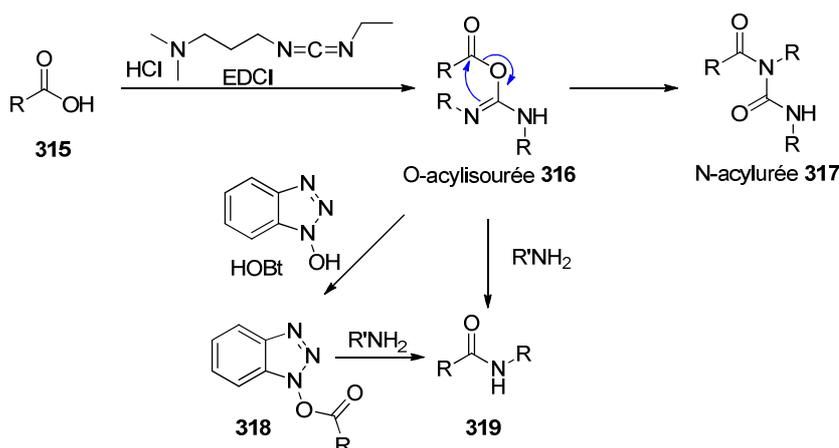
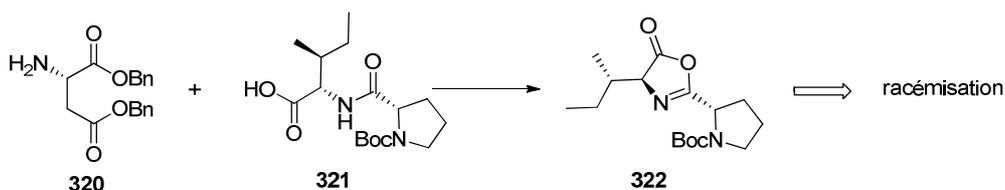


Schéma 76. Formation de la liaison peptidique par activation.

Pour accéder au tripeptide ProlleAsp(OBn)₂ **314** un couplage entre NH₂IleAsp(OBn)₂ **312** et BocProOH **313** a été privilégié *versus* un couplage entre NH₂Asp(OBn)₂ **320** et BocProlleOH **321** (Schéma 77), afin d'éviter la formation de l'oxazolone **322**, qui conduirait à une racémisation partielle.

Schéma 77. Formation de l'oxazolone 322 lors du couplage entre BocProlleOH et NH₂Asp(OBn)₂.

B) SYNTHÈSE D'HYBRIDES

Les deux stratégies envisagées ont été abordées en parallèle pour déterminer qu'elle était l'approche la plus adaptée pour accéder aux hybrides **213**. D'un côté, la fonctionnalisation des alcynes par des chaînes peptidiques pour former les composés **300** a été étudiée, de l'autre côté, l'obtention du composé d'insertion aldéhyde **304** a été envisagée.

(1) Alcynes fonctionnalisés par des peptides

La synthèse d'alcynes fonctionnalisés par le L-ProOMe **306**, L-ProlleOMe **309** et ProlleAsp(OBn)₂ **314**, *via* à un couplage peptidique direct avec l'acide propiolique **323**, a été étudiée.

Un essai de couplage entre l'acide propiolique **323** et le L-ProOMe **306** a été réalisé (Schéma 78), mais il n'a pas conduit à l'alcyne **324** attendu. Le produit majoritaire de la réaction

est l'alcène **325**, obtenu par addition de Michael de la L-ProOMe sur la triple liaison de l'alcyne activé **323**.

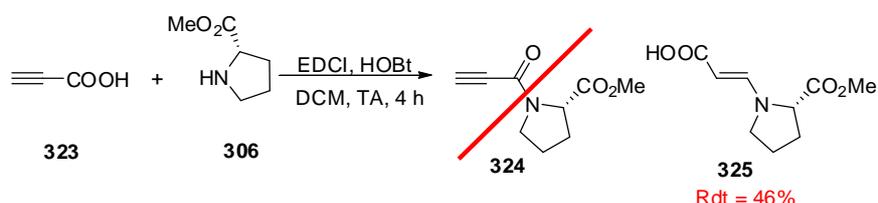


Schéma 78. Formation de l'alcène **325**.

Compte tenu que la deuxième stratégie (voir ci-dessous), suivie simultanément, nous a donné des résultats plus encourageants, nous nous sommes concentrés sur cette approche et aucun autre essai de fonctionnalisation d'alcynes n'a été réalisé à cette étape de notre projet.

(2) Synthone commun de type aldéhyde

Pour synthétiser le synthone commun aldéhyde **304**, la vinorelbine **4** a été mise en réaction avec 1,1 équivalents de 3-(triméthylsilyl)propionaldéhyde commercial **326** à température ambiante pendant deux heures, le produit attendu étant l'intermédiaire silylé **327** (Schéma 79).

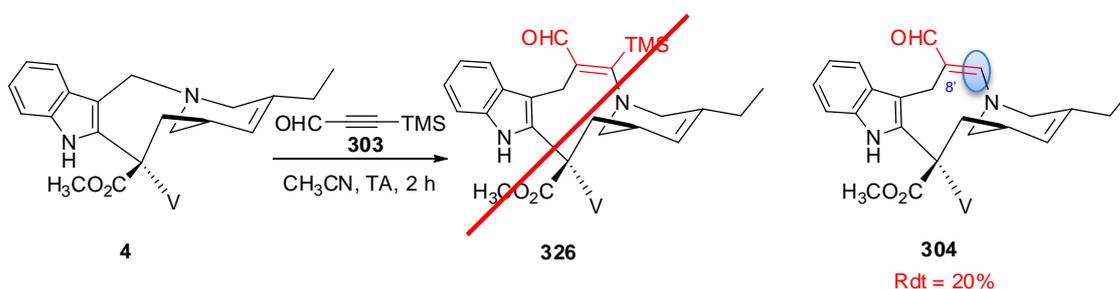


Schéma 79. Synthèse du synthone commun aldéhyde **304**.

Cependant, le spectre RMN ^1H du produit majoritaire isolé (Figure 68) correspond au composé **304**, puisqu'il ne présente pas des pics caractéristiques du groupement silylé, mais un signal correspondant au proton énamine H-7'.

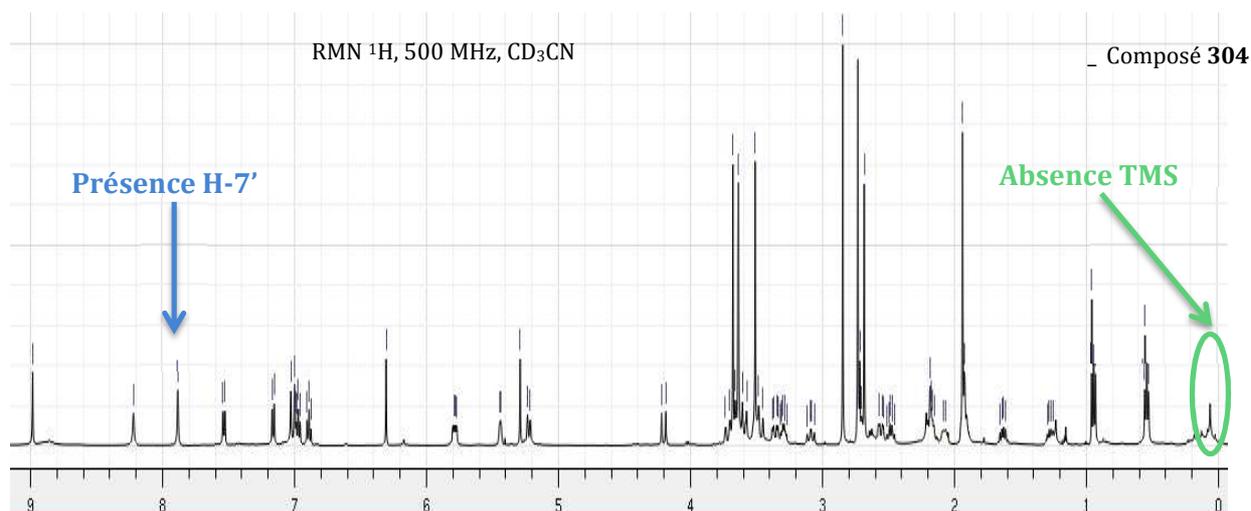


Figure 68. Spectre RMN ^1H du composé 304.

Pour confirmer ces résultats, nous avons effectué la même réaction avec 1,1 équivalents de 3-(triméthylsilyl)propionate d'éthyle **327**. Cela a conduit majoritairement au composé d'insertion **249** (Schéma 80), obtenu auparavant avec un meilleur rendement en utilisant du propionate d'éthyle **238**.

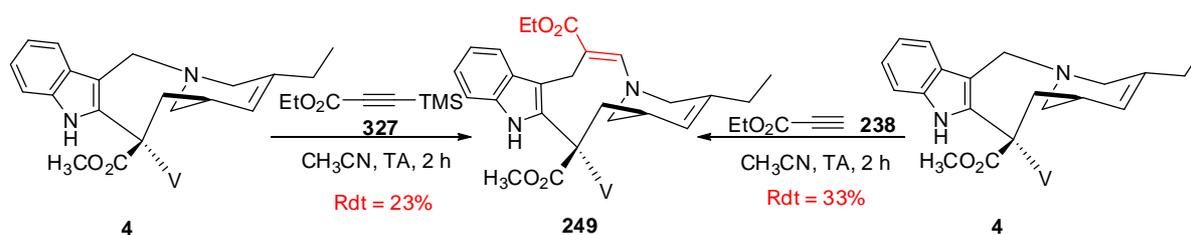


Schéma 80. Synthèse du composé 249 en utilisant du 3-(triméthylsilyl)propionate d'éthyle.

Comme les groupements silylés se déprotègent facilement en milieu basique, nous avons émis l'hypothèse que la basicité de l'alcaloïde suffirait pour déprotéger le triméthylsilyle. Cela pourrait également expliquer le faible rendement de l'insertion, puisqu'une partie de la vinorelbine **4** est utilisée pour déprotéger le groupement silylé et ne peut plus réagir avec l'alcyne. Pour confirmer cette hypothèse, la réaction d'insertion a été suivie de l'ajout de deux équivalents de diméthylamine (Schéma 81). Ceci a permis d'améliorer le rendement de la réaction de 20 à 36%, confirmant ainsi notre hypothèse.

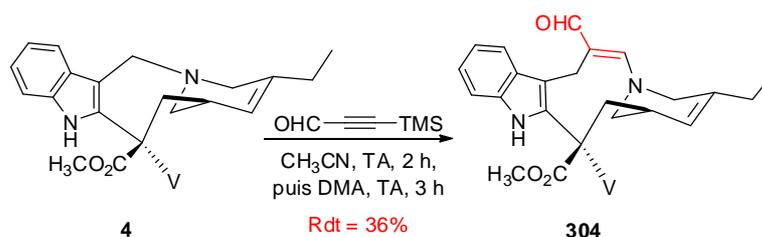


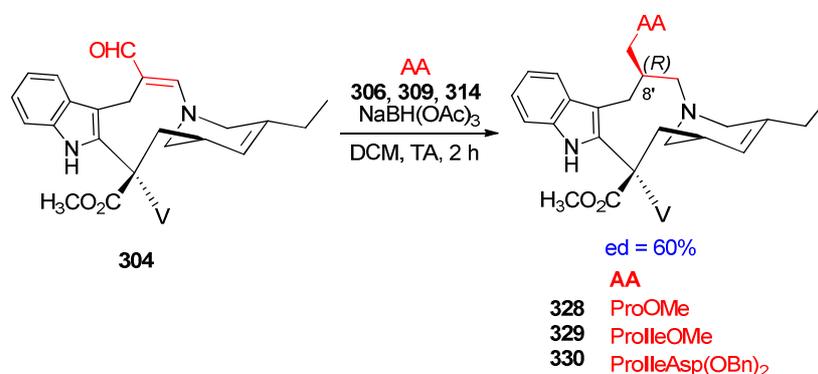
Schéma 81. Amélioration du rendement pour la synthèse du composé 304.

Il est important de mentionner que l'utilisation du carbonate de potassium, souvent employé pour déprotéger les groupements silylés,¹⁸¹ ne nous pas permis d'isoler le composé **304**. D'autres essais sont en cours au laboratoire, avec du fluorure d'argent (AgF) ou du fluorure de tributylammonium (TBAF), afin de déprotéger l'alcyne *in situ*.

(3) Etape d'amination réductrice

Les différentes chaînes peptidiques **306**, **309** et **314** obtenues ont été engagées dans une réaction d'amination réductrice avec l'aldéhyde **304**. En utilisant 1,8 équivalents d'amine et 2,6 équivalents de triacétoxyborohydrure de sodium,¹⁸² les hybrides **328-330** ont été obtenus avec des rendements compris entre 13 et 26% (Tableau 12).

Tableau 12. Synthèse d'hybrides 328-330 par amination réductrice



Entrée	Hybride	AA	Rdt (%) ^c
1	328	L-ProOMe	16
2	329	L-ProlleOMe	13
3	330	L-ProlleAsp(OBn) ₂	26

Les études des bruts réactionnels, réalisées par CLHP, ont permis de détecter deux diastéréoisomères en rapport de 80 : 20. Seuls les composés majoritaires ont pu être isolés par colonne de silice, en utilisant comme éluant un mélange acétate d'éthyle/acétone.

Une configuration 8'-(R) du nouveaux centre stéréogène crée a été déterminée par RMN pour les hybrides **328-330**. Par exemple, pour le composé 8'-(R) **330**, des corrélations nOe peuvent être observées entre les protons H-30'β et H-25'β, H-25'β et H-9'β, H-9'β et H-1'β sur la

¹⁸¹ Voir par exemple : Thompson, C. F., Jamison, T. F., Jacobsen, E. N. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 9974-9983

¹⁸² Brevet US2010/173889A1

face supérieure, et entre les protons H-25' α et H-8' α , H-1' α et H-2' α sur la face inférieure (Figure 69).

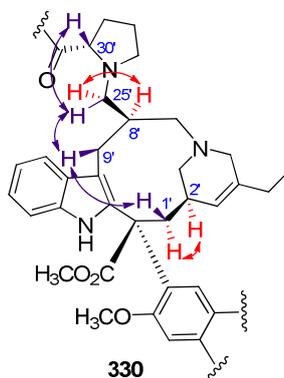
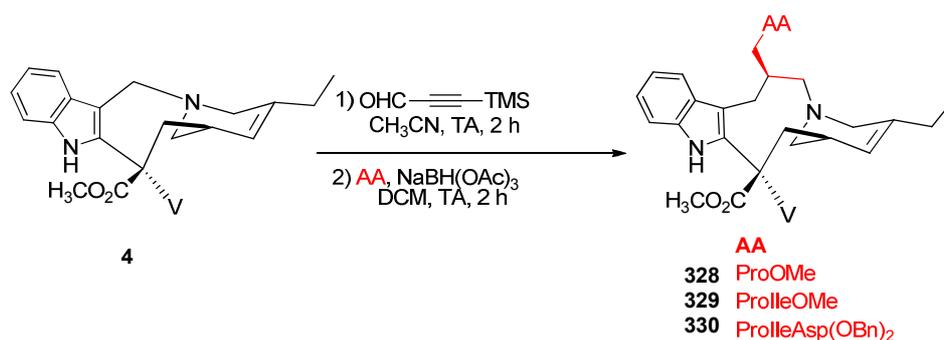


Figure 69. Quelques corrélations nOe permettant de déterminer la configuration 8'-(*R*) du composé 330.

La configuration absolue 8'-(*R*) observée correspond à celle désirée pour induire une bonne orientation de la chaîne peptidique au niveau du site de fixation.

Compte-tenu des faibles rendements observés précédemment, nous avons envisagé de synthétiser les composés **328-330** en version monotope. Pour cela la vinorelbine **4** a été mise en réaction avec 1,1 équivalents de 3-(triméthylsilyl)propiolaldéhyde à température ambiante. Après deux heures d'agitation nécessaires pour former le composé d'insertion **304**, 1,8 équivalents d'amine secondaire **306**, **309** et **314** ont été ajoutés au milieu réactionnel, suivis de 2,6 équivalents de triacétoxyborohydrure de sodium. Ainsi, les composés souhaités **328-330** ont été isolés avec des rendements légèrement améliorés (Tableau 13) par rapport aux rendements correspondant à la synthèse en deux étapes. L'excès diastéréoisomérique et la configuration absolue du C-8' restent les mêmes.

Tableau 13. Synthèse d'hybrides 328-330 par amination réductrice en version monotope



Entrée	Hybride	AA	Rdt _{deux étapes} (%)	Rdt _{monotope} (%)
1	328	L-ProMe	6	10
2	329	L-ProlleOMe	5	11
3	330	L-ProlleAsp(OBn) ₂	9	27

Les rendements restent, toutefois, faibles, ce qui peut être expliqué par la difficulté d'hydrolyser le complexe amine-borane formé au cours de la réaction. En effet, la présence d'un groupement amine tertiaire serait propice à la formation d'une liaison azote-bore forte, difficile à rompre. Une optimisation des conditions est actuellement en cours au laboratoire. L'utilisation d'éthanolamine pour favoriser la rupture de la liaison azote-bore est notamment envisagée.¹⁸³

Notons qu'au minimum deux équivalents d'hydrure sont nécessaires pour réduire l'iminium en C-25', formé par condensation de l'amine sur l'aldéhyde, mais aussi le motif β-énaminoester. Deux formes tautomères **331** et **332** sont certainement présentes dans le milieu réactionnel, afin de favoriser cette double réduction (Schéma 82).

¹⁸³ Pour un exemple voir : Collins, C. J., Lanz, M., Singaran, B. *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40, 3673-3676

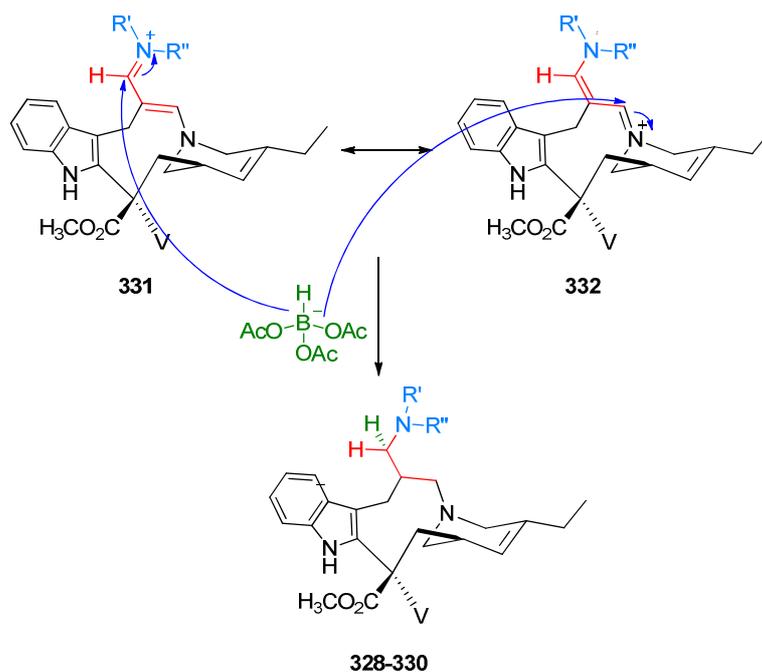


Schéma 82. Intermédiaires potentiels de l'amination réductrice.

IL est important de noter que la réduction de l'aldéhyde **304** en présence du triacétoxyborohydrure de sodium ne fonctionne pas. La même observation a été effectuée par Cimarelli *et al.* au cours de leurs travaux sur la réduction des β -énaminoesters énantiopures (voir Chapitre II.C.4). Ils ont expliqué ce manque de réactivité par la faible basicité des β -énaminones.¹⁷⁵ Ainsi, la réduction doit se faire impérativement après la condensation entre l'amine et l'aldéhyde **304**.

C) CONCLUSION

Deux stratégies différentes ont été étudiées en parallèle pour synthétiser les hybrides **213** avec la chaîne latérale saturée de la phomopsine A en position 8' (Schéma 83).

Une fois les peptides **306**, **309** et **314** synthétisés, nous nous sommes intéressés à la synthèse d'alcynes activés monofonctionnalisés **300**, portant la chaîne peptidique souhaitée. Cependant cela n'a pas pu être possible puisque l'addition conjuguée 1,4 des amines est favorisée.

Finalement, les hybrides **328-330** ont pu être synthétisés par amination réductrice de l'intermédiaire aldéhyde **304**. Malgré les faibles rendements obtenus, cette voie nous a permis d'obtenir les hybrides **328-330** avec une configuration 8'-(*R*), indispensable au bon positionnement de la chaîne latérale, et avec un espaceur méthylène, supposé être assez flexible pour pouvoir orienter correctement la chaîne latérale dans le domaine vinca. Pour confirmer cette hypothèse, l'évaluation biologique de ces nouveaux composés **328-330** a été effectuée.

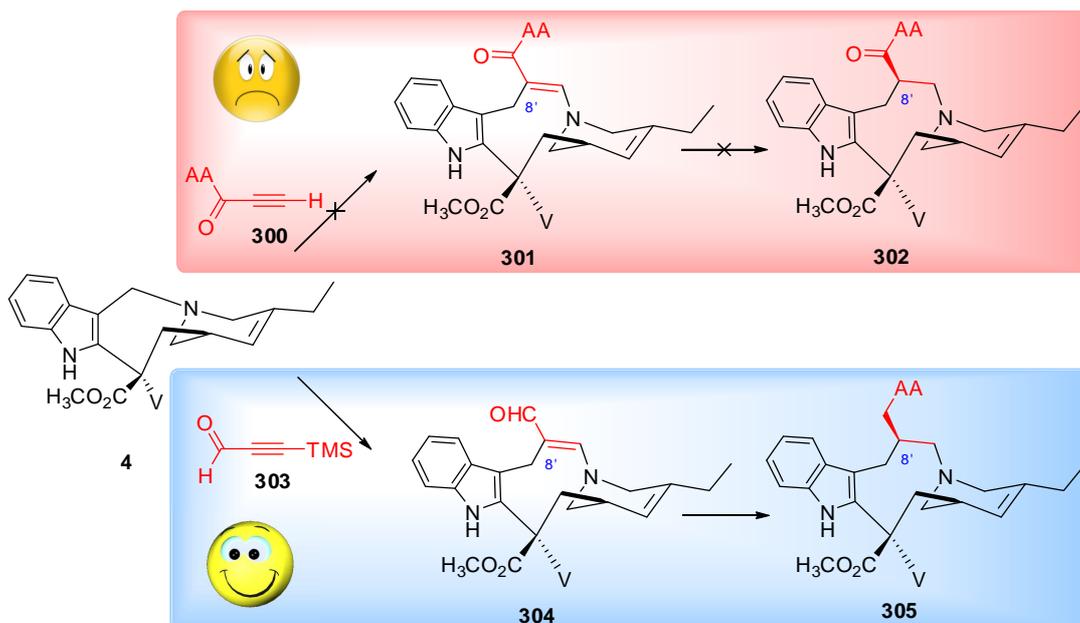


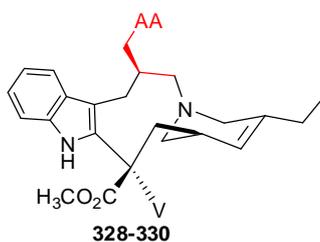
Schéma 83. Stratégies envisagées pour la synthèse d'hybrides en position 8'.

3. EVALUATION BIOLOGIQUE

A) INHIBITION DE LA POLYMERISATION DE LA TUBULINE

L'activité biologique des trois hybrides **328-330** dont les chaînes peptidiques **306**, **309** et **314** ont été insérées en position 8' de la 7'-homo-anhydrovinblastine a été évaluée sur l'inhibition de l'assemblage des microtubules (Tableau 14).

Tableau 14. Inhibition de la polymérisation de la tubuline des composés 328-330 ^a CI₅₀ est la concentration du composé nécessaire pour inhiber l'assemblage des microtubules à un taux de 50%, CI_{50-VLN} est la concentration de vinorelbine nécessaire pour inhiber l'assemblage des microtubules à un taux de 50% ^b CI_{50-VLN} = 0,57±0,009 μM



Entrée	AA	Hybride	CI ₅₀ /CI _{50-VLN} ^a
1	ProOMe	328	1,75 ^b
2	ProlleOMe	329	4,6 ^b
3	ProlleAsp(OBn) ₂	330	>100 ^b

Nous avons observé que les hybrides **328** et **329** inhibent la polymérisation de la tubuline à des concentrations de l'ordre du micromolaire, l'hybride **328** est légèrement moins actif que la vinorelbine **4**. Comme précédemment, l'activité biologique diminue avec l'encombrement stérique de la chaîne, puisque le composé **330** est inactif. Les deux groupements benzyle très encombrants pourraient avoir un impact négatif sur l'activité.

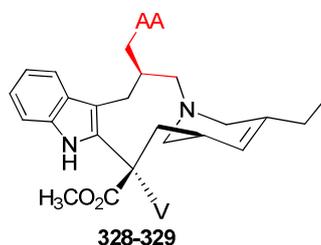
Le fait que les composés **328** et **329** soient actifs, contrairement à l'ester éthylique **249** et l'ester benzylique **250**, confirme notre hypothèse selon laquelle l'espaceur méthylène est assez flexible pour bien orienter la chaîne peptidique, même si celle-ci est assez encombrante.

Des études de modélisation moléculaire sont en cours afin de confirmer ces différentes hypothèses.

B) CYTOTOXICITE

La cytotoxicité des composés **328** et **329** inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline a également été évaluée sur deux lignées cellulaires différentes : le carcinome colorectal HCT116 et le glioblastome U87-MG (Tableau 15).

Tableau 15. Cytotoxicité de composés 328-329. CI_{50} correspond à la concentration nécessaire pour l'inhibition de la prolifération cellulaire à un taux de 50% après 72 h d'incubation



Entrée	AA	Hybride	CI_{50} (nM)	
			HCT116	U87
1	VLN	-	35	2
2	ProOMe	328	700	25
3	ProlleOMe	329	1000	400

Dans tous les cas, les activités des hybrides **328** et **329** sont inférieures à l'activité cytotoxique de la vinorelbine **4**. Les composés **328** et **329** se sont avérés être deux à vingt fois plus actifs sur la lignée cellulaire U87 que sur la lignée HCT116.

Il est important de noter que, cette fois-ci, le composé **328** le plus actif sur la tubuline est aussi celui le plus cytotoxique avec une forte spécificité pour la lignée U87.

4. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Trois nouveaux hybrides vinblastine-phomopsine **328-330** portant des chaînes peptidiques de longueur différente : ProOMe **306**, ProlleOMe **309** et ProlleAsp(OBn)₂ **314** en position 8' ont été synthétisés à partir de la vinorelbine **4** par amination réductrice de l'aldéhyde **304**. La même synthèse a été réalisée en version monotope permettant d'augmenter les rendements.

L'activité biologique des trois hybrides **328-330** en tant qu'inhibiteurs de l'assemblage des microtubules, ainsi que leur cytotoxicité a été évaluée. Cela nous a permis d'identifier que le composé **328** est légèrement moins actif que la vinorelbine **4** et que ce même composé **328** est beaucoup plus cytotoxique sur la lignée U87 que sur la lignée HCT116. Contrairement aux composés **328** et **329**, l'hybride **330** n'inhibe pas la polymérisation de la tubuline. Cela semble être dû au trop grand encombrement des groupements benzyle. Il est envisagé, par la suite, de déprotéger ces groupements pour accéder à un composé moins encombré avec une chaîne latérale correspondant à celle de l'octahydrophomopsine **19**.

Des études de modélisation moléculaire sont en cours afin d'expliquer les différences d'activité biologique observées et de vérifier si les chaînes latérales insérés en position 8' sont orientées de la même façon que celle de la phomopsine A dans le domaine vinca.

C. HYBRIDES EN POSITION C-7'

1. INTRODUCTION

Par la suite, la synthèse des hybrides avec la chaîne latérale de la phomopsine A **6** en position 7' a été étudiée (Schéma 84). Nous avons, là encore, envisagé deux possibilités pour introduire des chaînes peptidiques en position 7' :

- ✓ l'introduction des peptides au niveau des composés d'insertion **254-257** pour conduire aux composés de type **333**,
- ✓ l'obtention d'alcynes fonctionnalisés **334** suivie d'une étape d'insertion, puis de réduction pour arriver aux composés **335** et **326**, respectivement.

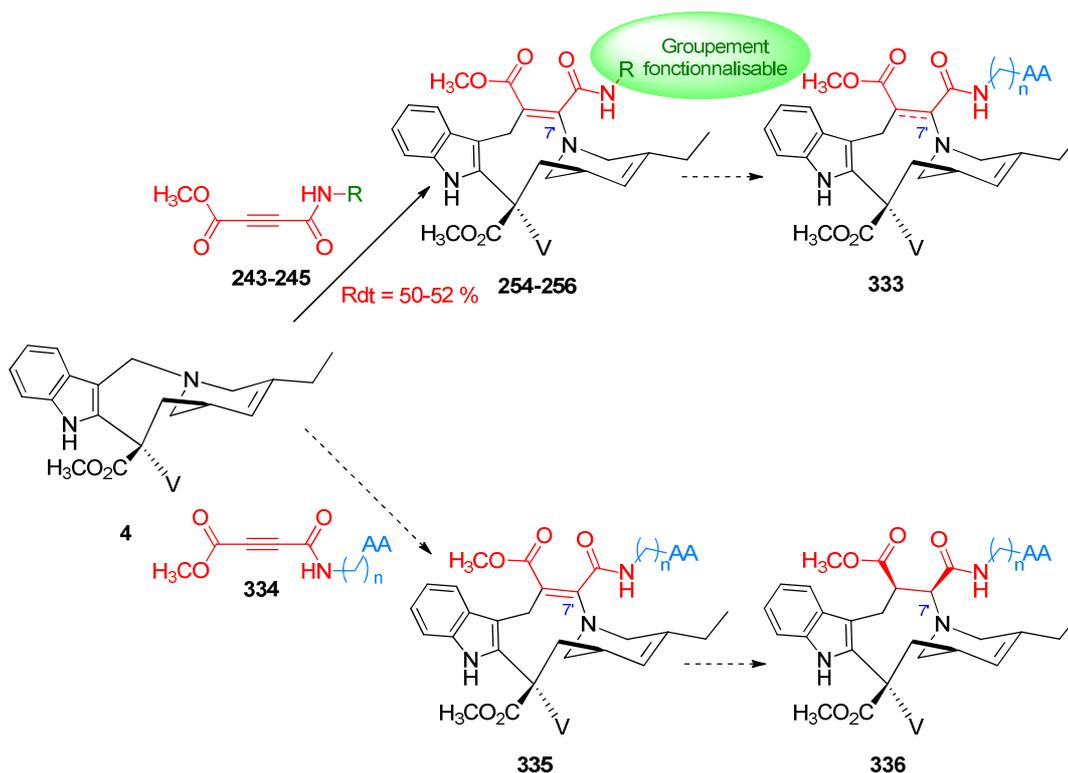
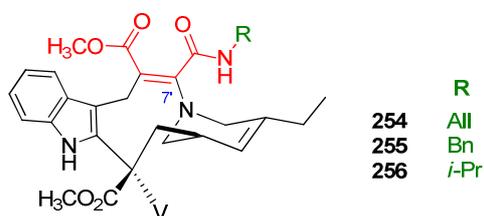


Schéma 84. Stratégies envisagées pour la synthèse d'hybrides en position 7'.

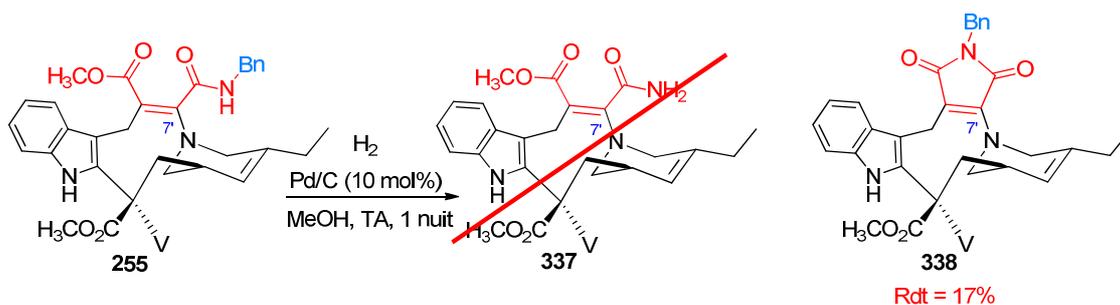
2. SYNTHÈSE

A) FONCTIONNALISATIONS DES COMPOSÉS D'INSERTION 254-256

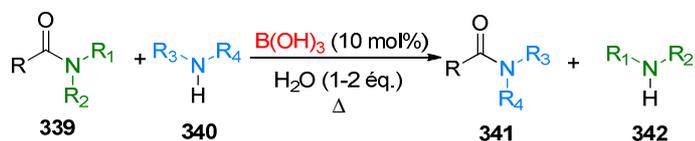
Dans un premier temps, nous avons envisagé d'élaborer les hybrides **333** par fonctionnalisation des β -énaminoesters **254-256** (Schéma 85), dont la synthèse a été déjà mise au point (voir chapitre II.B.2).

Schéma 85. β -énaminoesters 254-256.

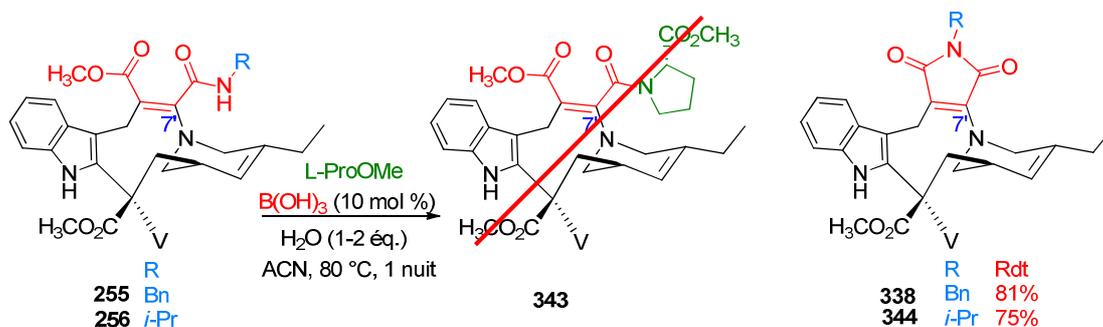
Ainsi, nous nous sommes proposé d'obtenir l'amide **337**, par hydrogénolyse du β -énaminoester benzylique **255**. Après une nuit sous atmosphère d'hydrogène en présence du Pd/C, le composé **255**, a conduit à un mélange de produit de départ avec un nouveau composé, qui s'est révélé être, après purification, le maléimide **338** (Schéma 86).

Schéma 86. Hydrogénolyse du β -énaminoester benzylique 249.

Suite à ce résultat décevant nous nous sommes intéressés à la réaction de transamidation, en nous inspirant des travaux de Nguyen *et al.*,¹⁸⁴ qui ont décrit la transamidation des carboxamides **339** par des amines **340**, en présence de 10 mol % d'acide borique et d'un à deux équivalents d'eau (Schéma 87).

Schéma 87. Transamidation des carboxamides par des amines.¹⁸⁴

Les mêmes conditions ont été appliquées aux β -énaminoesters **255** et **256** afin d'obtenir l'hybride **343**, cependant cela nous a conduit exclusivement aux maléimides **338** et **344** (Schéma 88).

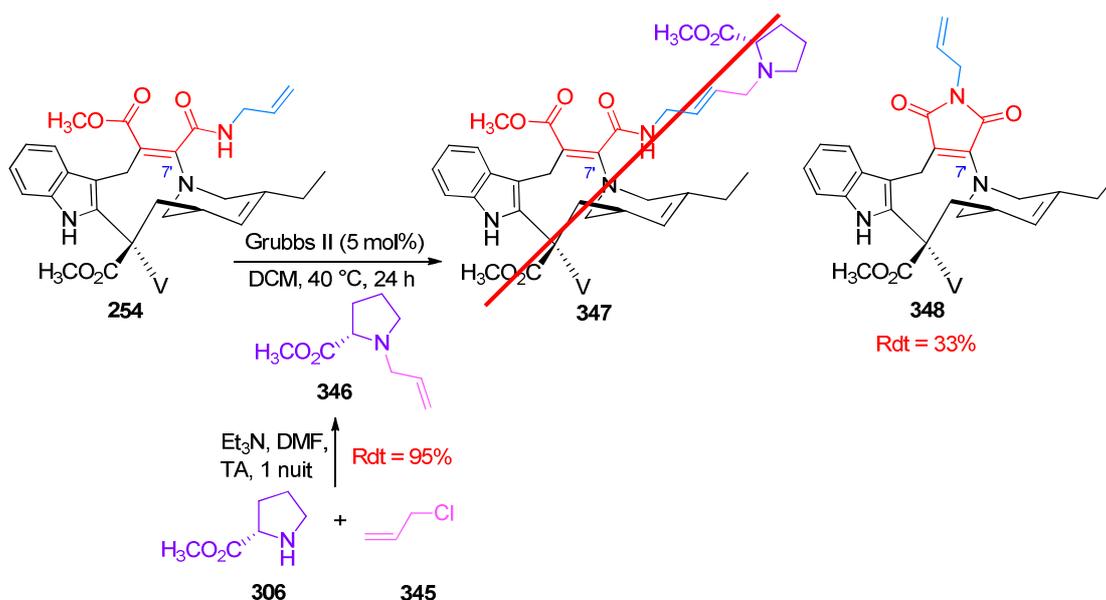
Schéma 88. Transamidation des β -énaminoesters 255 et 256.

Nous avons ensuite envisagé d'effectuer une métathèse croisée¹⁸⁵ entre le β -énaminoester **254** et l'alcène **346**, dont la synthèse a été décrite par Park *et al.*,¹⁸⁶ afin d'obtenir l'hybride **347**. Là encore, seul le maléimide **348** a été isolé à la fin de la réaction (Schéma 89).

¹⁸⁴ Nguyen, T. B., Sorres, J., Tran, M. Q., Ermolenko, L., Al-Mourabit, A. *Org. Lett.*, **2012**, *14*, 3202-3205

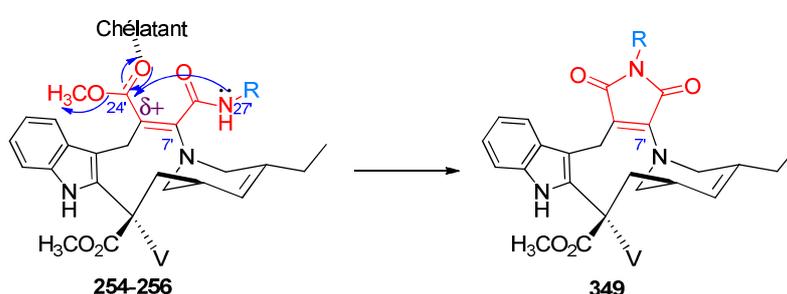
¹⁸⁵ Chatterjee, A. K., Choi, T.-L., Sanders, D. P., Grubbs, R. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 11360-11370

¹⁸⁶ Park, S. H., Kang, H. J., Ko, S., Park, S., Chang, S. *Tetrahedron : Asymmetry*, **2001**, *12*, 2621-2624

Schéma 89. Métathèse croisée du β -énamoester 254.

Ainsi, tous nos essais de synthèse d'hybrides **333** à partir des composés d'insertion **254-256** ont conduit aux dérivés maléimides **338**, **343** et **348**. Cela pourrait être expliqué soit :

- ✓ par la cyclisation spontanée des β -énamoester **254-256** à cause de leur instabilité. Cette hypothèse a été écartée, puisque les β -énamoester **254-256** ont pu être gardés à température ambiante pendant une longue période. De plus, lorsque le β -énamoester **256** a été chauffé à 80 °C pendant une nuit, il a été récupéré intact infirmant ainsi cette hypothèse
- ✓ par leur cyclisation en présence de chélatants : il est possible que le palladium, le bore ou le ruthénium se coordinent à l'ester en 8', ce qui rend la position C-24' plus électrophile. L'attaque de l'azote N-27' sur C-24', suivi du départ d'une molécule de méthanol est d'autant plus favorisée qu'un cycle stable à cinq chaînons se forme (Schéma 90).

Schéma 90. Mécanisme probable de cyclisation des β -énamoesters 254-256 en maléimides 349.

Compte tenu de l'impossibilité de synthétiser les hybrides **333** par les méthodes choisies, la deuxième stratégie impliquant l'obtention d'alcyne fonctionnalisés a été explorée.

B) ALCYNES FONCTIONNALISES PAR UN « BRAS PEPTIDIQUE »

Suite aux résultats précédents, nous nous sommes tournés vers la synthèse d'alcynes asymétriques ester-amides **334** portant différents chaînes peptidiques, même si peu d'exemple sont décrites dans la littérature. Une fois les alcynes synthétisés, ils pourraient être insérés dans le pont gramine de la vinorelbine **4** pour conduire aux β -énamoesters **335**, puis aux β -aminoesters **336** (Schéma 91).

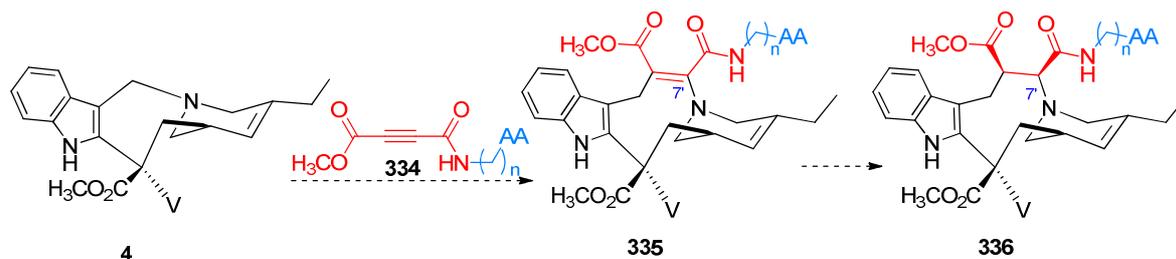


Schéma 91. Deuxième stratégie envisagée pour la synthèse des hybrides 336.

Rappelons-nous que la synthèse des alcynes ester-amides **243-246** utilisés précédemment a été effectuée en utilisant différents isocyanates commerciaux (voir Chapitre II.B.2, Schéma 92).

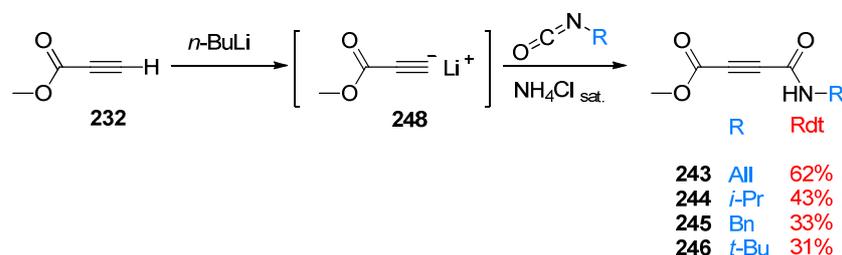


Schéma 92. Synthèse d'acétylènes asymétriques ester-amide 243-246.

Par analogie, nous avons envisagé de synthétiser l'isocyanate **353**, en partant du L-ProMe **299** (Schéma 93).

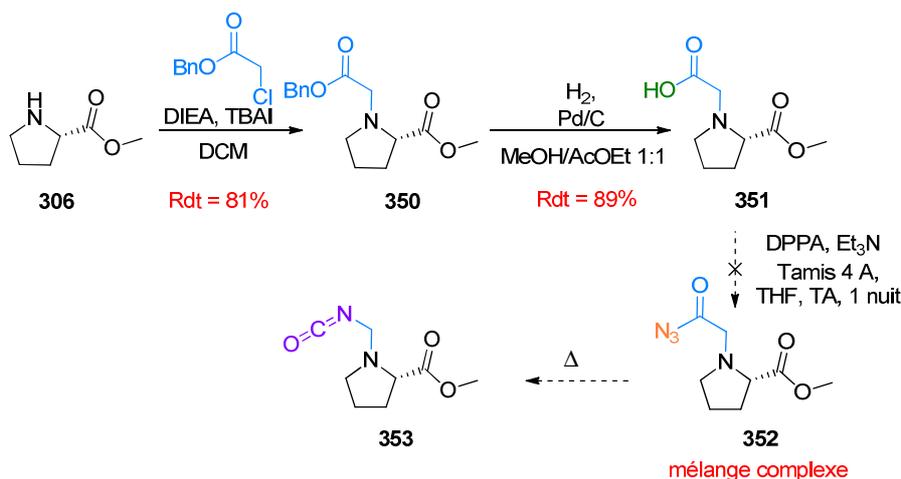


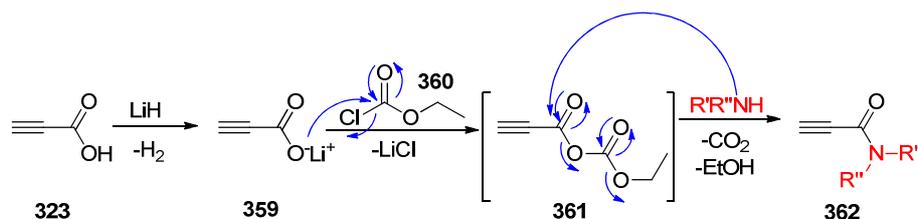
Schéma 93. Voie synthétique envisagée pour l'obtention de l'isocyanate 353.

L'ester méthylique de la L-proline **306** a été mis en réaction avec le chloroacétate de benzyle en présence de N,N-diisopropyléthylamine (DIEA) et d'iodure de tetrabutylammonium (TBAI), pour donner le composé **350** avec un rendement de 81%.¹⁸⁷ Après hydrogénélyse, l'acide correspondant **351** a été mis en réaction avec un excès d'azoture de diphénylphosphoryle (DPPA) et de triéthylamine. Cependant, un mélange complexe de composés de dégradation a été obtenu à la fin de cette réaction, sans pouvoir isoler l'azoture désiré **352** et, par conséquent, sans pouvoir accéder à l'isocyanate **353**.

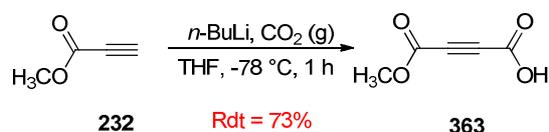
Pour contourner ce problème nous avons synthétisé l'alcyne **354** par déprotonation du propiolate de méthyle **232**, puis utilisation du 2-bromoéthylisocyanate (Schéma 94). L'avantage du composé **354** est qu'il peut être fonctionnalisé par différentes amines. Lorsque l'ester méthylique de la L-proline **306** est utilisé, l'alcyne **355** est obtenu avec 52% de rendement. Ce rendement a été déterminé par analyse du spectre RMN ¹H du brut réactionnel, car le composé **355** se dégrade lors de la purification.

Malheureusement, l'insertion de l'alcyne **355** dans le pont gramine de la vinorelbine **4** n'a pas fonctionné, probablement à cause de la contamination du brut réactionnel de l'alcyne par des produits secondaires.

¹⁸⁷ Coppola, G. M., Iwaki, Y., Karki, R. G., Kawanami, T., Ksander, G. M., Mogi, M., Sun, R. WO/2010/136474

Schéma 96. Travaux de Coppola *et al.*¹⁸⁸

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à la synthèse de l'alcyne asymétrique ester-acide **363**. Il a pu être synthétisé avec un bon rendement par déprotonation du propiolate de méthyle, en présence de dioxyde de carbone.

Schéma 97. Synthèse de l'alcyne asymétrique ester-acide **363**

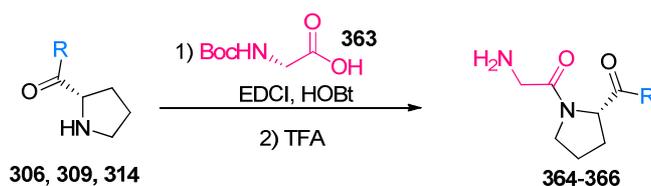
Il est important de remarquer que pour synthétiser d'autres acides propioliques, Luo *et al.* ont utilisé de la carboglace.¹⁸⁹ Dans notre cas, l'utilisation de la carboglace favorise les réactions secondaires (probablement dues à la présence d'eau à la surface de la carboglace) et l'alcyne **363** est obtenu avec un rendement modeste de 33%. Nous avons pu augmenter le rendement de 33 à 73% grâce à l'utilisation du dioxyde de carbone gazeux.

Avant leur condensation avec l'alcyne **363**, les chaînes peptidiques **306**, **309** et **314** ont été fonctionnalisées par un acide aminé de plus, la glycine. En effet, comme dans le cas de l'espaceur méthylène des hybrides **213**, la glycine devrait être assez flexible pour pouvoir s'adapter facilement dans le site de fixation des vinca-alcaloïdes dans la tubuline et orienter la chaîne latérale dans la même direction que celle de la phomopsine A.

Ainsi, les composés **364-366** ont été synthétisés par couplage peptidique classique de la L-BocGlyOH **363** avec la L-ProOMe **306**, la L-ProIleOMe **309** et ProIleAsp(OBn)₂ **314** et obtenus avec de bons rendements (Tableau 16).

¹⁸⁹ Luo, T., Dai, M., Zhend, S.-L., Schreiber, S. L. *Org. Lett.*, **2011**, *13*, 2834-2836

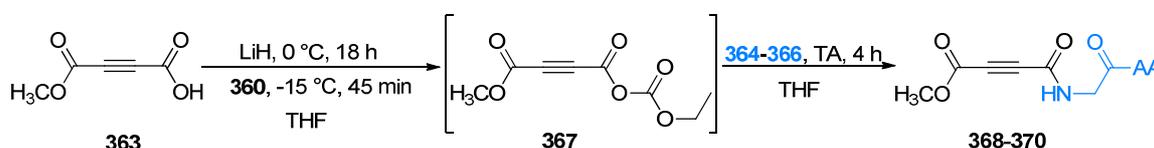
Tableau 16. Préparation des peptides 364-366.



Entrée	Peptide	R	Rdt (%)
1	364	OMe	92
2	365	IleOMe	83
3	366	IleAsp(OBn) ₂	64

Une fois les peptides synthétisés, les alcynes asymétriques ester-amide **360-362** ont pu être obtenus, comme nous l'escomptions, grâce à la formation de l'anhydride mixte **355** (Tableau 17).

Tableau 17. Préparation d'alcynes asymétriques ester-amide **368-370**. ^a 1 éq. d'anhydride **367** a été utilisé ^b 3 éq. d'anhydride **367** ont été utilisés ^c 10 éq. d'anhydride **367** ont été utilisés.



Entrée	Alcyne	AA	Rdt (%)
1	368	L-ProOMe	32 ^a
2	369	L-ProlleOMe	60 ^b
3	370	L-ProIleAsp(OBn) ₂	83 ^c

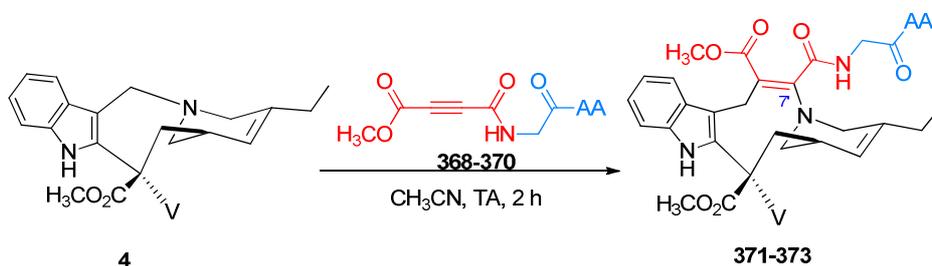
Nous avons remarqué que lorsqu'un large excès d'anhydride mixte **367** est utilisé, comme dans le cas de **369** ou **370**, les rendements augmentent, les meilleures conditions nécessitant l'utilisation de jusqu'à dix équivalents d'anhydride formé *in situ*.

C) UTILISATION DE LA REACTION D'INSERTION POUR LA SYNTHÈSE D'HYBRIDES

Une fois les alcynes asymétriques ester-amides **368-370** synthétisés, leur insertion dans le pont gramine de la vinorelbine **4** a été étudiée (Tableau 18). L'intérêt d'utiliser cette insertion

est qu'elle est totalement régiosélective, ainsi le groupement amide est inséré en position 7' et le groupement ester en position 8' (voir chapitre II).

Tableau 18. Synthèse d'hybrides insaturés 371-373.

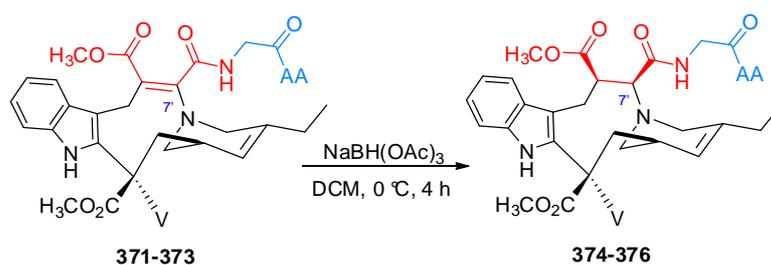


Entrée	Composé d'insertion	AA	Rdt (%)
1	371	L-ProOMe	31
2	372	L-ProlleOMe	21
3	373	L-ProlleAsp(OBn) ₂	26

Tous les alcynes ont été insérés dans le pont gramine de la vinorelbine **4**, avec des rendements satisfaisants au regard de la complexité structurale des composés formés. De plus, par manque de temps, aucune optimisation des conditions opératoires n'a pu être effectuée, mais nous sommes convaincus que ces rendements pourraient être améliorés par la suite.

La réduction des composés d'insertion **371-373** nous a permis d'accéder aux hybrides **374-376** avec des rendements bons à excellents (Tableau 19). Il est important de noter que, conformément à nos attentes, les deux centres asymétriques créés possèdent les configurations absolues désirées 7'-(*S*), 8'-(*R*), déterminées par RMN.

Tableau 19. Synthèse des hybrides saturés 374-376.



Entrée	Composé de réduction	AA	Rdt (%)
1	374	L-ProOMe	60
2	375	L-ProlleOMe	51
3	376	L-ProlleAsp(OBn) ₂	93

D) CONCLUSION

Plusieurs stratégies ont été envisagées afin de synthétiser les hybrides **214** avec la chaîne latérale saturée de la phomopsine A en position C-7' (Schéma 98).

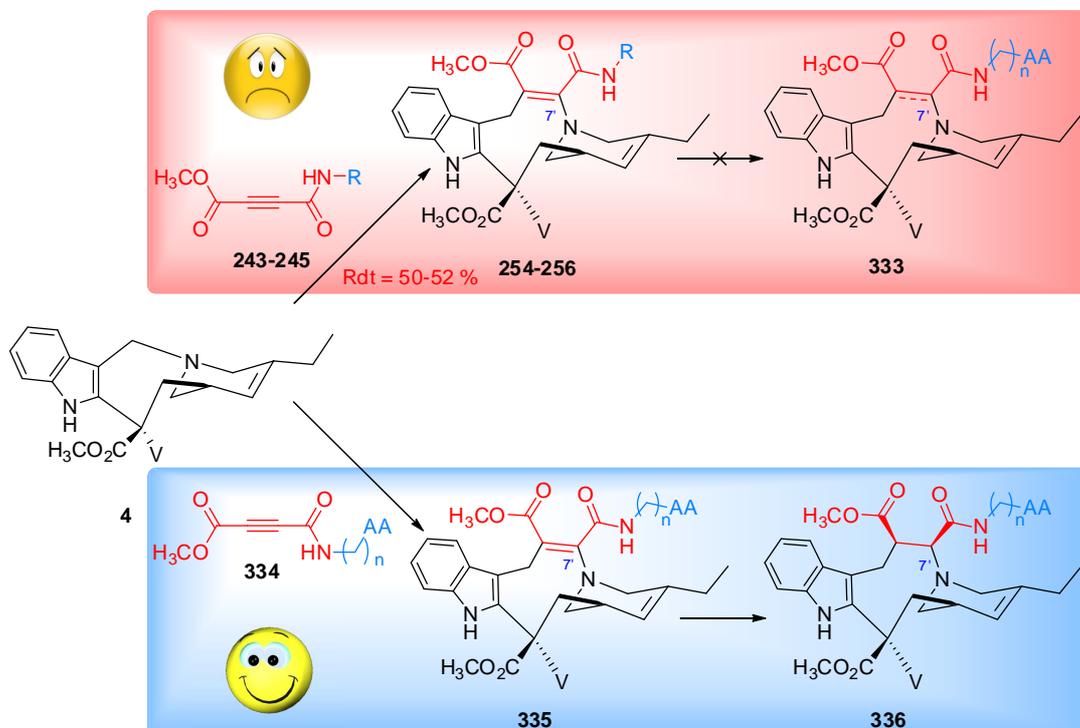


Schéma 98. Stratégies envisagées pour la synthèse d'hybrides en position 7'.

Nous nous sommes intéressés, dans un premier temps, à la fonctionnalisation des composés d'insertion **254-256**. Le squelette 7'-homo-vinblastine étant déjà formé, il suffisait, à

priori, d'une seule étape de fonctionnalisation pour synthétiser les hybrides cibles. Cependant toutes les conditions testées nous ont conduit uniquement aux maléimides **338**, **344** et **348**, indiquant que cette voie n'était pas adaptée à la synthèse des hybrides souhaités **333**.

Nous avons ensuite envisagé de synthétiser les hybrides **335** et **336**, en fonctionnalisant au préalable des alcynes par des chaînes peptidiques. Après plusieurs essais décevants, nous avons réussi à synthétiser les alcynes asymétriques ester-amide **368-370** à partir de l'acide **363**. Leur insertion dans le pont gramine de la vinorelbine **4**, nous a permis d'isoler six nouveaux hybrides **371-376**.

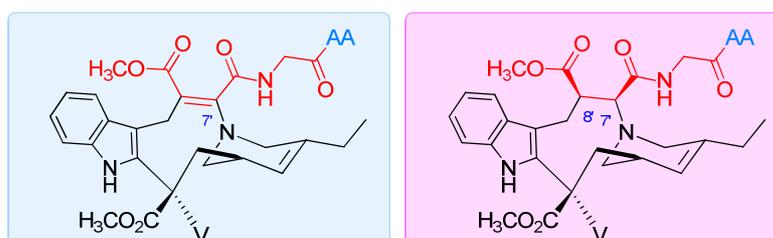
3. EVALUATION BIOLOGIQUE

A) INHIBITION DE LA POLYMERISATION DE LA TUBULINE

Dans un premier temps, l'activité biologique des maléimides **338**, **344** et **348** sur l'assemblage des microtubules a été évaluée. Cependant, aucun des trois composés n'a montré une activité inhibitrice intéressante. Comme dans le cas du dihydrotriazole 1, 4, 5-trisubstitué **277**, nous avons considéré que cela est dû à un trop grand encombrement du cycle maléimide.

L'activité biologique des hybrides insaturés **371-373** et saturés **374-376** a été évaluée sur l'assemblage des microtubules (Tableau 20).

Tableau 20. Inhibition de la polymérisation de la tubuline des composés 371-376. ^a CI₅₀ est la concentration du composé nécessaire pour inhiber l'assemblage de microtubules à un taux de 50%, CI_{50-VLN} est la concentration de vinorelbine nécessaire pour inhiber l'assemblage de microtubules à un taux de 50% ^b CI_{50-VLN} = 0,63±0,001 μM.



Entrée	AA	Composé d'insertion	CI ₅₀ /CI _{50-VLN} ^a	Composé de réduction	CI ₅₀ /CI _{50-VLN} ^a
1	L-ProOMe	371	6,6 ^a	374	2,7 ^b
2	L-ProlleOMe	372	6,5 ^b	375	8,3 ^b
3	L-ProlleAsp(OBn) ₂	373	>100 ^b	376	>100 ^b

Nous pouvons observer que les hybrides **371**, **372** et **374**, **375** inhibent la polymérisation de la tubuline à des concentrations de l'ordre du micromolaire, avec l'hybride **374** légèrement moins actif que la vinorelbine **4**. Il est important de remarquer que le composé réduit **374** est plus actif que le β -énamoester **374**, tandis que cette relation est inversée dans le cas du composé **372** et de son β -aminoester correspondant **375**.

De plus, ces résultats indiquent que l'activité biologique diminue avec l'encombrement stérique, puisque les composés **373** et **376** sont inactifs, probablement à cause de la présence des deux groupements benzyle très encombrants.

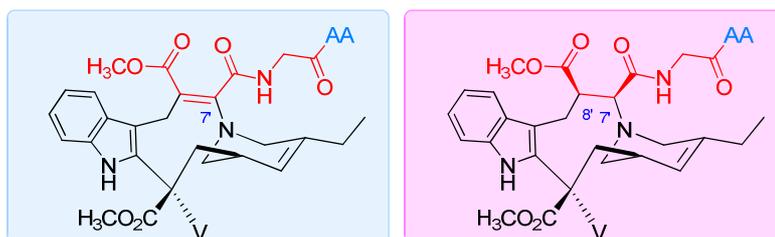
Ces résultats sont très encourageants, puisque les hybrides ammoniums quaternaires **76c-d**, synthétisés dans l'équipe, par Quoc Anh Ngo, fonctionnalisés par une chaîne latérale portant deux groupements benzyle montraient une excellente activité biologique sur tubuline malgré leur taille importante (voir Première partie, Chapitre III).¹²⁸ Cependant, des études de modélisation moléculaire avaient montré que la chaîne latérale des hybrides **76c-d** ne se positionne pas dans la même poche que la chaîne d'acides aminés de la phomopsine A, mais dans une poche voisine (Figure 49). Le fait que nos hybrides **373** et **376** sont inactifs pourrait indiquer que la chaîne latérale se positionne dans la bonne poche, mais que celle-ci ne tolère pas un trop grand encombrement.

Des études de modélisation moléculaire sont en cours afin de confirmer cette hypothèse et de vérifier si les chaînes peptidiques des composés **371-376** sont orientées de la même façon que celle de la phomopsine A **6** dans le domaine vinca.

B) CYTOTOXICITE

L'activité biologique des hybrides insaturés **371-373** et saturés **374-376** a été évaluée sur une seule lignée cellulaire, le glioblastome U87-MG (Tableau 21).

Tableau 21. Cytotoxicité de composés 371-376 sur la lignée U87 CI_{50} correspond à la concentration nécessaire pour l'inhibition de la prolifération cellulaire à un taux de 50% après 72 h d'incubation.



Entrée	AA	Composé d'insertion	CI_{50-U87}	Composé de réduction	CI_{50-U87}
1	VLN	-	-	-	3
2	L-ProOMe	371	2500	374	150
3	L-ProlleOMe	372	2500	375	250
4	L-ProlleAsp(OBn) ₂	373	750	376	150

Dans tous les cas, ces résultats préliminaires montrent que les activités des hybrides **371-376** sont inférieures à l'activité cytotoxique de la vinorelbine **4**.

Il est important de noter que le composé cytotoxique **373** n'est pas du tout actif sur la tubuline. Il est possible que ce composé **373** possède un autre mode d'action. Pour cela son effet sur le cycle cellulaire est en cours d'étude au laboratoire. La cytotoxicité des composés **371-376** sur d'autres lignées cellulaires, ainsi que leur activité GTPasique sont également en cours d'évaluation.

4. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Six nouveaux hybrides vinblastine-phomopsine **371-376** avec des chaînes peptidiques de longueur différente : ProOMe **306**, ProlleOMe **309** et ProlleAsp(OBn)₂ **314** en position 7' ont été synthétisés à partir de la vinorelbine **4** en utilisant trois alcynes différents **368-270**.

Leur activité biologique en tant qu'inhibiteurs de l'assemblage des microtubules, ainsi que leur cytotoxicité ont été évaluées. Cela nous a permis d'identifier que le composé **374** est légèrement moins actif que la vinorelbine **4** et que ce même composé **374** est presque trois fois plus actif que son équivalent insaturé **371**. Contrairement aux composés **371, 372, 374** et **375**, les hybrides **373** et **376** n'inhibent pas la polymérisation de la tubuline. Cela semble être dû au

trop grand encombrement des groupements benzyle. Il est donc envisagé, par la suite, de déprotéger ces groupements et d'accéder à un composé moins encombré et avec une chaîne latérale identique à celle de l'octahydrophomopsine.

En même temps, les hybrides **373** et **376** sont cytotoxiques, ce qui laisse penser à un mode d'action différent. L'évaluation de leur effet sur le cycle cellulaire est actuellement en cours au laboratoire. Des études de modélisation moléculaire sont également en cours afin d'expliquer les différences d'activité biologique observées et de vérifier si les chaînes latérales insérés en position 7' sont orientées de la même façon que celle de la phomopsine A dans le domaine vinca.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

L'objectif de ce travail de thèse a été de synthétiser des hybrides vinblastine-phomopsine dans lesquels la chaîne peptidique de la phomopsine A est liée à la partie velbenamine de la vinblastine selon deux stratégies différentes.

✓ Dans la première partie de ces travaux, la synthèse de dérivés de l'anhydrovinblastine fonctionnalisés en position 7' a été envisagée. Trois voies ont été essayées, afin d'insérer un précurseur de la chaîne latérale de la phomopsine, dans le pont gramine de la vinorelbine : le réarrangement de Stevens, le réarrangement de Somei-Kametani et une cyclisation par organocatalyse. Aucune de ces voies ne nous ont permis d'obtenir les dérivés désirés (Figure 70).

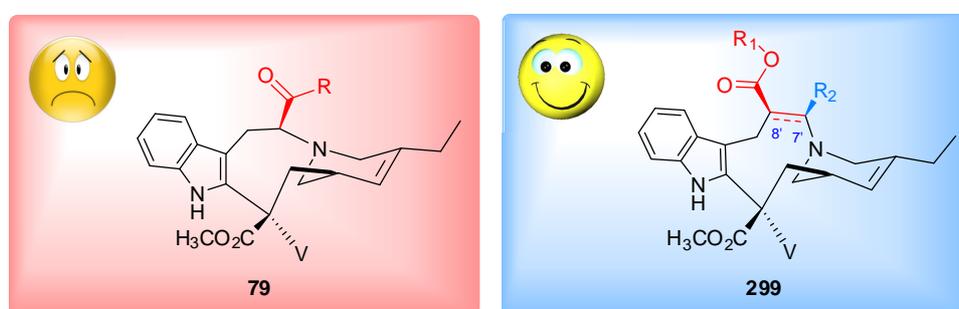


Figure 70. Les deux stratégies étudiées

✓ Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à la possibilité d'insérer des acétylènes activés dans le pont gramine de la vinorelbine **4** afin d'obtenir des dérivés fonctionnalisés de la 7'-*homo*-anhydrovinblastine en une seule étape à partir de la vinorelbine **4** (Figure 70). La mise au point de cette réaction a conduit à huit β -énamoesters originaux de façon régiosélective. Ces derniers ont été réduits en β -aminoesters de manière totalement diastéréosélective. Plus important encore, les configurations absolues 7'-(*S*), 8'-(*R*) des nouveaux centres asymétriques coïncident avec l'orientation souhaitée pour l'insertion de la chaîne latérale de la phomopsine A.

Les seize composés ont été testés en tant qu'inhibiteurs de l'assemblage des microtubules. Nous avons pu montrer que, de façon générale, les β -aminoesters sont plus actifs que les β -énamoesters correspondants à cause de leur plus grande flexibilité au niveau du cycle C' permettant une meilleure adaptation dans le domaine des vinca. Ainsi, un β -aminoester s'est avéré être presque deux fois plus actif que la vinorelbine **4**. De plus, la position 7' s'est montrée plus tolérante des groupements encombrants, contrairement à la position 8'. (Figure 71).

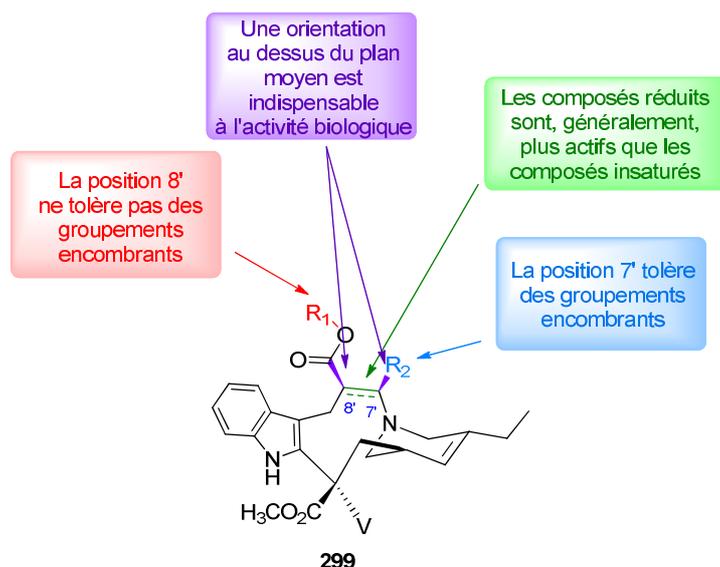


Figure 71. Relations structure-activité des nouveaux composés synthétisés 299

Deux β -aminoesters, un peu moins actifs sur tubuline que la vinorelbine **4**, ont montré une forte cytotoxicité sur les lignées cellulaires HCT116 et K562 avec un mode d'action similaire à celui de la vinorelbine **4**, confirmé par des études du cycle cellulaire.

✓ Ces résultats encourageants nous ont permis de nous intéresser, dans une dernière partie de ces travaux, à la synthèse des hybrides vinblastine-phomopsine. Deux familles différentes d'hybrides ont pu être obtenues : l'une avec la chaîne latérale en position C-8' et, l'autre avec la chaîne latérale phomopsine en position C-7'.

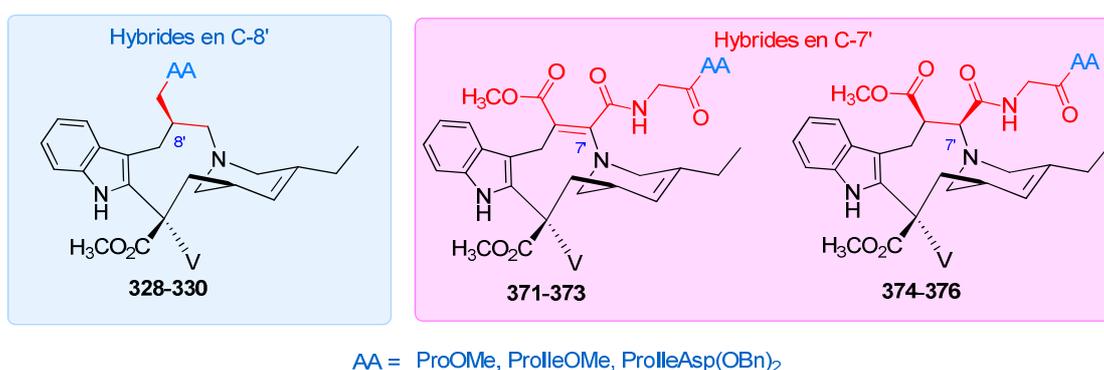


Figure 72. Les deux familles d'hybrides phomopsine-vinblastine obtenues

Neuf hybrides vinblastine-phomopsine portant des chaînes peptidiques de longueur différente : ProOMe, ProlleOMe et ProlleAsp(OBn)₂ ont été synthétisés par la réaction d'insertion préalablement mise au point, suivie soit d'une réaction d'amination réductrice, soit d'une réduction. L'évaluation de leur activité cytotoxique sur plusieurs lignées cellulaires, ainsi que des études de modélisation moléculaire sont en cours afin de valider les premiers résultats observés sur tubuline, qui sont très encourageants.

Dans la suite de ces travaux, les groupements encombrants benzyle des composés **330**, **373** et **376** seront déprotégés par hydrogénéolysé afin d'obtenir des composés moins encombrés et avec une chaîne peptidique similaire à celle de l'octahydrophomopsine.

Dans l'avenir, le travail décrit dans ce manuscrit pourrait être valorisé de deux manières différentes :

➤ D'un côté, il serait intéressant de généraliser la réaction d'insertion à d'autres gramines, plus simples, comme **377**. Cela permettrait d'accéder à une librairie de composés variés et hautement fonctionnalisés **378**, difficilement accessibles par d'autres voies (Schéma 99).

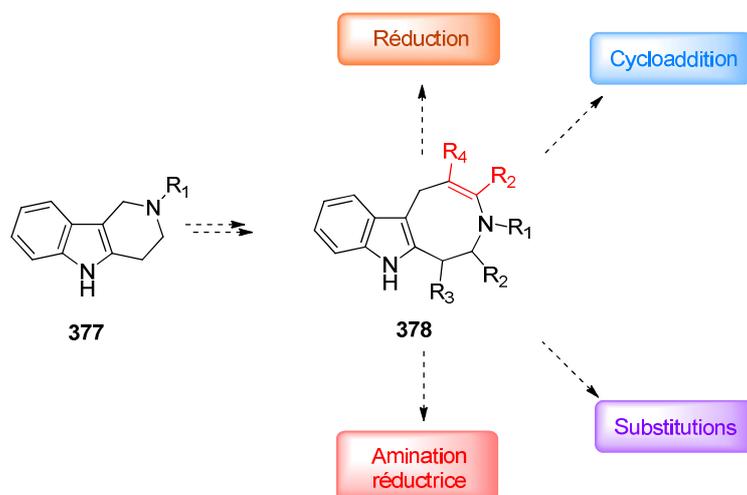


Schéma 99. Stratégies envisagées pour la synthèse de dérivés simplifiés hautement fonctionnalisés.

➤ De l'autre côté, il peut être envisagé de développer une nouvelle famille de composés antimittotiques, en simplifiant la partie vindoline des vinca-alcaloïdes et en faisant varier les chaînes latérales introduites au niveau de la partie velbenamine (Figure 73). Ainsi, il serait possible d'accéder à des composés **379** plus simples, donc plus faciles à synthétiser, tout en conservant l'excellente activité biologique sur tubuline.

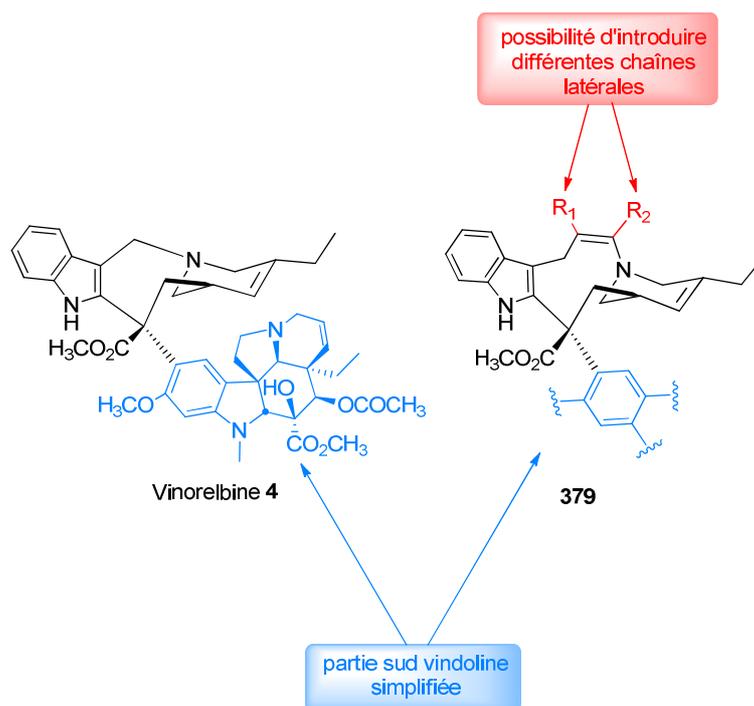


Figure 73. Nouvelles famille d'antimitotiques possible à synthétiser.

EXPERIMENTAL PART

I. GENERAL EXPERIMENTAL PROCEDURES

Reactions were performed in oven-dried glassware under an argon atmosphere. They were magnetically stirred. Reactions were monitored by thin layer chromatography (TLC), with SDS 0.25 mm silica gel 60 F254, and by ^1H NMR. TLC plates were visualised by exposure to UV light (254 nm) and stained with ammonium molybdate, sulphuric vanillin or Dragendorff's reagent.

A. SOLVENT AND CHEMICALS

All chemicals were obtained from commercial suppliers and used as received, except vinorelbine tartrate, which was a gift from the Institut de Recherche Pierre Fabre. Free vinorelbine was prepared by extraction with 2 equivalents of a saturated sodium hydroxide solution. Anhydrous CH_3CN , CH_2Cl_2 , THF and DMF were dried on a solvent distillation column.

B. PURIFICATION

Flash column chromatographies were performed using normal phase silica gel (60 Å, 40–63 μm) or neutral alumina (70-230 mesh ASTM).

C. CHARACTERIZATION DATA

✓ ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra were recorded on a Bruker AC300, ARX500 or Avance 600 spectrometer. Chemical shifts (δ) for ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra are reported in ppm relative to acetonitrile (^1H NMR ($\delta = 1.94$ ppm) and ^{13}C NMR ($\delta = 1.40$ ppm)) or chloroform (^1H NMR ($\delta = 7.24$ ppm) and ^{13}C NMR ($\delta = 77.26$ ppm)) resonances. Data for ^1H NMR are reported as follows: chemical shift (δ in ppm), multiplicity (s = singlet, br s = broad singlet, d = doublet, t = triplet, q = quadruplet, quint = quintuplet, m = multiplet), coupling constant (Hz), integration, attribution. Data for ^{13}C NMR are reported in terms of chemical shift (δ in ppm). Molecules are numbered as in the theoretical part. When a molecule results from an intramolecular rearrangement leading to a modification of the skeleton, the original numbering is kept so as the numbering of the substrate is applied to the product.

✓ $[\alpha]_{\text{D}}$ values were measured using an Anton Paar MCP 300 instrument and expressed in $\text{deg.cm}^3.\text{g}^{-1}.\text{dm}^{-1}$ for a concentration of compound in mg.cm^{-3} .

✓ High-resolution mass spectra (HMRS) were recorded by electrospray ionization (ESI) with a ThermoQuest AQA Navigator spectrometer.

- ✓ Ratios were determined by UPLC using a HSS C18 column (2.1 x 50 mm) and a gradient of water/acetonitrile from 95:5 to 0:100.

D. COMPUTATIONAL DATA

All calculations were performed by Dr. Claire Coderch in Prof. Federico Gago's team at University of Alcalá using vinblastine as a template.^{13b} Point charges for the energy-minimized geometries were assigned by fitting the quantum mechanically calculated (RHF/6-31G*//RHF/3-21G*) molecular electrostatic potential (MEP) using Gaussian 03 (Gaussian, Inc., Wallingford, CT). Consistent bonded and non-bonded AMBER parameters for these ligands were assigned by analogy or through interpolation from those already present in the AMBER database for protein atoms (ff03). Compounds were manually docked at the longitudinal interface between two tubulin heterodimers by superimposing them onto the vinblastine structure in the tubulin–vinblastine complex.^{46a} The resulting complexes were first energy minimized in vacuo to remove any steric clashes within the binding site and then immersed in a truncated octahedron containing ~32300 TIP3P water molecules and 23 Na⁺ ions. The *sander* and *pmemd* modules from the AMBER12 suite of programs (<http://ambermd.org/>) were used for the restrained and unrestrained MD simulations, respectively. Periodic boundary conditions were applied, and electrostatic interactions were treated using the smooth particle mesh Ewald method with a grid spacing of 1 Å. The cut-off distance for the non-bonded interactions was 9 Å, the SHAKE algorithm was applied to all bonds, and an integration step of 2.0 fs was used throughout. After an initial energy minimization of the water molecules and counterions, the system was heated to 300 K in 25 ps, after which the solvent was allowed to redistribute around the positionally restrained solute for 220 ps. After this time, the restraints were removed and the system was further simulated for 20 ns. Snapshots from each 10 ns MD trajectory were collected every 20 ps for structural and energetic analyses. The *ptraj* module was used to assess the stability of the complexes by calculating the root-mean-square deviations (RMSD) from the initial geometries and for calculating a representative average structure for each complex from the unrestrained MD simulations after removal of the water molecules for visualization purposes. The molecular graphics program PyMOL version 0.99 (DeLano Scientific, LLC, Palo Alto, CA) was employed for visualization and model building.

E. BIOLOGICAL ASSAYS

1. INHIBITION OF TUBULIN ASSEMBLY

Measurement of the inhibition of tubulin assembly was performed by Sylviane Thoret (Joëlle Dubois's team, ICSN) and was carried out on Shimidazu UV 2401 PC spectrophotometer equipped with a temperature controlled cell. The drug, dissolved in DMSO at different concentrations, was added to a solution of free tubulin (obtained from sheep brain and prepared according to a published procedure) at 0 °C. Then the solution was placed in a temperature controlled cell at 37 °C (microtubule assembly), and the increase of the optical density was monitored in a UV spectrophotometer at 350 nm (the maximum was reached in about 1 min). The maximum rate of assembly was recorded and compared to a drug-free sample. The IC₅₀ of the compound was calculated from the effect of several concentrations and compared to the IC₅₀ of vinorelbine obtained within the same day with the same tubulin preparation.

2. CELL CULTURE AND PROLIFERATION ASSAY

Experiments were performed in triplicate by María Concepción García Alvarez (Johanna Bakala's team, ICSN). Cancer cell lines were obtained from the American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA) and were cultured according to the supplier's instructions. Human K562 leukemia cells and HCT116 colorectal carcinoma cells were grown in RPMI 1640 supplemented with 10% fetal calf serum (FCS) and 1% glutamine. U87-MG human glioblastoma cells were grown in Dulbecco's Minimal Essential Medium (DMEM) containing 10% FCS and L-glutamine. Human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) were obtained from Lonza (Walkersville, MD, USA) and cultured according to the supplier's instructions in endothelial cell growth medium (EGM2) containing growth factors and 2% FCS. Cell lines were maintained at 37 °C in a humidified atmosphere containing 5% CO₂. Cell viability was assessed using Promega CellTiter-Blue reagent (Promega, Madison, WI, USA) according to the manufacturer's instructions. Briefly, the cells were seeded in 96-well plates (2.5 × 10³ cells/well) containing 50 µL of growth medium. After 24 h of culture, the cells were supplemented with 50 µL of medium containing different concentrations of the tested compound dissolved in DMSO (less than 0.1% in each preparation). After 72 h of incubation, 20 µL of resazurin was added for 1.5 h before recording fluorescence ($\lambda_{\text{ex}} = 560 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 590 \text{ nm}$) using a microtiter plate fluorimeter. The IC₅₀ corresponds to the concentration of compound that induced a 50% decrease in fluorescence of drug-treated cells compared with untreated cells.

3. CELL CYCLE ANALYSIS

Experiments were performed by Jérôme Bignon (Johanna Bakala's team, ICSN). Exponentially growing cancer cells were incubated with compound **279**, **282**, or vinorelbine at two concentrations or DMSO. For the K562 cell line, compound **279** was incubated at 10 and 50 nM, compound **282** at 1 and 10 nM, and vinorelbine at 5 and 10 nM. For the U87 cell line, compound **279** was incubated at 10 and 50 nM, compound **282** at 1 and 5 nM, and vinorelbine at 1 and 5 nM. After 24 h, all the cells were harvested, dissociated, and washed with 2 mL of phosphate buffer saline (PBS). The cells were then fixed at +4 °C with cold 70% ethanol for 30 min and stored at -20 °C overnight. Ethanol was removed by centrifugation, and 2 mL of PBS were added to wash the pellets. The cellular DNA was stained with propidium iodide (PI, 50 mg/mL, Sigma) and RNase (100 mg/mL, Sigma) for 30 min. The cell-cycle profiles were determined by flow cytometry on a FC500 flow cytometer (Beckman-Coulter, France).

II. GENERAL PROCEDURES

A. GENERAL PROCEDURE A FOR THE SYNTHESIS OF QUATERNARY AMMONIUM COMPOUNDS

Vinorelbine and chloride or bromide derivatives (1 eq.) were dissolved in acetonitrile. The reaction mixture was stirred at room temperature for 1-2 h, and the solvent was removed under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography on silica gel using dichloromethane/methanol (97:3 to 0:100).

B. GENERAL PROCEDURE B FOR THE SYNTHESIS OF ASYMMETRIC ESTER-AMIDE ALKYNES

1. METHOD 1

A solution of methyl propiolate (0.45 mL, 5 mmol, 1 eq.) in anhydrous THF (25 mL) was cooled to $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, under argon, before a solution of *n*-BuLi (1.6 M in hexanes, 3.3 mL, 5.25 mmol) was added dropwise. The mixture was stirred at that temperature for 30 min before the isocyanate (5 mmol, 1 eq.) was added dropwise. The resulting mixture was stirred at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 30 min. A saturated aqueous solution of ammonium chloride (20 mL) was added, and the mixture was allowed to warm to room temperature. The two phases were separated, and the aqueous layer was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with a saturated solution of sodium hydrogen carbonate (20 mL), dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated under reduced pressure to give brown oil that was purified by column chromatography on silica gel using heptane/ethyl acetate 4:1.

2. METHOD 2

A solution of 4-methoxy-4-oxobut-2-ynoic acid (1, 3 or 10 eq) in 1.0 mL of THF was cooled to $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, under argon. Lithium hydride (1, 3 or 10 eq) was added by portions. The reaction mixture was stirred for 18 h at room temperature. After 18 h of stirring, ethyl chloroformate (1, 3 or 10 eq) was added at $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ and the reaction mixture was stirred for 45 min at $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Amine (1 eq.) was added at $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ and stirring continued for 4 h allowing the mixture to warm to room temperature. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was dissolved in ethyl acetate. A saturated aqueous solution of sodium carbonate was added, and the two phases were separated. The organic phase was dried over magnesium sulfate, filtered, and

concentrated under reduced pressure to give brown oil that was purified by column chromatography on silica gel using ethyl acetate.

C. GENERAL PROCEDURE C FOR THE SYNTHESIS OF THE ENAMINOESTERS

1. METHOD 1

Alkyne (0.071 mmol, 1.1 eq.) was added to a solution of vinorelbine (50 mg, 0.064 mmol, 1 eq.) in acetonitrile (0.5 mL). The reaction mixture was stirred for 2 h at room temperature. The solvent was evaporated under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on alumina with ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1). The second fraction provided the corresponding vinca derivatives.

2. METHOD 2

Alkyne (0.128 mmol, 2 eq.) was added to a solution of vinorelbine (50 mg, 0.064 mmol, 1 eq.) in acetonitrile (0.5 mL). The reaction mixture was stirred for 2 h at room temperature. The solvent was evaporated under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on alumina with heptane/ethyl acetate (4:1 to 0:1). The second fraction provided the corresponding vinca derivatives.

D. GENERAL PROCEDURE D FOR THE SYNTHESIS OF AMINOESTERS

1. METHOD 1

To a solution of anhydrous zinc iodide (3 eq.) in dry dichloromethane (0.2 mL) at 0 °C were added the corresponding enaminoesters (20 mg, 1 eq.). The resulting mixture was stirred at the same temperature for 1 h, after which NaBH₄ (5 eq.) was added. The solution was allowed to reach room temperature and stirred at room temperature overnight. The reaction was then quenched with a saturated ammonium chloride solution, and the reaction mixture was extracted with dichloromethane. The organic layers were combined, washed with brine, dried over magnesium sulfate and filtrated. The solvents were removed under reduced pressure to provide the crude compound. Purification was carried out on silica gel using ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1).

2. METHOD 2

$\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (3 eq.) was added to a solution of the corresponding enamino-ester (20 mg, 1 eq.) in dichloromethane (0.2 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 4 hours at 0 °C. The resulting mixture was diluted with dichloromethane and washed with a saturated sodium carbonate solution. Solvent removal under reduced pressure provided pure aminoesters.

E. GENERAL PROCEDURE E FOR PEPTIDE SYNTHESIS

NMM (1 eq.) was added to a solution of an aminoacid with a free amine $\text{NH}_2\text{CHR}\text{COOR}_1$ (1 eq.) in dichloromethane. After stirring for 5 min, an aminoacid with a free carboxylic acid $\text{BocNHCHR}\text{COOH}$ (1 eq.), EDCI (1.2 eq.) and HOBt (1.2 eq.) were added. After 2 h of stirring at room temperature, the reaction mixture was quenched with a saturated solution of sodium hydrogen carbonate. The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic layers were washed with brine. The extracts were then dried over magnesium sulphate and evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography with dichloromethane/methanol (99.5:0.5 to 95:5) to afford the desired peptide as a colorless oil, which was dissolved in a 1/3 mixture of dichloromethane /TFA. After 30 min of stirring, toluene was added and the reaction mixture was evaporated to afford quantitatively the trifluoroacetate salt of the deprotected peptide that was used without further purification.

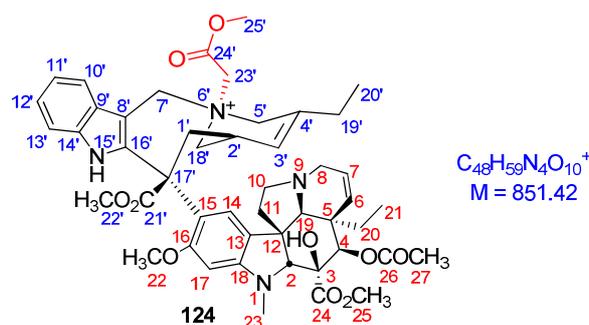
F. GENERAL PROCEDURE F FOR REDUCTIVE AMINATION

A solution of amine (1.75 eq.) in 0.1 mL of dichloromethane was added to compound **297** (1 eq) in 0.2 mL of dichloromethane, then $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (2.6 eq) was added at room temperature. The reaction mixture was stirred for 3 hours at 0 °C. The resulting mixture was diluted with dichloromethane and washed with a saturated sodium carbonate solution. The organic layers were combined, washed with brine, dried over magnesium sulfate and filtrated. The solvents were removed under reduced pressure to provide the crude compound. Purification was carried out by column chromatography on silica gel using ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1).

III. PREPARATION PROCEDURES AND ANALYTICAL DATA

A. 7' FUNCTIONNALIZED ANHYDROVINBLASTINE DERIVATIVES

COMPOUND 124



The general procedure A was followed using vinorelbine (100 mg, 0.13 mmol, 1 eq.) and methyl bromoacetate (12 μ L, 0.13 mmol, 1 eq.). After 2 h of stirring at room temperature in acetonitrile (2.5 mL), the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (dichloromethane/methanol (97:3 to 0:100) to afford the desired compound **124** (111 mg, quant.) as a white solid.

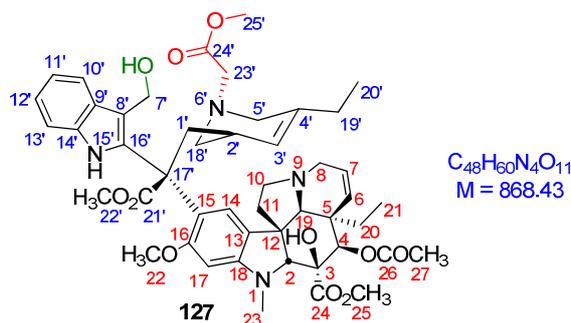
1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 8.83 (s, 1H, H-15'), 7.99 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, H-10'), 7.32-7.18 (m, 3H, H-11'–H-13'), 6.05 (s, 2H, H-14 and H-17), 5.80 (dd, $J=10.5$ and 4.7 Hz, 1H, H-7), 5.76 (s, 1H, H-3'), 5.70-5.68 (m, 1H, H-7' β), 5.31 (s, 1H, H-4), 5.21 (d, $J=10.5$ Hz, 1H, H-6), 4.99 (d, $J=17.5$ Hz, 1H, H-5' α), 4.82 (s, 2H, H-23'), 4.86-4.82 (m, 1H, H-7' α), 4.81-4.79 (m, 1H, H-5' β), 3.83-3.79 (m, 4H, H-18' α , H-22), 3.73 (s, 3H, H-25), 3.72 (s, 3H, H-22'), 3.71 (s, 1H, H-2), 3.66 (s, 3H, H-25'), 3.42-3.98 (m, 1H, H-18' β), 3.30 (dd, $J=16.0$ and 3.8 Hz, 1H, H-8 α), 3.23-3.20 (m, 2H, H-1' α , H-10 α), 2.78 (d, $J=16.0$ Hz, 1H, H-8 β), 2.67 (s, 3H, H-23), 2.51 (s, 1H, H-19), 2.40-2.36 (m, 2H, H-1' β , H-10 β), 2.18-2.15 (m, 1H, H-11 α), 2.17-2.14 (m, 1H, H-2'), 2.10-2.06 (m, 2H, H-19'), 2.02 (s, 3H, H-27), 1.78-1.74 (m, 1H, H-11 β), 1.71-1.68 (m, 1H, H-20 α), 1.14-1.12 (m, 1H, H-20 β), 1.09 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, H-20'), 0.68 (t, $J = 7.8$ Hz, 3H, H-21)

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 173.7 (C-21'), 171.5 (C-26), 170.9 (C-24), 166.2 (C-24'), 158.4 (C-16), 153.6 (C-18), 136.6 (C-16'), 134.3 (C-14'), 132.2 (C-4'), 129.8 (C-6), 129.2 (C-9'), 124.8 (C-7), 124.5 (C-12'), 123.6 (C-13), 122.3 (C-11'), 121.9 (C-14), 121.4 (C-3'), 118.9 (C-10'), 117.5 (C-15), 111.2 (C-13'), 101.7 (C-8'), 94.1 (C-17), 82.9 (C-2), 79.6 (C-3), 76.3 (C-4), 65.2 (C-19), 60.3 (C-5'), 55.8 (C-22), 54.8 (C-7'), 54.3 (C-17'), 53.6 (C-18'), 53.3 (C-22'), 53.0 (C-12), 52.6 (C-25'), 52.2 (C-25), 50.3 (C-10), 50.1 (C-8), 44.6 (C-11), 42.5 (C-5), 38.1 (C-23), 33.5 (C-1'), 30.5 (C-20), 28.8 (C-2'), 26.9 (C-19'), 21.1 (C-27), 11.8 (C-20'), 8.0 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $\text{C}_{48}\text{H}_{59}\text{N}_4\text{O}_{10}^+$ [M]⁺: 851.4231, found: 851.4232

[α]_D = + 48 (CHCl₃, c = 0.78)

COMPOUND 127



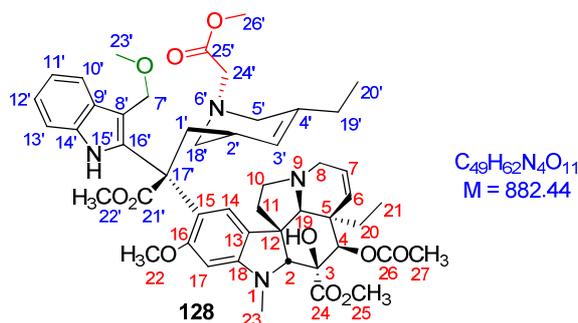
To a solution of **124** (50 mg, 0.06 mmol, 1 eq) in 4.5 mL of THF, 2 equivalents (6 μ L, 0.12 mmol) of LDA 2 M in THF were added at room temperature. After 1 h of stirring at room temperature, the reaction mixture was quenched with a saturated aqueous solution of ammonium chloride (10 mL). The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic layers were washed with brine. The extracts were then dried over magnesium sulphate and evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel with dichloromethane/methanol (100:0 to 60:40) to afford compound **127** (18 mg, 34% yield) as translucent oil.

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 10.41 (s, 1H, H-15'), 7.66 (d, $J=8.2$ Hz, 1H, H-10'), 7.41 (d, $J=8.2$ Hz, 1H, H-13'), 7.24 (s, 1H, H-14), 7.20 (t, $J=8.2$ Hz, 1H, H-12'), 7.13 (t, $J=8.2$ Hz, 1H, H-11'), 6.05 (s, 1H, H-17), 5.94 (dd, $J=10.2$ and 5.1 Hz, 1H, H-7), 5.57 (s, 1H, H-4), 5.41 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, H-6), 4.91 (s, 1H, H-3'), 4.56 (d, $J=12.0$ Hz, 1H, H-7' β), 4.47 (dd, $J=12.2$ and 2.2 Hz, 1H, H-7' α), 3.84 (s, 3H, H-22'), 3.83 (s, 1H, H-2), 3.78 (s, 3H, H-25), 3.78-3.72 (m, 2H, H-8 α and H-10 α), 3.72 (s, 3H, H-25'), 3.53 (s, 3H, H-22), 3.47 (d, $J=11.6$ Hz, 2H, H-23'), 2.98 (d, $J=14.9$ Hz, 1H, H-5' α), 2.88-2.83 (m, 1H, H-8 β), 2.84 (s, 1H, H-19), 2.76 (d, $J=14.9$ Hz, 1H, H-5' β), 2.76-2.73 (m, 1H, H-10 β), 2.73 (s, 3H, H-23), 2.57-2.54 (m, 1H, H-1' α), 2.44-2.38 (m, 2H, H-1' β and H-18' α), 2.38-2.31 (m, 1H, H-11 α), 2.30-2.24 (m, 1H, H-11 β), 2.17-2.11 (m, 2H, H-2' and H-18' β), 2.15 (s, 3H, H-27), 1.90-1.84 (m, 1H, H-20 α), 1.71 (q, $J=7.7$ Hz, 2H, H-19'), 1.47-1.37 (m, 1H, H-20 β), 0.76 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, H-20'), 0.71 (t, $J=7.5$ Hz, 3H, H-21)

^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 176.4 (C-24'), 172.0 (C-21'), 170.9 (C-24), 170.8 (C-26), 158.7 (C-16), 153.3 (C-18), 137.2 (C-16'), 136.9 (C-4'), 134.3 (C-14'), 130.6 (C-6), 130.0 (C-9'), 124.5 (C-13), 124.1 (C-7), 124.0 (C-3'), 122.7 (C-15), 121.9 (C-14), 121.6 (C-12'), 120.9 (C-11'), 118.5 (C-10'), 111.8 (C-8'), 110.9 (C-13'), 94.5 (C-17), 83.7 (C-2), 79.9 (C-3), 76.3 (C-4), 67.4 (C-19), 66.2 (C-7'), 58.7 (C-23'), 56.2 (C-22), 55.9 (C-17'), 55.3 (C-18'), 55.1 (C-5'), 52.7 (C-25'), 52.4 (C-22'), 51.7 (C-25), 51.6 (C-10), 51.0 (C-8), 44.9 (C-11), 43.2 (C-12), 42.2 (C-5), 40.1 (C-1'), 38.2 (C-23), 32.6 (C-2'), 31.3 (C-20), 27.4 (C-19'), 21.3 (C-27), 11.7 (C-20'), 8.4 (C-21)

MS (ESI): calculated for $\text{C}_{48}\text{H}_{61}\text{N}_4\text{O}_{11}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 869.4, found: 869.4

COMPOUND 128



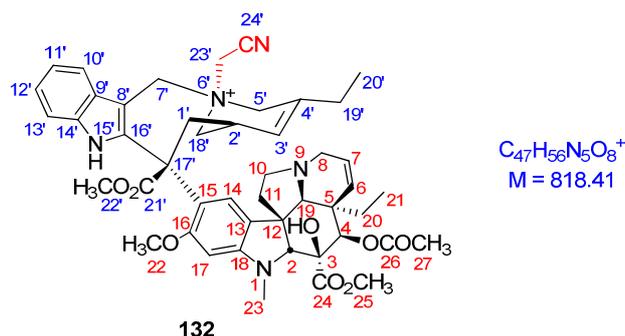
To a solution of **124** (50 mg, 0.06 mmol, 1 eq) in 4.5 mL of THF, 2 equivalents (240 μ L, 0.12 mmol) of KHMDS 0.5 M in THF were added at room temperature. After 1 h of stirring at room temperature, the reaction mixture was quenched with a saturated aqueous solution of ammonium chloride (10 mL). The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic layers were washed with brine. The extracts were then dried over magnesium sulphate and evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel with dichloromethane/methanol (100:0 to 60:40) to afford compound **128** (13 mg, 26% yield) as a translucent oil.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 10.55 (s, 1H, H-15'), 7.54 (d, J=8.2 Hz, 1H, H-10'), 7.28 (d, J=8.2 Hz, 1H, H-13'), 7.09-7.05 (m, 2H, H-12' and H-14), 6.99 (d, J=8.2 Hz, 1H, H-11'), 5.90 (s, 1H, H-17), 5.82 (dd, J=10.2 and 4.5 Hz, 1H, H-7), 5.32 (s, 1H, H-4), 5.31 (d, J=10.2 Hz, 1H, H-6), 4.71 (s, 1H, H-3'), 4.21 (dd, J=12.2 and 3.9 Hz, 1H, H-7' α), 4.10 (dd, J=12.2 and 2.2 Hz, 1H, H-7' β), 3.71 (s, 3H, H-22'), 3.66 (s, 1H, H-2), 3.64 (s, 3H, H-25), 3.56 (s, 3H, H-26'), 3.41-3.38 (m, 2H, H-8 α and H-10 α), 3.03 (s, 3H, H-22), 3.17 (d, J=4.7 Hz, 2H, H-24'), 2.97 (s, 3H, H-23'), 2.90 (d, J=14.9 Hz, 1H, H-5' α), 2.86-2.82 (m, 1H, H-8 β), 2.76 (d, J=14.9 Hz, 1H, H-5' β), 2.73 (s, 1H, H-19), 2.64-2.60 (m, 1H, H-10 β), 2.60 (s, 3H, H-23), 2.57-2.54 (m, 1H, H-1' α), 2.47-2.43 (m, 2H, H-1' β and H-18' α), 2.28-2.24 (m, 1H, H-11 α), 2.17-2.15 (m, 1H, H-11 β), 2.13-2.10 (m, 2H, H-2' and H-18' β), 2.01 (s, 3H, H-27), 1.71-1.69 (m, 2H, H-19'), 1.65-1.62 (m, 1H, H-20 α), 1.31-1.28 (m, 1H, H-20 β), 0.69 (t, J=7.3 Hz, 3H, H-20'), 0.64 (t, J=7.5 Hz, 3H, H-21)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 176.1 (C-25'), 171.8 (C-21'), 170.6 (C-24 and C-26), 158.9 (C-16), 152.8 (C-18), 137.4 (C-16'), 136.5 (C-4'), 133.5 (C-14'), 130.3 (C-6), 128.8 (C-9'), 124.4 (C-13), 123.8 (C-7), 122.6 (C-3'), 122.4 (C-15), 122.1 (C-14), 121.1 (C-12'), 119.3 (C-11'), 118.8 (C-10'), 110.6 (C-13'), 105.7 (C-8'), 94.0 (C-17), 83.5 (C-2), 79.9 (C-3), 76.0 (C-4), 66.9 (C-19), 64.5 (C-7'), 58.8 (C-24'), 56.7 (C-23'), 56.1 (C-22), 56.0 (C-17'), 55.1 (C-18'), 54.7 (C-5'), 52.6 (C-26'), 52.3 (C-22'), 51.6 (C-25), 50.8 (C-10), 50.4 (C-8), 44.8 (C-11), 43.3 (C-12), 43.1 (C-1'), 42.4 (C-5), 38.1 (C-23), 32.1 (C-2'), 31.1 (C-20), 27.3 (C-19'), 21.2 (C-27), 11.7 (C-20'), 7.9 (C-21)

MS (ESI): calculated for $\text{C}_{49}\text{H}_{63}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 905.4, found: 905.4

COMPOUND 132



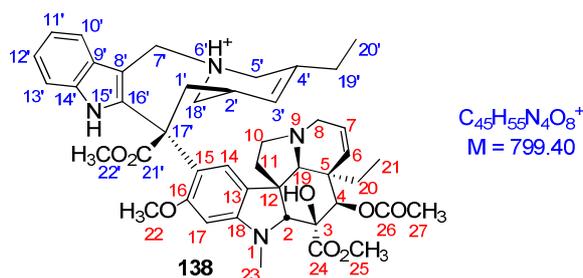
The general procedure A was followed using vinorelbine (100 mg, 0.13 mmol, 1 eq.) and bromoacetonitrile (9.1 μ L, 0.13 mmol, 1 eq.). After 1 h of stirring at room temperature in acetonitrile (5 mL), the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel with dichloromethane/methanol (97:3 to 0:100) to afford the compound **132** (106 mg, quant.) as a white solid.

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 9.89 (s, 1H, OH), 8.83 (s, 1H, H-15'), 8.25 (d, $J=7.5$ Hz, 1H, H-10'), 7.30-7.19 (m, 3H, H-11'-H-13'), 6.52 (s, 1H, H-14), 6.08 (s, 1H, H-17), 5.83 (d, $J=15.8$ Hz, 1H, H-23' α), 5.79-5.74 (m, 2H, H-7 and H-3'), 5.67 (d, $J=15.8$ Hz, 2H, H-23' β and H-7' α), 5.30 (s, 1H, H-4), 5.23 (d, $J=11.2$ Hz, 1H, H-6), 4.91 (d, $J=15.8$ Hz, 1H, H-7' β), 4.88-4.75 (m, 2H, H-5'), 3.91 (d, $J=12.6$ Hz, 1H, H-18' β), 3.82 (s, 3H, H-22), 3.75 (s, 1H, H-2), 3.74 (s, 3H, H-25), 3.69 (s, 3H, H-22'), 3.49 (dd, $J=12.6$ and 4.7 Hz, 1H, H-18' α), 3.34-3.21 (m, 4H, H-1' β , H-8 β and H-11), 2.83-2.73 (m, 1H, H-8 α), 2.70 (s, 3H, H-23), 2.69 (s, 1H, H-19), 2.42-2.29 (m, 1H, H-1' α), 2.29-2.24 (m, 1H, H-2'), 2.21-2.09 (m, 2H, H-10), 2.09 (q, $J=8.1$ Hz, 2H, H-19'), 2.04 (s, 3H, H-27), 1.73-1.59 (m, 1H, H-20 β), 1.22-1.12 (m, 1H, H-20 α), 1.08 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, H-20'), 0.69 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, H-21)

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 173.9 (C-21'), 171.7 (C-24), 171.0 (C-26), 158.5 (C-16), 153.5 (C-18), 136.2 (C-16'), 134.5 (C-14'), 132.0 (C-4'), 130.1 (C-6), 130.0 (C-9'), 124.7 (C-7), 124.4 (C-12'), 123.7 (C-3'), 123.1 (C-13), 122.2 (C-14), 121.7 (C-11'), 118.9 (C-10'), 117.9 (C-15), 111.7 (C-24'), 111.3 (C-13'), 102.1 (C-8'), 94.0 (C-17), 83.0 (C-2), 79.9 (C-3), 76.4 (C-4), 65.0 (C-19), 62.3 (C-5'), 56.1 (C-22), 56.0 (C-7'), 54.4 (C-12), 53.5 (C-22'), 53.2 (C-18'), 53.1 (C-17'), 52.5 (C-25), 51.1 (C-23'), 50.3 (C-8 and C-11), 44.7 (C-10), 42.6 (C-5), 38.3 (C-23), 33.4 (C-1'), 30.8 (C-20), 28.9 (C-2'), 27.0 (C-19'), 21.3 (C-27), 11.9 (C-20'), 8.2 (C-21)

MS (ESI): calculated for $C_{47}H_{56}N_5O_8^+$ [M] $^+$: 818.4, found: 818.4

COMPOUND 138



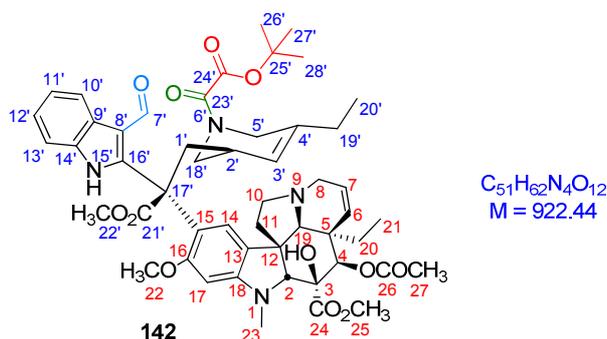
The general procedure A was followed using vinorelbine (100 mg, 0.13 mmol, 1 eq.) and methyl bromomalonate (17 μ L, 0.13 mmol, 1 eq.). After 1 h of stirring at room temperature in acetonitrile (5 mL), the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel with dichloromethane/methanol (97:3 to 0:100) to afford the compound **138** (100 mg, quant.) as a white solid.

1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 9.96 (s, 1H, OH), 8.63 (s, 1H, H-15'), 8.04 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, H-10'), 7.30-7.18 (m, 2H, H-11'-H-12'), 7.16 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, H-13'), 6.27 (s, 1H, H-14), 6.10 (s, 1H, H-17), 5.88 (dd, $J=10.2$ and 4.2 Hz, 1H, H-7), 5.83-5.81 (m, 1H, H-3'), 5.36 (s, 1H, H-4), 5.27 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, H-6), 4.93 (d, $J=13.8$ Hz, 1H, H-7' β), 4.50 (d, $J=13.8$ Hz, 1H, H-7' α), 4.20 (d, $J=17.4$ Hz, 1H, H-5' β), 3.85 (s, 3H, H-22), 3.77 (s, 3H, H-25), 3.74 (s, 1H, H-2), 3.72 (s, 3H, H-22'), 3.69-3.66 (m, 1H, H-18' α), 3.51 (d, $J=17.4$ Hz, 1H, H-5' α), 3.33 (dd, $J=16.8$ and 4.8 Hz, 1H, H-8 β), 3.25-3.23 (m, 1H, H-10 β), 3.13 (dd, $J=15.6$ and 7.2 Hz, 1H, H-1' β), 2.89 (d, $J=16.8$ Hz, 1H, H-8 α), 2.75-2.72 (m, 1H, H-18' β), 2.73 (s, 3H, H-23), 2.68 (s, 1H, H-19), 2.64-2.61 (m, 1H, H-10 α), 2.52 (dd, $J=15.6$ and 12.0 Hz, 1H, H-1' α), 2.09 (s, 3H, H-27), 2.09-2.06 (m, 2H, H-19'), 2.06-2.04 (m, 1H, H-11 α), 2.01-1.98 (m, 1H, H-2'), 1.86-1.84 (m, 1H, H-11 β), 1.72-1.70 (m, 1H, H-20 α), 1.24-1.21 (m, 1H, H-20 β), 1.09 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, H-20'), 0.73 (t, $J=7.8$ Hz, 3H, H-21)

^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 173.8 (C-21'), 171.6 (C-24), 170.9 (C-26), 158.1 (C-16), 153.1 (C-18), 134.8 (C-16'), 134.4 (C-14'), 131.2 (C-4'), 129.7 (C-6), 128.1 (C-9'), 125.1 (C-7), 124.0 (C-12'), 123.3 (C-3'), 123.3 (C-13), 122.4 (C-14), 121.4 (C-11'), 119.4 (C-10'), 118.6 (C-15), 110.6 (C-13'), 104.6 (C-8'), 93.9 (C-17), 83.0 (C-2), 79.7 (C-3), 76.4 (C-4), 64.7 (C-19), 55.8 (C-22), 54.4 (C-17'), 53.2 (C-12), 53.2 (C-5'), 53.1 (C-22'), 52.2 (C-25), 50.8 (C-8), 49.5 (C-10), 47.3 (C-7'), 44.6 (C-11), 43.6 (C-18'), 42.6 (C-5), 38.1 (C-23), 34.6 (C-1'), 30.6 (C-20), 27.5 (C-2'), 27.3 (C-19'), 21.1 (C-27), 11.9 (C-20'), 8.1 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $C_{44}H_{55}N_4O_8^+$ $[M]^+$: 799.4014, found: 799.3882

COMPOUND 142



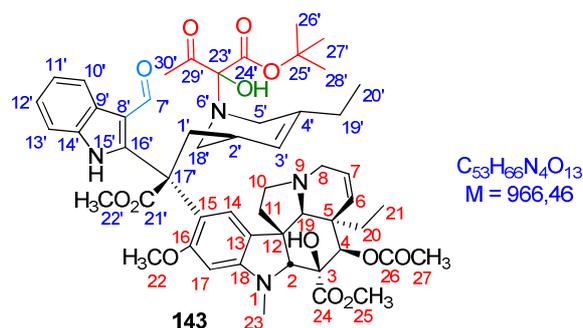
Copper acetate (2.6 mg, 0.013 mmol, 0.1 eq.) and *tert*-butyl-diazoacetate (71 μ L, 0.52 mmol, 4 eq.) were added to a solution of vinorelbine (100 mg, 0.13 mmol, 1 eq) in 3.8 mL of anhydrous toluene. The reaction mixture was stirred at room temperature. After 7 h of stirring at 60 °C under oxygen atmosphere, the solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel with dichloromethane/methanol (100:0 to 90:10) to afford compound **142** (69 mg, 58%) as a dark solid.

1H NMR (600 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 12.06 (s, 1H, H-7'), 10.39 (s, 1H, N-15'), 8.78 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-10'), 8.26 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-13'), 8.18 (s, 1H, H-14), 7.89 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, H-12'), 7.83 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, H-11'), 6.80 (s, 1H, H-17), 6.54 (dd, $J=10.1$ and 5.0 Hz, 1H, H-7), 6.12 (s, 1H, H-4), 5.97 (d, $J=10.1$ Hz, 1H, H-6), 5.13-5.11 (m, 1H, H-3'), 4.35 (s, 3H, H-22'), 4.34 (s, 3H, H-25), 4.33 (s, 1H, H-2), 4.48 (d, $J=19.4$ Hz, 1H, H-5' β), 4.26-4.21 (m, 1H, H-5' α), 4.14 (dd, $J=15.9$ and 8.0 Hz, 1H, H-8 β), 4.11 (s, 3H, H-22), 4.07 (dd, $J=13.4$ Hz, 4.6 Hz, 1H, H-18' β), 3.92 (dd, $J=13.4$ and 4.6 Hz, 1H, H-18' α), 3.65 (s, 1H, H-19), 3.55-3.49 (m, 1H, H-8 α), 3.40 (d, $J=6.4$ Hz, 2H, H-1'), 3.38-3.34 (m, 1H, H-10 α), 3.31 (s, 3H, H-23), 3.28-3.23 (m, 1H, H-10 β), 3.00-2.93 (m, 2H, H-11), 2.84 (s, 1H, H-2'), 2.62 (s, 3H, H-27), 2.26 (s, 9H, H-26'-H-28'), 2.15-2.09 (m, 3H, H-19' and H-20 α), 1.80-1.71 (m, 1H, H-20 β), 1.31 (t, $J=7.5$ Hz, 1H, H-20'), 0.97 (t, $J=7.5$ Hz, 1H, H-21)

^{13}C NMR (150 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 185.9 (C-7'), 175.9 (C-21'), 173.0 (C-24), 171.3 (C-26), 164.2 (C-24'), 162.09 (C-23'), 159.27 (C-16), 154.5 (C-18), 151.16 (C-16'), 136.7 (C-4'), 135.1 (C-14'), 131.4 (C-6), 127.1 (C-9'), 126.0 (C-13), 125.2 (C-7), 124.0 (C-12'), 123.7 (C-11'), 123.4 (C-15), 122.5 (C-10'), 121.6 (C-14), 121.4 (C-3'), 114.1 (C-8'), 113.0 (C-13'), 94.8 (C-17), 85.5 (C-25'), 84.3 (C-2), 80.5 (C-3), 77.2 (C-4), 67.2 (C-19), 56.5 (C-22), 54.3 (C-12), 53.8 (C-17'), 52.7 (C-22'), 52.6 (C-25), 51.8 (C-8), 51.7 (C-10), 50.1 (C-18'), 47.3 (C-1'), 45.6 (C-11), 44.0 (C-5'), 43.9 (C-5), 38.6 (C-23), 33.0 (C-2'), 32.0 (C-20), 28.3 (C-26'-C-28'), 27.3 (C-19'), 21.3 (C-27), 11.4 (C-20'), 7.6 (C-21)

MS (ESI): calculated for $C_{51}H_{63}N_4O_{12}$ $[M+H]^+$: 923.4, found: 923.4

COMPOUND 143



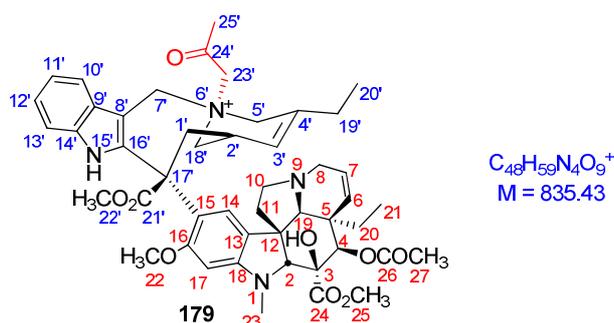
Copper acetate (2.6 mg, 0.013 mmol, 0.1 eq.) and *tert*-butyl-diazoacetoacetate (72 μ L, 0.52 mmol, 4 eq.) were added to a solution of vinorelbine (100 mg, 0.13 mmol, 1 eq.) in 3.8 mL of anhydrous toluene. The reaction mixture was stirred at room temperature. After 7 h of stirring at 60 °C under oxygen atmosphere, the solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography with dichloromethane/methanol (100:0 to 90:10) to afford compound **143** (24 mg, 19% yield) as a dark solid.

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 11.55 (s, 1H, H-15'), 9.82 (s, 1H, N-7'), 8.31 (d, J=8.0 Hz, 1H, H-10'), 7.59 (t, J=8.0, 1H, H-12'), 7.35-7.26 (m, 2H, H-11' and H-13'), 7.24 (s, 1H, H-14), 6.03 (s, 1H, H-17), 5.95 (dd, J=10.0 and 4.3 Hz, 1H, H-7), 5.39 (d, J=10.0 Hz, 1H, H-6), 5.37 (s, 1H, H-4), 4.75-4.73 (m, 1H, H-3'), 3.99 (d, J=18.0 Hz, 1H, H-5' β), 3.88 (s, 1H, H-2), 3.86 (s, 3H, H-22'), 3.85 (s, 3H, H-25), 3.81 (s, 3H, H-30'), 3.78 (d, J=18.0 Hz, 1H, H-5' α), 3.62-3.57 (m, 1H, H-8 α), 3.57-3.53 (m, 1H, H-10 α), 3.49 (s, 3H, H-22), 3.37 (dd, J=12.2 and 4.0 Hz, 1H, H-1' β), 3.00 (dd, J=15.4 and 8.1 Hz, 1H, H-8 β), 2.93 (dd, J=12.2 and 6.0 Hz, 1H, H-1' α), 2.86 (s, 1H, H-19), 2.82-2.76 (m, 1H, H-18' β), 2.73 (s, 3H, H-23), 2.72-2.68 (m, 1H, H-10 β), 2.62 (dd, J=13.8 and 6.5 Hz, 1H, H-18' α), 2.61 (s, 3H, H-27), 2.49-2.43 (m, 2H, H-11), 2.25-2.23 (m, 1H, H-2'), 2.15-2.12 (m, 9H, H-26'-H-28'), 1.84-1.74 (m, 1H, H-20 α), 1.69 (q, J=7.2 Hz, 2H, H-19'), 1.31-1.25 (m, 1H, H-20 β), 0.78 (t, J=7.0 Hz, 1H, H-20'), 0.64 (t, J=7.0 Hz, 1H, H-21)

¹³C NMR (150 MHz, CD₃CN): δ (ppm) 185.1 (C-7'), 176.4 (C-29'), 175.9 (C-21'), 172.2 (C-24), 170.6 (C-26), 169.6 (C-24'), 158.5 (C-16), 153.7 (C-18), 150.2 (C-16'), 138.0 (C-4'), 136.0 (C-23'), 133.9 (C-14'), 130.6 (C-6), 125.4 (C-9'), 125.0 (C-13), 124.0 (C-7), 124.0 (C-12'), 123.7 (C-11'), 123.4 (C-15), 122.9 (C-10'), 122.3 (C-14), 120.1 (C-3'), 113.6 (C-8'), 111.4 (C-13'), 94.4 (C-17), 83.8 (C-25'), 83.7 (C-2), 79.8 (C-3), 76.3 (C-4), 67.5 (C-19), 56.1 (C-22), 53.5 (C-12), 53.4 (C-17'), 52.5 (C-22' and C-25), 52.2 (C-30'), 52.0 (C-8), 51.2 (C-10), 51.2 (C-18'), 48.4 (C-1'), 44.9 (C-11), 44.4 (C-5'), 43.6 (C-5), 38.0 (C-23), 32.4 (C-2'), 31.7 (C-20), 29.9 (C-26'-C-28'), 27.3 (C-19'), 21.3 (C-27), 11.4 (C-20'), 7.6 (C-21)

MS (ESI): calculated for $\text{C}_{53}\text{H}_{67}\text{N}_4\text{O}_{13}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 967.5, found: 967.5

COMPOUND 179



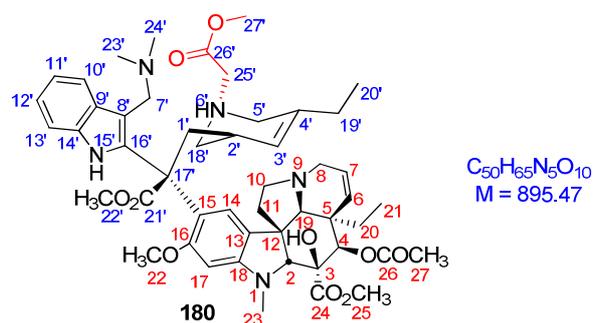
The general procedure A was followed using vinorelbine (100 mg, 0.13 mmol, 1 eq.) and chloroacetone (10 μ L, 0.13 mmol, 1 eq.). After 2 h of stirring at room temperature in acetonitrile (2 mL), the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (dichloromethane/methanol (97:3 to 0:100) to afford the desired compound **179** (99 mg, 91% yield) as a white solid.

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 9.70 (br s, 1H, OH), 8.84 (s, 1H, H-15'), 7.44 (d, $J=7.4$ Hz, 1H, H-10'), 7.27-7.21 (m, 3H, H-11'–H-13'), 6.08 (s, 1H, H-14), 6.05 (s, 1H, H-17), 5.80 (dd, $J=10.5$ and 4.6 Hz, 1H, H-7), 5.71 (d, $J=5.0$ Hz, 1H, H-3'), 5.49 (d, $J=14.9$ Hz, 1H, H-7' β), 5.31 (s, 1H, H-4), 5.20 (d, $J=10.5$ Hz, 1H, H-6), 4.90 (d, $J=17.0$ Hz, 1H, H-5' β), 4.75 (d, $J=14.9$ Hz, 1H, H-7' α), 4.46 (d, $J=17.0$ Hz, 1H, H-5' α), 4.03 (s, 2H, H-23'), 3.81-3.79 (m, 1H, H-18' β), 3.80 (s, 3H, H-22), 3.72 (s, 3H, H-25), 3.72 (s, 1H, H-2), 3.65 (s, 3H, H-22'), 3.35-3.16 (m, 4H, H-1' β , H-18' α , H-8 β , H-10 α), 2.74 (d, $J=17.1$ Hz, 1H, H-8 α), 2.69 (s, 3H, H-23), 2.53 (s, 1H, H-19), 2.39 (d, $J=3.6$ Hz, H-10 β), 2.34 (t, $J=5.0$ Hz, 1H, H-1' α), 2.23 (s, 3H, H-25'), 2.20-2.16 (m, 1H, H-11 β), 2.15-2.13 (m, 1H, H-2'), 2.05-2.00 (m, 2H, H-19'), 2.03 (s, 3H, H-27), 1.81-1.64 (m, 1H, H-20 α), 1.21-1.09 (m, 1H, H-20 β), 1.05 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H, H-20'), 0.69 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H, H-21)

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 201.8 (C-24'), 173.9 (C-21'), 171.7 (C-26), 171.1 (C-24), 158.5 (C-16), 153.8 (C-18), 137.0 (C-16'), 134.5 (C-14'), 132.4 (C-4'), 130.0 (C-6), 129.5 (C-9'), 124.9 (C-7), 124.3 (C-12'), 123.7 (C-13), 122.2 (C-11'), 122.1 (C-14), 121.6 (C-3'), 117.6 (C-10'), 117.3 (C-15), 111.7 (C-13'), 102.4 (C-8'), 94.3 (C-17), 83.0 (C-2), 79.8 (C-3), 76.5 (C-4), 65.4 (C-19), 60.4 (C-5'), 56.0 (C-22), 54.6 (C-18'), 54.3 (C-23'), 53.6 (C-17'), 53.5 (C-22'), 53.3 (C-12), 52.4 (C-7'), 52.3 (C-25), 50.6 (C-10), 50.4 (C-8), 44.6 (C-11), 42.7 (C-5), 38.4 (C-23), 33.7 (C-1'), 30.5 (C-20), 29.6 (C-25'), 28.6 (C-2'), 27.1 (C-19'), 21.3 (C-27), 11.8 (C-20'), 8.2 (C-21)

MS (ESI): calculated for $C_{48}H_{59}N_4O_{10}^+$ $[M]^+$: 835.4, found: 835.4

COMPOUND 180



A mixture of *n*-BuLi 1 M in THF (2.6 eq) and DMA (3.0 eq) in 1.5 mL of anhydrous THF was stirred at 0 °C for 15 min, then a solution of **124** (40 mg, 0.047 mmol, 1 eq) in anhydrous THF (200 μ L) was added. After 3 h of stirring at room temperature, the reaction mixture was quenched with brine. The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic layers were washed with brine. The extracts were then dried over magnesium sulphate and evaporated under reduced pressure. The residue was dissolved in a mixture heptane/ethylacetate 7:3 and filtered on a pad of celite. Solvent removal under reduced pressure afforded the desired compound **180** (42 mg, quant.).

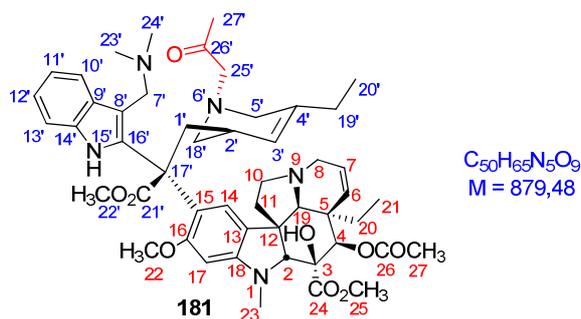
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 10.07 (s, 1H, H-15'), 7.62 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-10'), 7.23 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-13'), 7.03 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, H-12'), 7.02 (s, 1H, H-14), 6.95 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, H-11'), 5.89 (s, 1H, H-17), 5.76 (dd, $J=10.0$ and 4.1 Hz, 1H, H-7), 5.45 (s, 1H, H-4), 5.23 (d, $J=10.0$ Hz, 1H, H-6), 4.97 (s, 1H, H-3'), 3.76 (s, 1H, H-2), 3.71 (s, 3H, H-25), 3.69 (s, 3H, H-22'), 3.56 (s, 3H, H-27'), 3.43 (s, 3H, H-22), 3.40 (dd, $J=16.6$ and 4.8 Hz, 1H, H-8 β), 3.34-3.30 (m, 2H, H-7' β , H-10 β), 3.28 (s, 2H, H-25'), 3.13-3.10 (m, 1H, H-7' α), 2.96-2.93 (m, 1H, H-18' β), 2.93 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, H-5' β), 2.84 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, H-5' α), 2.72 (d, $J=16.6$ Hz, 1H, H-8 α), 2.57 (s, 3H, H-23), 2.52 (s, 1H, H-19), 2.49-2.44 (m, 3H, H-1' β , H-10 α , H-18' α), 2.31-2.28 (m, 1H, H-11 β), 2.24-2.20 (m, 1H, H-11 α), 2.14-2.11 (m, 1H, H-1' α), 2.12-2.09 (m, 1H, H-2'), 2.05 (s, 6H, H-23'-H-24'), 2.01 (s, 3H, H-27), 1.74-1.72 (m, 2H, H-19'), 1.58-1.55 (m, 1H, H-20 α), 1.25-1.21 (m, 1H, H-20 β), 0.79-0.76 (m, 3H, H-20'), 0.49 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, H-21)

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 175.9 (C-21'), 172.0 (C-24), 170.6 (C-26), 169.2 (C-26'), 158.6 (C-16), 153.1 (C-18), 136.6 (C-16'), 136.2 (C-4'), 133.9 (C-14'), 130.3 (C-6), 129.5 (C-9'), 124.4 (C-13), 123.8 (C-7), 123.0 (C-3'), 122.1 (C-14), 121.7 (C-15), 121.0 (C-12'), 119.3 (C-10'), 118.7 (C-11'), 110.6 (C-13'), 105.7 (C-8'), 94.0 (C-17), 83.1 (C-2), 79.6 (C-3), 75.9 (C-4), 67.9 (C-19), 58.4 (C-25'), 55.9 (C-22'), 55.5 (C-18'), 54.6 (C-5'), 54.3 (C-17'), 53.6 (C-7'), 52.3 (C-22 and C-25), 52.2 (C-27'), 52.1 (C-10), 51.2 (C-8), 45.3 (C-23' and C-24'), 43.9 (C-11), 43.3 (C-12), 42.5 (C-

5), 40.9 (C-1'), 38.0 (C-23), 32.6 (C-2'), 31.4 (C-20), 27.5 (C-19'), 21.1 (C-27), 11.9 (C-20'), 8.3 (C-21)

MS (ESI): calculated for $C_{47}H_{57}N_4O_{10}$ $[M+H-N(CH_3)_3]^+$: 851.4, found: 851.4

COMPOUND 181



A mixture of *n*-BuLi 1 M in THF (2.6 eq) and DMA (3.0 eq) in 1.5 mL of anhydrous THF was stirred at 0 °C for 15 min, then a solution of **179** (40 mg, 0.05 mmol, 1 eq) in anhydrous THF (200 µL) was added. After 3 h of stirring at room temperature, the reaction mixture was quenched with brine. The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic layers were washed with brine. The extracts were then dried over magnesium sulphate and evaporated under reduced pressure. The residue was dissolved in a mixture of heptane/ethylacetate 7:3 and filtered on a pad of celite. Solvent removal under reduced pressure afforded the desired compound **181** (42 mg, quant.).

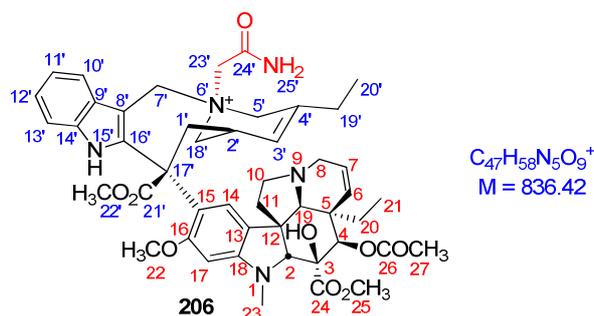
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 9.98 (s, 1H, H-15'), 7.55 (d, J=7.8 Hz, 1H, H-10'), 7.21 (d, J=8.0 Hz, 1H, H-13'), 7.03 (t, J=8.0 Hz, 1H, H-12'), 7.00 (s, 1H, H-14), 6.95 (t, J=8.0 Hz, 1H, H-11'), 5.87 (s, 1H, H-17), 5.76 (dd, J=10.2 and 4.1 Hz, 1H, H-7), 5.43 (s, 1H, H-4), 5.23 (d, J=10.2 Hz, 1H, H-6), 4.95 (s, 1H, H-3'), 3.73 (s, 1H, H-2), 3.71 (s, 3H, H-25), 3.69 (s, 3H, H-22'), 3.43 (s, 3H, H-22), 3.40 (dd, J=16.6 and 4.8 Hz, 1H, H-8β), 3.37-3.33 (m, 2H, H-7'β, H-10β), 3.25 (s, 2H, H-25'), 3.13-3.11 (m, 1H, H-7'α), 3.02-2.99 (m, 1H, H-18'β), 2.94 (d, J=15.5 Hz, 1H, H-5'β), 2.84 (d, J=15.5 Hz, 1H, H-5'α), 2.74 (d, J=16.6 Hz, 1H, H-8α), 2.57 (s, 3H, H-23), 2.52 (s, 1H, H-19), 2.49-2.45 (m, 3H, H-1'β, H-10α, H-18'α) 2.31-2.28 (m, 1H, H-11β), 2.27-2.24 (m, 1H, H-11α), 2.23 (s, 3H, H-27'), 2.14-2.11 (m, 1H, H-1'α), 2.12-2.09 (m, 1H, H-2'), 2.04 (s, 6H, H-23'-H-24'), 2.01 (s, 3H, H-27), 1.75-1.73 (m, 2H, H-19'), 1.58-1.55 (m, 1H, H-20α), 1.24-1.21 (m, 1H, H-20β), 0.76-0.73 (m, 3H, H-20'), 0.53 (t, J=7.3 Hz, 3H, H-21)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 202.0 (C-26'), 175.9 (C-21'), 171.8 (C-24), 170.6 (C-26), 158.6 (C-16), 153.1 (C-18), 136.4 (C-16'), 135.9 (C-4'), 133.9 (C-14'), 130.3 (C-6), 129.5 (C-9'), 124.5 (C-13), 123.8 (C-7), 123.0 (C-3'), 121.9 (C-14), 121.7 (C-15), 121.0 (C-12'), 119.3 (C-10'), 118.5 (C-11'), 110.6 (C-13'), 105.7 (C-8'), 93.9 (C-17), 83.1 (C-2), 79.6 (C-3), 75.7 (C-4), 67.9 (C-19), 58.4 (C-25'), 55.6 (C-22'), 55.5 (C-18'), 54.6 (C-5'), 54.3 (C-17'), 53.7 (C-7'), 52.3 (C-22 and C-25), 52.1 (C-10), 51.2 (C-8), 45.3 (C-23' and C-24'), 43.9 (C-11), 43.2 (C-12), 42.5 (C-5), 40.9 (C-

1'), 37.9 (C-23), 32.6 (C-2'), 30.6 (C-20), 29.6 (C-27'), 27.3 (C-19'), 21.2 (C-27), 12.0 (C-20'), 8.3 (C-21)

MS (ESI): calculated for $C_{47}H_{57}N_4O_9$ $[M+H-N(CH_3)_3]^+$: 835.4, found: 835.4

COMPOUND 206



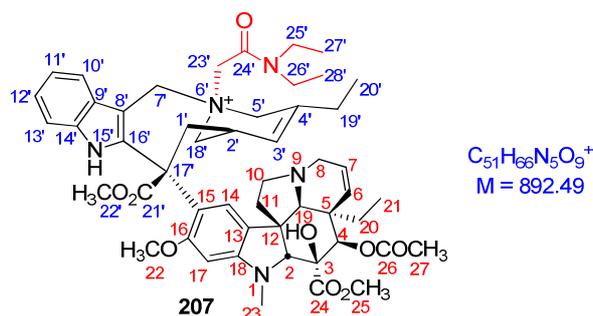
The general procedure A was followed using vinorelbine (50 mg, 0.07 mmol, 1 eq.) and 2-chloroacetamide (6 mg, 0.07 mmol, 1 eq.). After 3 h of stirring at room temperature in acetonitrile (1 mL), the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (dichloromethane/methanol (97:3 to 0:100) to afford the desired compound **206** (48 mg, 87% yield) as a white solid.

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 9.90 (br s, 1H, OH), 9.27 (s, 1H, H-25'), 8.89 (s, 1H, H-15'), 7.98 (d, $J=6.8$ Hz, 1H, H-10'), 7.31-7.07 (m, 3H, H-11'–H-13'), 6.17 (s, 1H, H-14), 6.07 (s, 1H, H-17), 5.87-5.78 (m, 2H, H-7 and H-3'), 5.31 (s, 1H, H-4), 5.28 (d, $J=11.0$ Hz, 1H, H-6), 4.75 (d, $J=13.8$ Hz, 1H, H-7' β), 4.51 (d, $J=15.0$ Hz, 1H, H-5' β), 4.21 (d, $J=15.0$ Hz, 1H, H-5' α), 4.03-3.97 (m, 1H, H-7' α), 3.95 (s, 2H, H-23'), 3.83 (s, 3H, H-22), 3.74 (s, 3H, H-22'), 3.73 (s, 1H, H-2), 3.71 (s, 3H, H-25), 3.56 (dd, $J=20.1$ and 12.9 Hz, 1H, H-8 α), 3.34-3.20 (m, 3H, H-1' β , H-8 β and H-10 β), 2.77 (d, $J=16.5$ Hz, 1H, H-18' β), 2.71 (s, 3H, H-23), 2.60 (s, 1H, H-19), 2.58-2.49 (m, 1H, H-10 α), 2.45 (dd, $J=14.4$ and 4.1 Hz, 1H, H-18' α), 2.40 (d, $J=16.5$ Hz, 1' α), 2.07-1.99 (m, 2H, H-19'), 2.18-2.11 (m, 2H, H-2' and H-11 β), 2.06 (s, 3H, H-27), 1.87-1.78 (m, 1H, H-11 α), 1.74-1.60 (m, 1H, H-20 β), 1.22-1.12 (m, 1H, H-20 α), 1.08 (t, $J=7.5$ Hz, 1H, H-20'), 0.70 (t, $J=7.1$ Hz, 1H, H-21)

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 174.1 (C-21'), 171.9 (C-26), 171.1 (C-24), 166.1 (C-24'), 158.5 (C-16), 153.7 (C-18), 136.8 (C-16'), 134.6 (C-14'), 132.1 (C-4'), 129.9 (C-6), 129.8 (C-9'), 125.2 (C-7), 124.5 (C-12'), 123.8 (C-13), 122.5 (C-14), 122.3 (C-11'), 122.2 (C-3'), 118.7 (C-15), 117.6 (C-10'), 111.3 (C-13'), 102.5 (C-8'), 94.2 (C-17), 83.1 (C-2), 79.9 (C-3), 76.6 (C-4), 65.0 (C-19), 60.6 (C-7'), 60.1 (C-5'), 58.7 (C-23'), 56.0 (C-22), 55.6 (C-17'), 53.4 (C-12), 53.3 (C-22'), 52.4 (C-25), 51.0 (C-8), 50.3 (C-18'), 50.2 (C-10), 44.7 (C-11), 42.2 (C-5), 38.1 (C-23), 33.6 (C-1'), 30.5 (C-20), 29.1 (C-2'), 27.1 (C-19'), 21.3 (C-27), 11.9 (C-20'), 8.2 (C-21)

MS (ESI): calculated for $C_{47}H_{57}N_5O_9^+$ [M] $^+$: 836.4, found: 836.4

COMPOUND 207



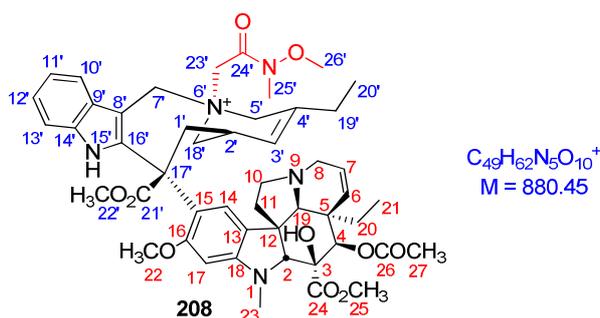
The general procedure A was followed using vinorelbine (50 mg, 0.07 mmol, 1 eq.) and 2-chloro-*N,N*-diethylacetamide (9 μ L, 0.07 mmol, 1 eq.). After 3 h of stirring at room temperature in acetonitrile (1 mL), the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (dichloromethane/methanol (97:3 to 0:100) to afford the desired compound **207** (54 mg, 86% yield) as a white solid.

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 8.85 (s, 1H, H-15'), 7.26-7.14 (m, 3H, H-10'-H-13'), 6.07 (s, 2H, H-14 and H-17), 5.85 (dd, $J=10.2$ and 5.0 Hz, 1H, H-7), 5.74 (d, $J=5.0$ Hz, 1H, H-3'), 5.36 (s, 1H, H-4), 5.25 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, H-6), 4.72 (dd, $J=30.2$ and 15.4 Hz, 2H, H-7'), 4.18-4.04 (m, 1H, H-5' β), 3.83 (s, 3H, H-22), 3.88 (d, $J=11.0$ Hz, 1H, H-23' β), 3.76 (s, 3H, H-22'), 3.74 (s, 1H, H-2), 3.71 (s, 3H, H-25), 3.65 (d, $J=11.0$ Hz, 1H, H-23' α), 3.45-3.37 (m, 2H, H-5' α and H-18' β), 3.32 (dd, $J=17.2$ and 5.2 Hz, 1H, H-8 α), 3.30 (d, $J=5.2$ Hz, 1H, H-8 β), 3.21 (dd, $J=15.7$ and 7.9 Hz, 1H, H-1' β), 2.71 (s, 3H, H-23), 2.61-2.57 (m, 1H, H-18' α), 2.56-2.50 (m, 1H, H-1' α), 2.43 (m, 1H, H-19), 2.24-2.22 (m, 1H, H-2'), 2.29-2.16 (m, 1H, H-10 β and H-11 α), 2.06 (s, 3H, H-27), 2.04-1.96 (m, 4H, H-25' and H-26'), 1.86-1.74 (m, 2H, H-10 α and H-11 β), 1.74-1.68 (m, 2H, H-19'), 1.28-1.10 (m, 2H, H-20), 1.09 (t, $J=7.6$ Hz, 6H, H-27' and H-28'), 0.72 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, H-20'), 0.69 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, H-21)

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 174.1 (C-21'), 171.9 (C-26), 171.2 (C-24), 163.5 (C-24'), 158.6 (C-16), 153.8 (C-18), 136.6 (C-16'), 134.4 (C-14'), 133.0 (C-4'), 130.2 (C-6), 129.5 (C-9'), 124.8 (C-7), 124.3 (C-12'), 122.7 (C-13), 121.9 (C-14), 121.8 (C-11'), 121.7 (C-3'), 118.1 (C-15), 118.0 (C-10'), 111.4 (C-13'), 103.1 (C-8'), 94.2 (C-17), 83.4 (C-2), 79.9 (C-3), 77.4 (C-4), 66.0 (C-19), 60.0 (C-5'), 59.6 (C-23'), 56.0 (C-22), 54.6 (C-17'), 53.5 (C-7' and C-22'), 53.1 (C-12), 52.5 (C-25), 51.4 (C-10), 50.9 (C-8), 44.9 (C-11), 42.7 (C-5), 41.5 (C-18'), 38.3 (C-23), 33.8 (C-1'), 30.8 (C-20), 29.9 (C-25' and C-26'), 28.9 (C-2'), 27.3 (C-19'), 21.3 (C-27), 13.1 (C-27' and C-28'), 12.0 (C-20'), 8.2 (C-21)

MS (ESI): calculated for $C_{51}H_{66}N_5O_9^+$ [M] $^+$: 892.5, found: 892.5

COMPOUND 208



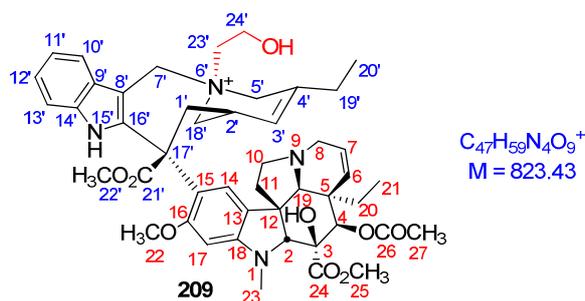
The general procedure A was followed using vinorelbine (100 mg, 0.13 mmol, 1 eq.) and 2-chloro-*N*-methoxy-*N*-methylacetamide (18 mg, 0.13 mmol, 1 eq.). After 3 h of stirring at room temperature in acetonitrile (2.5 mL), the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (dichloromethane/methanol (97:3 to 0:100) to afford the desired compound **208** (97 mg, 85% yield) as a white solid.

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 9.85 (br s, 1H, OH), 8.90 (s, 1H, H-15'), 7.85-7.82 (m, 1H, H-10'), 7.31-7.26 (m, 3H, H-11'-H-13'), 6.12 (s, 1H, H-17), 6.03 (s, 1H, H-14), 5.86 (dd, $J=10.7$ and 3.8 Hz, 1H, H-7' β), 5.85 (dd, $J=10.2$ and 5.0 Hz, 1H, H-7), 5.78 (d, $J=4.3$ Hz, 1H, H-3'), 5.40 (s, 1H, H-4), 5.28 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, H-6), 5.18 (d, $J=16.6$ Hz, 1H, H-5' α), 4.84 (d, $J=14.7$ Hz, 1H, H-7' α), 4.78 (d, $J=16.6$ Hz, 1H, H-5' β), 4.14-4.04 (m, 1H, H-18' β), 3.88 (s, 3H, H-22), 3.80 (s, 6H, H-25 and H-26'), 3.78 (s, 1H, H-2), 3.75 (s, 3H, H-22'), 3.40-3.38 (m, 1H, H-8 β), 3.38-3.34 (m, 1H, H-18' α), 3.31-3.29 (m, 1H, H-10 α), 3.25 (m, 1H, H-1' β), 3.20 (s, 3H, H-25'), 2.78-2.76 (m, 2H, H-23'), 2.75 (s, 3H, H-23), 2.73-2.70 (m, 1H, H-8 α), 2.50-2.47 (m, 1H, H-1' α), 2.48 (s, 1H, H-19), 2.27-2.23 (m, 1H, H-11 α), 2.25-2.21 (m, 1H, H-10 β), 2.20 (s, 1H, H-2'), 2.15-2.12 (m, 2H, H-19'), 2.09 (s, 3H, H-27), 1.79-1.76 (m, 1H, H-11 β), 1.74-1.70 (m, 1H, H-20 β), 1.18-1.15 (m, 1H, H-20 α), 1.15 (t, $J=7.5$ Hz, 3H, H-20'), 0.73 (t, $J=7.5$ Hz, 3H, H-21)

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 174.0 (C-21'), 171.6 (C-26), 171.0 (C-24), 164.8 (C-24'), 158.5 (C-16), 153.6 (C-18), 136.6 (C-16'), 134.3 (C-14'), 133.0 (C-4'), 129.9 (C-6), 129.5 (C-9'), 124.6 (C-7), 124.2 (C-12'), 123.6 (C-13), 122.4 (C-14), 121.7 (C-11'), 121.4 (C-3'), 118.0 (C-15), 117.9 (C-10'), 111.3 (C-13'), 102.7 (C-8'), 94.1 (C-17), 83.0 (C-2), 79.7 (C-3), 76.3 (C-4), 65.7 (C-19), 62.8 (C-26'), 60.2 (C-5'), 58.9 (C-23'), 55.9 (C-22), 54.4 (C-18'), 54.4 (C-17'), 53.3 (C-22'), 52.9 (C-12), 52.3 (C-7'), 52.3 (C-25), 50.7 (C-10), 50.5 (C-8), 44.4 (C-11), 42.5 (C-5), 38.1 (C-23), 33.4 (C-1'), 31.8 (C-25'), 30.6 (C-20), 28.7 (C-2'), 27.1 (C-19'), 21.1 (C-27), 11.8 (C-20'), 8.0 (C-21)

MS (ESI): calculated for $C_{49}H_{62}N_5O_{10}^+$ [M] $^+$: 880.4, found: 880.4

COMPOUND 209



The general procedure A was followed using vinorelbine (100 mg, 0.13 mmol, 1 eq.) and bromoethanol (9 μ L, 0.13 mmol, 1 eq.). After 3 h of stirring at room temperature in acetonitrile (2 mL), the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (dichloromethane/methanol (97:3 to 0:100) to afford the desired compound **209** (107 mg, 95% yield) as a white solid.

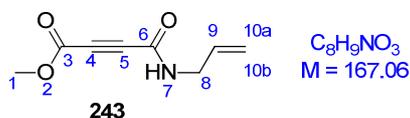
1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 8.81 (s, 1H, H-15'), 8.05 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, H-10'), 7.24-7.20 (m, 3H, H-11'-H-13'), 6.12 (s, 1H, H-14), 6.07 (s, 1H, H-17), 5.80 (dd, $J=10.1$ and 4.0 Hz, 1H, H-7), 5.72 (d, $J=4.7$ Hz, H-3'), 5.32 (br s, 1H, OH), 5.28 (d, $J=13.1$ Hz, H-7' β), 5.25 (s, 1H, H-4), 5.22 (d, $J=10.1$ Hz, 1H, H-6), 4.80 (d, $J=13.1$ Hz, 1H, H-7' α), 4.72 (d, $J=15.8$ Hz, 1H, H-5' β), 4.36 (d, $J=15.8$ Hz, 1H, H-5' α), 4.07-4.01 (m, 2H, H-24'), 3.98 (d, $J=14.4$ Hz, 1H, H-23' α), 3.82 (s, 3H, H-22), 3.73 (s, 3H, H-22'), 3.71 (s, 1H, H-2), 3.68 (s, 3H, H-25), 3.46 (d, $J=14.4$ Hz, 1H, H-23' β), 3.36-3.30 (m, 1H, H-8 β), 3.30-3.16 (m, 3H, H-1' β , H-18' β and H-10 α), 2.76 (d, $J=14.4$ Hz, 1H, H-8 α), 2.71-2.67 (m, 1H, H-10 β), 2.69 (s, 3H, H-23), 2.54 (s, 1H, H-19), 2.45 (dd, $J=14.4$ and 4.1 Hz, 1H, H-18' α), 2.40 (d, $J=16.5$ Hz, 1' α), 2.18-2.14 (m, 2H, H-2' and H-11 α), 2.13-2.02 (m, 2H, H-19'), 2.04 (s, 3H, H-27), 1.84-1.74 (m, 1H, H-11 α), 1.74-1.62 (m, 1H, H-20 β), 1.20-1.13 (m, 1H, H-20 α), 1.08 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, H-20'), 0.68 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, H-21)

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 174.0 (C-21'), 171.6 (C-26), 170.9 (C-24), 158.4 (C-16), 153.5 (C-18), 136.2 (C-16'), 134.4 (C-14'), 132.6 (C-4'), 129.8 (C-6), 129.5 (C-9'), 124.9 (C-7), 124.1 (C-12'), 123.4 (C-13), 122.3 (C-14), 121.9 (C-11'), 121.4 (C-3'), 119.1 (C-15), 117.8 (C-10'), 111.2 (C-13'), 102.9 (C-8'), 94.1 (C-17), 82.9 (C-2), 79.7 (C-3), 76.4 (C-4), 65.1 (C-19), 63.8 (C-23'), 61.5 (C-7'), 60.0 (C-5'), 56.0 (C-22), 55.9 (C-17'), 54.7 (C-8), 54.5 (C-24'), 53.7 (C-12), 53.5 (C-22'), 53.3 (C-25), 52.2 (C-18'), 50.2 (C-10), 44.4 (C-11), 42.6 (C-5), 38.2 (C-23), 33.5 (C-1'), 30.6 (C-20), 29.1 (C-2'), 27.0 (C-19'), 21.2 (C-27), 11.9 (C-20'), 8.1 (C-21)

MS (ESI): calculated for $C_{47}H_{59}N_4O_9^+$ [M] $^+$: 823.4, found: 823.4

B. 7'-HOMO-ANHYDROVINBLASTINE DERIVATIVES

COMPOUND 243

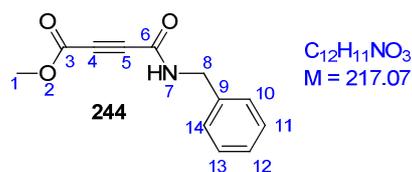


General procedure B (Method 1) was followed using methyl propiolate (0.45 mL, 5 mmol, 1 eq.) in anhydrous THF (25 mL), *n*-BuLi (1.6 M in hexanes, 3.3 mL, 5.25 mmol) and allyl isocyanate (441 μ L, 5 mmol, 1eq.) at -78°C . A saturated aqueous solution of ammonium chloride (20 mL) was added and the mixture was allowed to warm to room temperature. The two phases were separated, and the aqueous layer was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with a saturated solution of sodium hydrogen carbonate (20 mL), dried over magnesium sulphate, filtered, and concentrated under reduced pressure to give a brown oil that was purified by column chromatography on silica gel using heptane/ethyl acetate 4:1 and afforded alkyne **243** (518 mg, 62% yield) as a yellow oil.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 6.58 (br s, 1H, H-7), 5.81–5.73 (ddd, $J = 17.0$ and 10.2 and 5.4 Hz, 1H, H-9), 5.19 (d, $J = 17.0$ Hz, 1H, H-10b), 5.14 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, H-10a), 3.89 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H, H-8), 3.78 (s, 3H, H-1)

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 152.9 (C-3), 150.8 (C-6), 132.6 (C-9), 117.7 (C-10), 77.6 (C-5), 73.8 (C-4), 53.5 (C-1), 42.5 (C-8)

HRMS (ESI): calculated for $C_8H_{10}NO_3$ $[M+H]^+$: 168.0582, found: 168.0653

COMPOUND 244

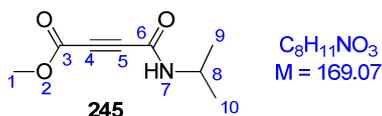
General procedure B (Method 1) was followed using methyl propiolate (0.45 mL, 5 mmol, 1 eq.) in anhydrous THF (25 mL), *n*-BuLi (1.6 M in hexanes, 3.3 mL, 5.25 mmol) and benzyl isocyanate (0.62 mL, 5 mmol, 1eq.) at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. A saturated aqueous solution of ammonium chloride (20 mL) was added and the mixture was allowed to warm to room temperature. The two phases were separated, and the aqueous layer was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with a saturated solution of sodium hydrogen carbonate (20 mL), dried over magnesium sulphate, filtered, and concentrated under reduced pressure to give a brown oil that was purified by column chromatography on silica gel using heptane/ethyl acetate 4:1 and afforded alkyne **244** (358 mg, 33% yield) as a yellow oil.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 7.38-7327 (m, 5H, H-10–H-14), 6.2 (br s, 1H, H-7), 4.62 (d, J = 5.9 Hz, 2H, H-8), 3.82 (s, 3H, H-1)

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 152.6 (C-3), 150.5 (C-6), 136.4 (C-9), 129.0, 128.1, 127.3 (C-10–C-14), 77.2 (C-5), 73.9 (C-4), 53.4 (C-1), 44.1 (C-8)

HRMS (ESI): calculated for $C_{12}H_{12}NO_3$ $[M+H]^+$: 218.0739, found: 218.0742

COMPOUND 245

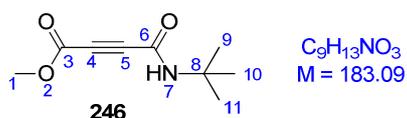


General procedure B (Method 1) was followed using methyl propiolate (0.45 mL, 5 mmol, 1 eq.) in anhydrous THF (25 mL), *n*-BuLi (1.6 M in hexanes, 3.3 mL, 5.25 mmol) and *iso*-propyl isocyanate (492 mL, 5 mmol, 1eq.) at $-78\text{ }^\circ\text{C}$. A saturated aqueous solution of ammonium chloride (20 mL) was added and the mixture was allowed to warm to room temperature. The two phases were separated, and the aqueous layer was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with a saturated solution of sodium hydrogen carbonate (20 mL), dried over magnesium sulphate, filtered, and concentrated under reduced pressure to give a brown oil that was purified by column chromatography on silica gel using heptane/ethyl acetate 4:1 and afforded alkyne **245** (364 mg, 43% yield) as a yellow oil.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 5.84 (br s, 1H, H-7), 4.18–4.07 (m, 1H, H-8), 3.83 (s, 3H, H-1), 1.20 (d, $J = 6.5\text{ Hz}$, 6H, H-9 and H-10)

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 152.8 (C-3), 149.7 (C-6), 77.7 (C-5), 73.1 (C-4), 53.4 (C-1), 45.5 (C-8), 22.3 (C-9 and C-10)

HRMS (ESI): calculated for $C_8H_{12}NO_3$ $[M+H]^+$: 170.0739, found: 170.0735

COMPOUND 246

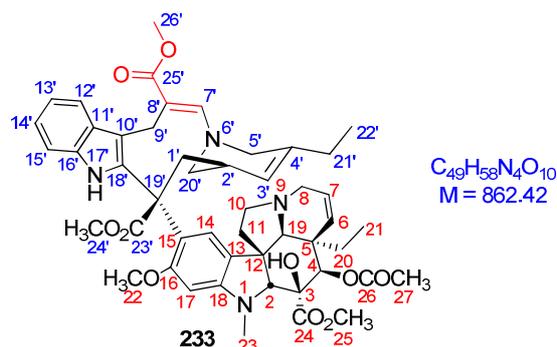
General procedure B (Method 1) was followed using methyl propiolate (0.45 mL, 5 mmol, 1 eq.) in anhydrous THF (25 mL), *n*-BuLi (1.6 M in hexanes, 3.3 mL, 5.25 mmol) and *tert*-butyl isocyanate (571 mL, 5 mmol, 1eq.) at -78 °C. A saturated aqueous solution of ammonium chloride (20 mL) was added and the mixture was allowed to warm to room temperature. The two phases were separated, and the aqueous layer was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with a saturated solution of sodium hydrogen carbonate (20 mL), dried over magnesium sulphate, filtered, and concentrated under reduced pressure to give a brown oil that was purified by column chromatography on silica gel using heptane/ethyl acetate 4:1 and afforded alkyne **246** (302 mg, 33% yield) as a yellow oil.

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 3.81 (s, 3H, H-1), 1.37 (s, 9H, H-9–H-11)

^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 153.1 (C-3), 149.9 (C-6), 78.7 (C-5), 71.9 (C-4), 53.4 (C-1), 53.3 (C-8), 28.6 (C-9–C-11)

HRMS (ESI): calculated for $C_9H_{14}NO_3$ $[M+H]^+$: 184.0895, found: 184.0966

COMPOUND 233



The general procedure C (Method 1) was followed using methyl propiolate (6 μ L, 0.07 mmol, 1.1 eq.) and vinorelbine (50 mg, 0.07 mmol, 1 eq) in 0.5 mL of anhydrous acetonitrile. After 2 h of stirring at room temperature, the solvent was evaporated under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on alumina with ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1) to afford compound **233** (20 mg, 36% yield) as a white solid.

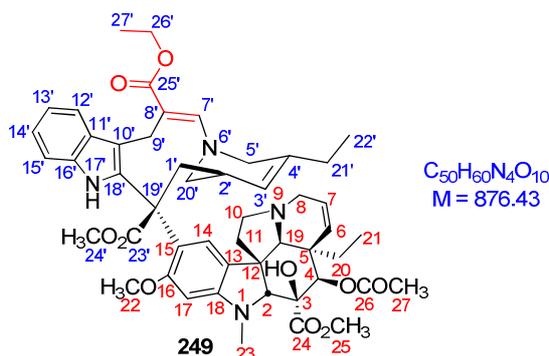
1H NMR (300 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.89 (s, 1H, OH), 8.15 (s, 1H, H-17'), 7.60 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, H-12'), 7.52 (s, 1H, H-7'), 7.13 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, H-15'), 6.99 (s, 1H, H-14), 6.98 (t, $J=7.9$ Hz, 1H, H-14'), 6.89 (t, $J=7.9$ Hz, 1H, H-13'), 6.29 (s, 1H, H-17), 5.76 (dd, $J=10.7$ and 5.0 Hz, 1H, H-7), 5.38-5.36 (m, 1H, H-3'), 5.28 (s, 1H, H-4), 5.22 (d, $J=10.7$ Hz, 1H, H-6), 4.11 (d, $J=15.1$ Hz, 1H, H-9' α), 3.90 (d, $J=15.1$ Hz, 1H, H-9' β), 3.72 (s, 3H, H-26'), 3.69 (s, 3H, H-25), 3.66 (s, 3H, H-22), 3.62 (s, 1H, H-2), 3.58 (d, $J=16.1$ Hz, 1H, H-5' α), 3.52 (s, 3H, H-24'), 3.35 (d, $J=16.1$ Hz, 1H, H-5' β), 3.34 (d, $J=16.1$ Hz, 1H, H-8 α), 3.32 (dd, $J=12.0$ and 5.7 Hz, 1H, H-20' β), 3.27 (td, $J=9.5$ and 6.0 Hz, 1H, H-10 β), 2.74-2.70 (m, 1H, H-8 β), 2.71 (s, 1H, H-19), 2.68 (s, 3H, H-23), 2.52 (dd, $J=12.0$ and 3.5 Hz, 1H, H-20' α), 2.46 (td, $J=9.5$ and 5.0 Hz, 1H, H-10 α), 2.16 (td, $J=13.8$ and 6.0 Hz, 1H, H-11 β), 2.12-2.10 (m, 2H, H-1'), 2.10 (s, 3H, H-27), 2.09-2.06 (m, 1H, H-11 α), 1.94-1.93 (m, 1H, H-2'), 1.90 (dd, $J=15.2$ and 7.6 Hz, 2H, H-21'), 1.63 (dd, $J=14.7$ and 7.0 Hz, 1H, H-20 β), 1.28 (dd, $J=14.7$ and 7.0 Hz, 1H, H-20 α), 0.95 (t, $J=7.6$ Hz, 3H, H-22'), 0.56 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, H-21)

^{13}C NMR (75 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 175.0 (C-23'), 173.1 (C-24), 171.9 (C-26), 171.5 (C-25'), 159.6 (C-16), 154.4 (C-18), 154.4 (C-7'), 139.8 (C-4'), 136.2 (C-16'), 132.2 (C-18'), 131.2 (C-6), 130.0 (C-11'), 125.5 (C-7), 125.4 (C-13), 125.0 (C-14), 124.7 (C-3'), 122.5 (C-14'), 121.4 (C-15), 121.0 (C-12'), 119.8 (C-13'), 116.5 (C-10'), 111.9 (C-15'), 104.0 (C-8'), 95.4 (C-17), 84.5 (C-2), 80.5 (C-3), 77.4 (C-4), 67.1 (C-19), 56.6 (C-19'), 54.3 (C-12), 54.2 (C-5'), 52.9 (C-25), 52.7 (C-22), 52.1 (C-10), 51.8 (C-20'), 51.6 (C-26'), 51.5 (C-8), 45.3 (C-11), 43.8 (C-5), 38.9 (C-23), 35.2 (C-2'), 35.2 (C-1'), 32.0 (C-20), 28.2 (C-21'), 24.2 (C-9'), 21.0 (C-27), 12.7 (C-22'), 8.7 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $\text{C}_{49}\text{H}_{59}\text{N}_4\text{O}_{10}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 863.4231, found: 863.4231

$[\alpha]_{\text{D}}$ = - 55 (CHCl_3 , $c = 1.0$)

COMPOUND 249



The general procedure C (Method 1) was followed using ethyl propiolate (6.5 μ L, 0.07 mmol, 1.1 eq.) and vinorelbine (50 mg, 0.07 mmol, 1 eq) in 0.5 mL of anhydrous acetonitrile. After 2 h of stirring at room temperature, the solvent was evaporated under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on alumina with ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1) to afford compound **249** (18.4 mg, 33% yield) as a white solid.

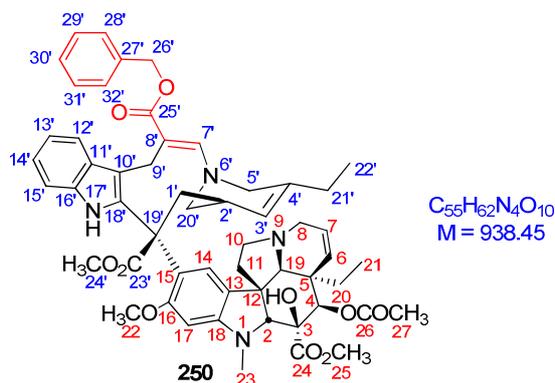
¹H NMR (500 MHz, CD₃CN): δ (ppm) 8.16 (s, 1H, H-17'), 7.63 (d, $J=7.7$ Hz, 1H, H-12'), 7.52 (s, 1H, H-7'), 7.13 (d, $J=7.7$ Hz, 1H, H-15'), 6.98 (s, 1H, H-14), 6.97 (t, $J=7.7$ Hz, 1H, H-14'), 6.89 (t, $J=7.7$ Hz, 1H, H-13'), 6.29 (s, 1H, H-17), 5.78 (dd, $J=10.2$ and 4.8 Hz, 1H, H-7), 5.37 (s, 1H, H-3'), 5.28 (s, 1H, H-4), 5.22 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, H-6), 4.20 (q, $J=6.9$ Hz, 2H, H-26'), 4.11 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, H-9' α), 3.90 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, H-9' β), 3.72-3.70 (m, 1H, H-20' β), 3.68 (s, 3H, H-25), 3.66 (s, 3H, H-22), 3.62 (s, 1H, H-2), 3.58 (d, $J=16.3$ Hz, 1H, H-5' α), 3.52 (s, 3H, H-24'), 3.37 (d, $J=16.2$ Hz, 1H, H-1' β), 3.34 (d, $J=16.3$ Hz, 1H, H-5' β), 3.33 (d, $J=15.5$, 1H, H-8 α), 3.26 (td, $J=9.9$ and 4.6 Hz, 1H, H-11a), 2.72 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, H-8 β), 2.71 (s, 1H, H-19), 2.68 (s, 3H, H-23), 2.52 (d, $J=13.1$ Hz, 1H, H-20' α), 2.46 (td, $J=19.9$ and 6.9 Hz, 1H, H-11 β), 2.18-2.08 (m, 2H, H-10 β and H-10 α), 2.07 (d, $J=16.2$ Hz, 1H, H-1' α), 1.94 (s, 4H, H-27 and H-2'), 1.92-1.89 (m, 2H, H-21'), 1.63 (td, $J=14.4$ and 7.0 Hz, 1H, H-20 β), 1.30-1.24 (m, 1H, H-20 α), 1.27 (t, $J=6.9$ Hz, 1H, H-27'), 0.94 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, H-22'), 0.56 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, H-21)

¹³C NMR (125 MHz, CD₃CN): δ (ppm) 175.3 (C-23'), 173.4 (C-24), 171.9 (C-26), 171.5 (C-25'), 159.9 (C-16), 154.8 (C-18), 154.6 (C-7'), 140.2 (C-4'), 136.5 (C-16'), 132.6 (C-18'), 131.6 (C-6), 130.3 (C-11'), 125.8 (C-7), 125.7 (C-13), 125.3 (C-14), 125.0 (C-3'), 122.8 (C-14'), 121.8 (C-15), 121.3 (C-12'), 120.0 (C-13'), 118.7 (C-10'), 112.2 (C-15'), 105.3 (C-8'), 95.8 (C-17), 84.8 (C-2), 80.9 (C-3), 77.8 (C-4), 67.5 (C-19), 60.9 (C-26'), 57.0 (C-22), 55.7 (C-12), 54.5 (C-19'), 54.5 (C-5'), 53.2 (C-24'), 53.0 (C-25), 52.5 (C-20'), 52.0 (C-10), 51.8 (C-8), 45.7 (C-11), 44.2 (C-5), 39.2 (C-23), 35.6 (C-2'), 35.6 (C-1'), 32.3 (C-20), 28.5 (C-21'), 24.5 (C-9'), 21.6 (C-27), 15.4 (C-27'), 13.0 (C-22'), 9.0 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $\text{C}_{50}\text{H}_{61}\text{N}_4\text{O}_{10}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 877.4387, found: 877.4388

$[\alpha]_{\text{D}}$ = - 66 (CHCl_3 , $c = 1.0$)

COMPOUND 250



The general procedure C (Method 1) was followed using benzyl propiolate (11.2 mg, 0.07 mmol, 1.1 eq.) and vinorelbine (50 mg, 0.07 mmol, 1 eq) in 0.5 mL of anhydrous acetonitrile. After 2 h of stirring at room temperature, the solvent was evaporated under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on alumina with ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1) to afford compound **250** (19 mg, 32% yield) as a white solid.

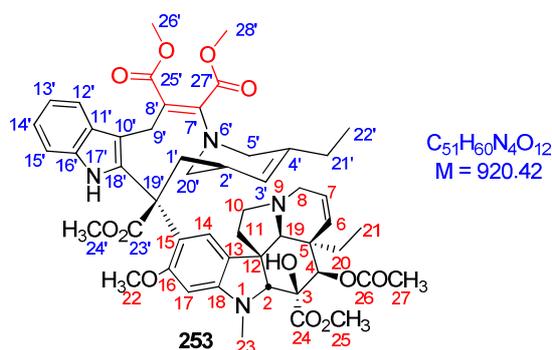
1H NMR (500 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.90 (s, 1H, OH), 8.15 (s, 1H, H-17'), 7.60 (s, 1H, H-7'), 7.58 (d, $J=7.3$ Hz, 1H, H-12'), 7.41 (d, $J=7.3$ Hz, 2H, H-28' and H-31'), 7.34 (t, $J=7.3$ Hz, 2H, H-29' and H-32'), 7.29 (dd, $J=14.6$ and 7.3 Hz, 1H, H-30'), 7.12 (d, $J=7.3$ Hz, 1H, H-15'), 6.98 (s, 1H, H-14), 6.96 (t, $J=7.3$ Hz, 1H, H-14'), 6.82 (t, $J=7.3$ Hz, 1H, H-13'), 6.29 (s, 1H, H-17), 5.79 (dd, $J=10.5$ and 5.4 Hz, 1H, H-7), 5.35 (s, 1H, H-3'), 5.28 (s, 1H, H-4), 5.26 (d, $J=13.0$ Hz, 1H, H-26'), 5.22 (d, $J=10.5$ Hz, 1H, H-6), 5.19 (d, $J=13.0$ Hz, 1H, H-26'), 4.13 (d, $J=15.4$ Hz, 1H, H-9' α), 3.92 (d, $J=15.4$ Hz, 1H, H-9' β), 3.74 (d, $J=13.0$ Hz, 1H, H-20' β), 3.68 (s, 3H, H-25), 3.65 (s, 3H, H-22), 3.61 (s, 1H, H-2), 3.59 (d, $J=4.0$ Hz, 1H, H-5' α), 3.50 (s, 3H, H-24'), 3.35-3.33 (m, 2H, H-5' β and H-1' β), 3.31 (d, $J=5.4$ Hz, 1H, H-8 α), 3.25 (td, $J=9.3$ and 4.8 Hz, 1H, H-10 β), 2.72-2.70 (m, 1H, H-8 β), 2.70 (s, 1H, H-19), 2.67 (s, 3H, H-23), 2.54 (dd, $J=13.0$ and 4.3 Hz, 1H, H-20' α), 2.45-2.43 (m, 1H, H-10 α), 2.16-2.13 (m, 1H, H-11 β), 2.11-2.09 (m, 1H, H-1' α), 2.09-2.07 (m, 1H, H-11 α), 1.94 (s, 3H, H-27), 1.93-1.91 (m, 2H, H-21'), 1.90 (s, 1H, H-2'), 1.63 (dd, $J=14.1$ and 7.4 Hz, 1H, H-20 β), 1.28 (dd, $J=14.1$ and 7.4 Hz, 1H, H-20 α), 0.93 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, H-22'), 0.56 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, H-21)

^{13}C NMR (125 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 174.9 (C-23'), 173.1 (C-24), 171.5 (C-26), 170.9 (C-25'), 159.6 (C-16), 154.7 (C-7'), 154.4 (C-18), 139.8 (C-4'), 138.9 (C-27'), 136.2 (C-16'), 132.2 (C-18'), 131.2 (C-6), 129.9 (C-11'), 129.5 (C-29' and C-31'), 129.0 (C-28' and C-32'), 128.8 (C-30'), 125.5 (C-7), 125.4 (C-13), 125.0 (C-14), 124.6 (C-3'), 122.5 (C-14'), 121.4 (C-15), 121.0 (C-12'), 119.7 (C-13'), 116.6 (C-10'), 111.9 (C-15'), 104.0 (C-8'), 95.4 (C-17), 84.5 (C-2), 80.6 (C-3), 77.5 (C-4), 67.1 (C-19), 66.3 (C-26'), 56.7 (C-22), 56.0 (C-19'), 54.3 (C-5'), 54.2 (C-12), 52.9 (C-24'), 52.7 (C-25), 52.1 (C-20'), 51.6 (C-10), 51.5 (C-8), 45.4 (C-11), 43.8 (C-5), 38.9 (C-23), 35.2 (C-1'), 35.2 (C-2'), 32.0 (C-20), 28.2 (C-21'), 24.3 (C-9'), 21.3 (C-27), 12.7 (C-22'), 8.7 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $C_{55}H_{63}N_4O_{10}$ $[M+H]^+$: 939.4544, found 939.4561

$[\alpha]_D$ = - 66 (CHCl₃, c = 1.0)

COMPOUND 253



The general procedure C (Method 1) was followed using dimethyl acetylenedicarboxylate (6 μ L, 0.07 mmol, 1.1 eq.) and vinorelbine (50 mg, 0.07 mmol, 1 eq) in 0.5 mL of anhydrous acetonitrile. After 2 h of stirring at room temperature, the solvent was evaporated under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on alumina with ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1) to afford compound **253** (22 mg, 37% yield) as a white solid.

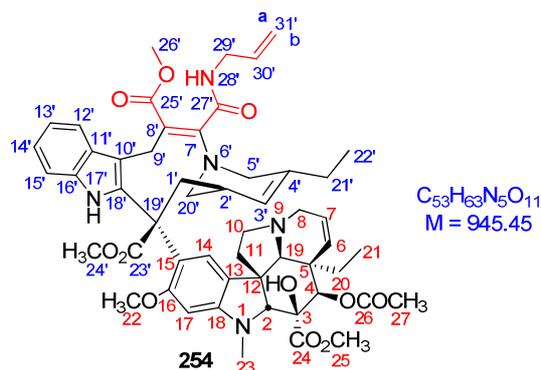
1H NMR (500 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.41 (s, 1H, H-17'), 7.34 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, H-12'), 7.14 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, H-15'), 6.99 (t, $J=7.9$ Hz, 1H, H-14'), 6.93 (s, 1H, H-14), 6.90 (t, $J=7.9$ Hz, 1H, H-13'), 6.27 (s, 1H, H-17), 5.78 (dd, $J=10.1$ and 5.4 Hz, 1H, H-7), 5.27 (d, $J=10.1$ Hz, 1H, H-6), 5.25 (s, 1H, H-3'), 5.23 (s, 1H, H-4), 4.45 (d, $J=15.0$ Hz, 1H, H-9' α), 4.00 (d, $J=15.0$ Hz, 1H, H-9' β), 3.72 (s, 3H, H-22), 3.71 (s, 3H, H-26'), 3.71-3.67 (m, 1H, H-5' α), 3.69 (s, 3H, H-28'), 3.67 (s, 3H, H-25), 3.58 (s, 1H, H-2), 3.49 (s, 3H, H-24'), 3.48-3.44 (m, 1H, H-1' β), 3.34 (d, $J=15.0$ Hz, 1H, H-20' β), 3.29 (dd, $J=16.0$ and 5.4 Hz, 1H, H-8 α), 3.24-3.17 (m, 1H, H-10 β), 2.95 (d, $J=15.0$ Hz, 1H, H-20' α), 2.80 (s, 1H, H-19), 2.73 (d, $J=16.0$ Hz, 1H, H-8 β), 2.70-2.67 (m, 1H, H-5' β), 2.67 (s, 3H, H-23), 2.53-2.50 (m, 1H, H-10 α), 2.15-2.11 (m, 1H, H-1' α), 2.10-2.04 (m, 1H, H-11 β), 1.94 (s, 3H, H-27), 1.92-1.87 (m, 1H, H-11 α), 1.91-1.86 (m, 2H, H-21'), 1.61 (q, $J=7.2$ Hz, 1H, H-20 β), 1.61-1.57 (m, 1H, H-2'), 1.33 (q, $J=7.2$ Hz, 1H, H-20 α), 0.92 (t, $J=7.5$ Hz, 3H, H-22'), 0.63 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, H-21)

^{13}C NMR (125 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 175.4 (C-23'), 173.3 (C-24), 172.0 (C-25'), 171.9 (C-26), 167.0 (C-27'), 159.7 (C-16), 154.7 (C-18), 152.5 (C-7'), 139.3 (C-4'), 136.7 (C-16'), 133.0 (C-18'), 131.7 (C-6), 130.4 (C-11'), 126.0 (C-14), 125.8 (C-7), 125.3 (C-13), 124.3 (C-3'), 123.2 (C-14'), 122.1 (C-15), 120.7 (C-12'), 120.3 (C-13'), 119.9 (C-8'), 114.9 (C-10'), 112.5 (C-15'), 95.8 (C-17), 84.6 (C-2), 81.1 (C-3), 77.8 (C-4), 66.5 (C-19), 57.3 (C-19'), 57.1 (C-22), 55.2 (C-5'), 54.7 (C-12), 53.2 (C-26'), 53.1 (C-25), 53.0 (C-28'), 51.6 (C-8), 51.5 (C-24'), 51.2 (C-10), 51.1 (C-20'), 46.1 (C-11), 44.1 (C-5), 39.1 (C-23), 36.0 (C-2'), 35.1 (C-1'), 32.3 (C-20), 28.4 (C-21'), 26.4 (C-9'), 21.6 (C-27), 13.0 (C-22'), 9.1 (C-21)

HRMS (ESI) : calculated for $C_{51}H_{61}N_4O_{12}$ [$M+H$] $^+$: 921.4286, found: 921.4285

$[\alpha]_{\text{D}} = -23$ (CHCl_3 , $c = 1.0$)

COMPOUND 254



The general procedure C (Method 2) was followed using alkyne **243** (22 mg, 0.13 mmol, 2 eq.) and vinorelbine (50 mg, 0.07 mmol, 1 eq) in 0.5 mL of anhydrous acetonitrile. After 2 h of stirring at room temperature, the solvent was evaporated under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on alumina with heptane/ethyl acetate (4:1 to 0:1) to afford compound **254** (30 mg, 50%) as a yellow powder.

1H NMR (500 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.88 (s, 1H, OH), 8.39 (s, 1H, H-17'), 7.39 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, H-12'), 7.13 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, H-15'), 6.99 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, H-14'), 6.90 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, H-13'), 6.89 (s, 1H, H-14), 6.62 (t, $J=6.0$ Hz, 1H, H-28'), 6.28 (s, 1H, H-17), 5.86-5.80 (m, 1H, H-30'), 5.77 (dd, $J=10.3$ and 5.0 Hz, 1H, H-7), 5.26 (d, $J=10.3$ Hz, 1H, H-6), 5.25-5.24 (m, 1H, H-3'), 5.23 (s, 1H, H-4), 5.17 (d, $J=17.3$ Hz, 1H, H-31'b), 5.07 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, H-31'a), 4.36 (d, $J=14.6$ Hz, 1H, H-9 β), 4.03 (d, $J=14.6$ Hz, 1H, H-9 α), 3.83 (dt, $J=15.5$ and 6.0 Hz, 1H, H-29' α), 3.74 (dt, $J=15.5$ and 6.0 Hz, 1H, H-29' β), 3.79 (d, $J=11.7$ Hz, 1H, H-20' β), 3.73 (s, 3H, H-22), 3.68 (s, 3H, H-26'), 3.67 (s, 3H, H-25), 3.57 (s, 1H, H-2), 3.50 (s, 3H, H-24'), 3.46 (d, $J=14.8$ Hz, 1H, H-1' β), 3.39 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, H-5' α), 3.28 (dd, $J=16.1$ and 5.0 Hz, 1H, H-8 α), 3.20 (td, $J=10.0$ and 5.0 Hz, 1H, H-10 β), 3.04 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, H-5' β), 2.76 (s, 1H, H-19), 2.73 (d, $J=11.7$ Hz, 1H, H-20' α), 2.70 (d, $J=16.1$ Hz, 1H, H-8 β), 2.67 (s, 3H, H-23), 2.44 (td, $J=10.0$ and 6.3 Hz, 1H, H-10 α), 2.12 (d, $J=14.8$ Hz, 1H, H-1' α), 2.08-2.04 (m, 1H, H-11 β), 1.94 (s, 3H, H-27), 1.93-1.90 (m, 1H, H-11 α), 1.89 (q, $J=7.5$ Hz, 2H, H-21'), 1.61 (td, $J=14.2$ and 7.2 Hz, 1H, H-20 β), 1.58-1.56 (m, 1H, H-2'), 1.33 (td, $J=14.2$ and 7.2 Hz, 1H, H-20 α), 0.92 (t, $J=7.5$ Hz, 3H, H-22'), 0.63 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, H-21)

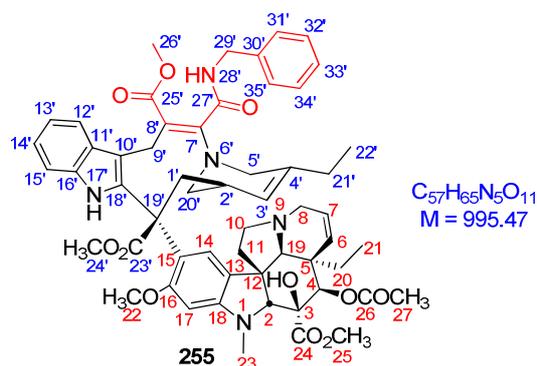
^{13}C NMR (125 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 175.5 (C-23'), 173.3 (C-24), 172.6 (C-25'), 171.9 (C-26), 166.7 (C-27'), 159.6 (C-16), 157.0 (C-7'), 154.7 (C-18), 139.5 (C-4'), 136.8 (C-16'), 136.1 (C-30'), 132.7 (C-18'), 131.7 (C-6), 130.4 (C-11'), 126.0 (C-14), 125.9 (C-7), 125.3 (C-13), 124.4 (C-3'), 123.1 (C-14'), 122.2 (C-15), 121.0 (C-12'), 120.2 (C-13'), 117.0 (C-31'), 115.9 (C-8'), 115.8 (C-10'), 112.4 (C-15'), 95.4 (C-17), 84.6 (C-2), 81.0 (C-3), 77.8 (C-4), 66.6 (C-19), 57.2 (C-22), 56.7 (C-19'), 55.4 (C-20'), 54.7 (C-12), 53.1 (C-24'), 53.0 (C-25), 52.9 (C-26'), 51.6 (C-8), 51.3 (C-10),

51.0 (C-5'), 46.0 (C-11), 44.1 (C-5), 42.8 (C-29'), 39.1 (C-23), 35.9 (C-2'), 35.1 (C-1'), 32.3 (C-20),
28.5 (C-21'), 26.7 (C-9'), 21.7 (C-27), 13.0 (C-22'), 9.1 (C-21)

HRMS (ESI) : calculated for $C_{53}H_{64}N_5O_{11}$ [M+H]⁺: 946.4602, found 946.4646

[α]_D = - 32 (CHCl₃, c = 1.0)

COMPOUND 255



The general procedure C (Method 2) was followed using alkyne **244** (28 mg, 0.13 mmol, 2 eq.) and vinorelbine (50 mg, 0.07 mmol, 1 eq) in 0.5 mL of anhydrous acetonitrile. After 2 h of stirring at room temperature, the solvent was evaporated under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on alumina with heptane/ethyl acetate (4:1 to 0:1) to afford compound **255** (32 mg, 50%) as a yellow powder.

1H NMR (600 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.82 (s, 1H, OH), 8.34 (s, 1H, H-17'), 7.36 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, H-12'), 7.29-7.28 (m, 2H, H-32' and H-34'), 7.28-7.26 (m, 1H, H-33'), 7.22-7.18 (m, 2H, H-31' and H-35'), 7.11 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, H-15'), 6.97 (t, $J=7.9$ Hz, 1H, H-14'), 6.90 (t, $J=6.4$ Hz, 1H, H-28'), 6.88 (t, $J=7.9$ Hz, 1H, H-13'), 6.87 (s, 1H, H-14), 6.25 (s, 1H, H-17), 5.75 (dd, $J=9.8$ and 4.4 Hz, 1H, H-7), 5.24 (d, $J=9.8$ Hz, 1H, H-6), 5.22 (s, 1H, H-4), 5.22-5.19 (m, 1H, H-3'), 4.40 (dd, $J=14.8$ and 6.4 Hz, H-29' α), 4.35 (d, $J=14.8$ Hz, 1H, H-9' β), 4.24 (dd, $J=14.8$ and 6.4 Hz, H-29' β), 4.01 (d, $J=14.8$ Hz, 1H, H-9' α), 3.77 (d, $J=13.3$ Hz, 1H, H-20' β), 3.71 (s, 3H, H-22), 3.65 (s, 3H, H-25), 3.55-3.54 (s, 1H, H-2), 3.53 (s, 3H, H-26'), 3.48 (s, 3H, H-24'), 3.46-3.44 (m, 1H, H-1' β), 3.32 (d, $J=14.5$ Hz, 1H, H-5' α), 3.26 (d, $J=14.4$ Hz, 1H, H-8 α), 3.19-3.16 (m, 1H, H-10 β), 2.98 (d, $J=14.5$ Hz, 1H, H-5' β), 2.72 (s, 1H, H-19), 2.70-2.67 (m, 1H, H-20' α), 2.67 (d, $J=14.5$ Hz, 1H, H-8 β), 2.64 (s, 3H, H-23), 2.42-2.38 (m, 1H, H-10 α), 2.10 (d, $J=16.1$ Hz, 1H, H-1' α), 2.08-2.02 (m, 1H, H-11 β), 1.92 (s, 3H, H-27), 1.90-1.86 (m, 1H, H-11 α), 1.83 (q, $J=7.5$ Hz, 2H, H-21'), 1.62-1.57 (m, 1H, H-20 β), 1.56-1.54 (m, 1H, H-2'), 1.34-1.28 (m, 1H, H-20 α), 0.87 (t, $J=7.5$ Hz, 3H, H-22'), 0.61 (t, $J=6.7$ Hz, 3H, H-21)

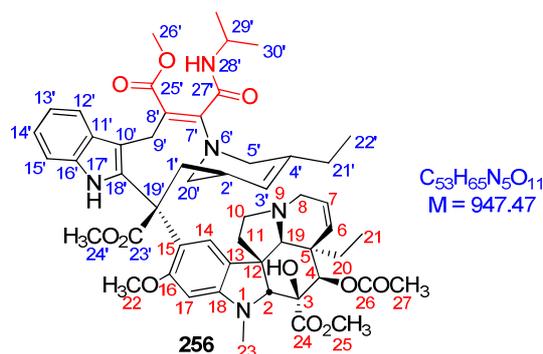
^{13}C NMR (150 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 175.5 (C-23'), 173.4 (C-24), 172.6 (C-25'), 171.9 (C-26), 166.3 (C-27'), 159.7 (C-16), 157.6 (C-7'), 154.8 (C-18), 140.5 (C-30'), 139.6 (C-4'), 136.8 (C-16'), 132.6 (C-18'), 131.7 (C-6), 130.0 (C-11'), 129.9 (C-33'), 129.5 (C-32' and C-34'), 128.6 (C-31' and C-35'), 126.0 (C-14), 125.9 (C-7 and C-13), 124.5 (C-3'), 123.2 (C-14'), 122.3 (C-15), 121.0 (C-12'), 120.3 (C-13'), 116.0 (C-10' and C-8'), 112.4 (C-15'), 95.5 (C-17), 84.7 (C-2), 81.1 (C-3), 77.9 (C-4), 66.8 (C-19), 57.4 (C-19'), 57.2 (C-22), 55.4 (C-20'), 54.7 (C-12), 53.2 (C-24'), 53.0 (C-25),

52.7 (C-26'), 51.7 (C-8), 51.4 (C-10), 51.1 (C-5'), 46.1 (C-11), 44.3 (C-29'), 44.2 (C-5), 39.2 (C-23), 36.0 (C-2'), 35.2 (C-1'), 32.3 (C-20), 28.7 (C-21'), 26.8 (C-9'), 21.7 (C-27), 13.1 (C-22'), 9.2 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $C_{57}H_{66}N_5O_{11}$ [M+H]⁺: 996.4759, found: 996.4789

[α]_D = - 75 (CHCl₃, c = 1.0)

COMPOUND 256



The general procedure C (Method 2) was followed using alkyne **245** (22 mg, 0.13 mmol, 2 eq.) and vinorelbine (50 mg, 0.07 mmol, 1 eq) in 0.5 mL of anhydrous acetonitrile. After 2 h of stirring at room temperature, the solvent was evaporated under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on alumina with heptane/ethyl acetate (4:1 to 0:1) to afford compound **256** (32 mg, 52% yield) as a yellow powder.

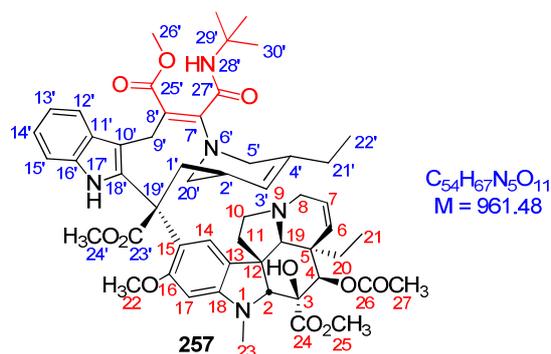
1H NMR (500 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.88 (s, 1H, OH), 8.38 (s, 1H, H-17'), 7.39 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, H-12'), 7.13 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, H-15'), 6.99 (t, $J=7.9$ Hz, 1H, H-14'), 6.90 (t, $J=7.9$ Hz, 1H, H-13'), 6.89 (s, 1H, H-14), 6.37 (d, $J=7.1$ Hz, 1H, H-28'), 6.27 (s, 1H, H-17), 5.78 (dd, $J=8.9$ and 4.5 Hz, 1H, H-7), 5.26 (d, $J=8.9$ Hz, 1H, H-6), 5.25-5.24 (m, 1H, H-3'), 5.23 (s, 1H, H-4), 4.34 (d, $J=14.6$ Hz, 1H, H-9' β), 4.03 (d, $J=14.0$ Hz, 1H, H-9' α), 3.92 (sext, $J=7.1$ Hz, H-29'), 3.79 (d, $J=13.6$ Hz, 1H, H-20' β), 3.73 (s, 3H, H-22), 3.68 (s, 3H, H-26'), 3.67 (s, 3H, H-25), 3.57 (s, 1H, H-2), 3.50 (s, 3H, H-24'), 3.46 (t, $J=15.3$ Hz, 1H, H-1' β), 3.40 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, H-5' α), 3.29 (dd, $J=12.3$ and 4.5 Hz, 1H, H-8 α), 3.20 (td, $J=10.5$ and 4.9 Hz, 1H, H-10 β), 3.05 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, H-5' β), 2.76 (s, 1H, H-19), 2.72 (d, $J=13.6$ Hz, 1H, H-20' α), 2.71 (dd, $J=12.3$ Hz, 1H, H-8 β), 2.67 (s, 3H, H-23), 2.45 (td, $J=10.5$ and 6.0 Hz, 1H, H-10 α), 2.12 (d, $J=15.3$ Hz, 1H, H-1' α), 2.09-2.06 (m, 1H, H-11 β), 1.94 (s, 3H, H-27), 1.92-1.88 (m, 1H, H-11 α), 1.91-1.87 (m, 2H, H-21'), 1.65-1.57 (m, 1H, H-20 β), 1.58-1.56 (m, 1H, H-2'), 1.37-1.30 (m, 1H, H-20 α), 1.08 (t, $J=7.1$ Hz, 6H, H-30'), 0.92 (t, $J=7.5$ Hz, 3H, H-22'), 0.63 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, H-21)

^{13}C NMR (125 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 175.5 (C-23'), 173.3 (C-24), 172.6 (C-25'), 171.9 (C-26), 165.9 (C-27'), 159.6 (C-16), 157.4 (C-7'), 154.7 (C-18), 139.6 (C-4'), 136.8 (C-16'), 132.7 (C-18'), 131.7 (C-6), 130.4 (C-11'), 126.0 (C-14), 125.9 (C-7), 125.3 (C-13), 124.3 (C-3'), 123.1 (C-14'), 122.2 (C-15), 121.0 (C-12'), 120.2 (C-13'), 116.1 (C-10'), 115.1 (C-8'), 112.4 (C-15'), 95.4 (C-17), 84.6 (C-2), 81.1 (C-3), 77.8 (C-4), 66.6 (C-19), 57.2 (C-22), 56.8 (C-19'), 55.5 (C-20'), 54.6 (C-12), 53.1 (C-24'), 53.0 (C-25), 52.8 (C-26'), 51.6 (C-8), 51.3 (C-10), 50.9 (C-5'), 46.0 (C-11), 44.2 (C-5), 42.7 (C-29'), 39.1 (C-23), 35.9 (C-2'), 35.1 (C-1'), 32.3 (C-20), 28.6 (C-21'), 26.7 (C-9'), 22.9 (C-30'), 21.7 (C-27), 13.0 (C-22'), 9.1 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $C_{53}H_{66}N_5O_{11}$ $[M+H]^+$: 948.4759, found: 948.4767

$[\alpha]_D$ = - 28 (CHCl₃, c = 1.0)

COMPOUND 257



The general procedure C (Method 2) was followed using alkyne **246** (23.8 mg, 0.13 mmol, 2 eq.) and vinorelbine (50 mg, 0.07 mmol, 1 eq) in 0.5 mL of anhydrous acetonitrile. After 2 h of stirring at room temperature, the solvent was evaporated under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on alumina with heptane/ethyl acetate (4:1 to 0:1) to afford compound **257** (32 mg, 52% yield) as a yellow powder.

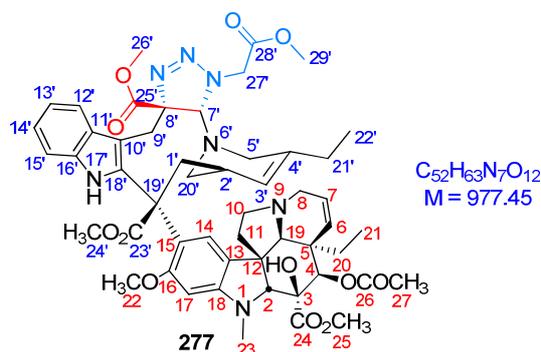
1H NMR (500 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.91 (s, 1H, OH), 8.45 (s, 1H, H-17'), 7.44 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H-12'), 7.17 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H-15'), 7.02 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, H-14'), 6.94 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, H-13'), 6.92 (s, 1H, H-14), 6.31 (s, 1H, H-28'), 6.28 (s, 1H, H-17), 5.81 (dd, $J=10.1$ and 4.9 Hz, 1H, H-7), 5.30 (d, $J=10.1$ Hz, 1H, H-6), 5.27 (s, 1H, H-4), 5.27-5.26 (m, 1H, H-3'), 4.37 (d, $J=14.8$ Hz, 1H, H-9' β), 4.05 (d, $J=14.8$ Hz, 1H, H-9' α), 3.81 (d, $J=12.7$ Hz, 1H, H-20' β), 3.77 (s, 3H, H-22), 3.73 (s, 3H, H-26'), 3.71 (s, 3H, H-25), 3.61 (s, 1H, H-2), 3.53 (s, 3H, H-24'), 3.51-3.46 (m, 1H, H-1' β), 3.46 (d, $J=13.5$ Hz, 1H, H-5' α), 3.32 (d, $J=14.9$ Hz, 1H, H-8 α), 3.26-3.19 (m, 1H, H-10 β), 3.14 (d, $J=13.5$ Hz, 1H, H-5' β), 2.78 (s, 1H, H-19), 2.73 (d, $J=12.7$ Hz, 1H, H-20' α), 2.72-2.68 (m, 1H, H-8 β), 2.71 (s, 3H, H-23), 2.47 (dd, $J=16.9$ and 8.4 Hz, 1H, H-10 α), 2.16 (d, $J=16.3$ Hz, 1H, H-1' α), 2.14-2.08 (m, 1H, H-11 β), 1.98 (s, 3H, H-27), 1.95-1.92 (m, 2H, H-11 α and H-21'), 1.65 (td, $J=14.6$ and 6.7 Hz, 1H, H-20 β), 1.60-1.58 (m, 1H, H-2'), 1.40-1.36 (m, 1H, H-20 α), 0.96 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, H-22'), 0.66 (t, $J=6.7$ Hz, 3H, H-21)

^{13}C NMR (125 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 175.5 (C-23'), 173.3 (C-24), 172.7 (C-25'), 171.9 (C-26), 166.3 (C-27'), 159.6 (C-16), 157.6 (C-7'), 154.7 (C-18), 139.6 (C-4'), 136.7 (C-16'), 132.6 (C-18'), 131.7 (C-6), 130.5 (C-11'), 126.0 (C-14), 125.9 (C-7), 125.3 (C-13), 124.3 (C-3'), 123.1 (C-14'), 122.2 (C-15), 121.1 (C-12'), 120.2 (C-13'), 116.1 (C-10'), 114.8 (C-8'), 112.4 (C-15'), 95.4 (C-17), 84.6 (C-2), 81.1 (C-3), 77.8 (C-4), 66.6 (C-19), 57.3 (C-19'), 57.2 (C-22), 55.5 (C-20'), 54.7 (C-12), 53.1 (C-24'), 53.0 (C-25), 52.9 (C-26'), 52.7 (C-29'), 51.6 (C-8), 51.2 (C-10), 50.9 (C-5'), 46.0 (C-11), 44.1 (C-5), 39.1 (C-23), 36.0 (C-2'), 35.1 (C-1'), 32.2 (C-20), 29.1 (C-30'), 28.6 (C-21'), 26.7 (C-9'), 21.7 (C-27), 13.0 (C-22'), 9.1 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $C_{54}H_{68}N_5O_{11}$ $[M+H]^+$: 962.4915, found: 962.4957

$[\alpha]_{\text{D}} = -32$ (CHCl_3 , $c = 1.0$)

COMPOUND 277



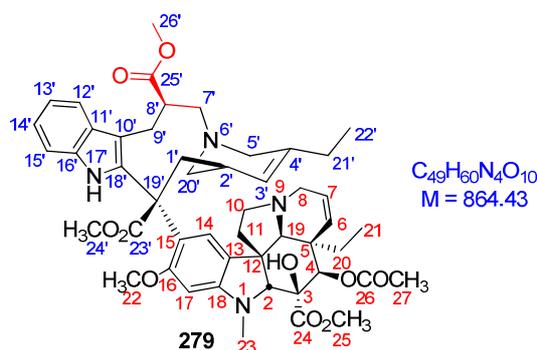
Methyl 2-azidoacetate (20 μ L, 0.46 mmol, 20 eq.) was added to compound **233** (20 mg, 0.02 mmol, 1 eq.) in a sealed tube. The reaction mixture was stirred at 62 $^{\circ}$ C during 24 h, after which the azide was removed under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on silica gel with ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1) to afford compound **277** (12 mg, 53% yield) as a yellow powder.

1 H NMR (600 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.63 (s, 1H, H-17'), 7.59 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-12'), 7.17 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-15'), 7.05 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, H-14'), 7.00 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, H-13'), 6.29 (s, 1H, H-14), 6.20 (s, 1H, H-17), 5.74 (dd, $J=10.2$ and 5.1 Hz, 1H, H-7), 5.24 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, H-6), 5.20 (d, $J=4.3$ Hz, 1H, H-3'), 5.13 (s, 1H, H-4), 4.87 (s, 1H, H-7'), 4.68 (d, $J=18.0$ Hz, 1H, H-27' β), 4.58 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, H-9' β), 3.98 (d, $J=18.0$ Hz, 1H, H-27' α), 3.82 (s, 3H, H-26'), 3.78 (s, 3H, H-22), 3.68 (s, 3H, H-29'), 3.67 (s, 3H, H-25), 3.64 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, H-9' α), 3.60 (s, 3H, H-24'), 3.51 (s, 1H, H-2), 3.41 (d, $J=16.0$ Hz, 1H, H-5' α), 3.31 (d, $J=16.0$ Hz, 1H, H-5' β), 3.27 (dd, $J=16.2$ and 5.4 Hz, 1H, H-8 β), 3.22 (td, $J=9.3$ and 4.8 Hz, 1H, H-10 β), 2.93 (dd, $J=15.0$ and 13.2 Hz, 1H, H-1' β), 2.64 (s, 3H, H-23), 2.55 (d, $J=16.2$ Hz, 1H, H-8 α), 2.46 (d, $J=13.2$ Hz, 1H, H-1' α), 2.44 (s, 1H, H-19), 2.32 (td, $J=10.3$ and 6.2 Hz, 1H, H-10 α), 2.04-2.00 (m, 1H, H-11 β), 1.98 (dd, $J=15.0$ and 6.8 Hz, 1H, H-20' β), 1.90 (q, $J=7.1$ Hz, 2H, H-21'), 1.80 (td, $J=11.0$ and 5.0 Hz, 1H, H-11 α), 1.76 (d, $J=15.0$ and 4.6 Hz, 1H, H-20' α), 1.50 (dd, $J=14.0$ and 7.6 Hz, 1H, H-20 β), 1.19-1.15 (m, 1H, H-20 α), 1.15 (s, 1H, H-2'), 0.96 (t, $J=7.1$ Hz, 3H, H-22'), 0.47 (t, $J=7.6$ Hz, 3H, H-21)

13 C NMR (150 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 176.3 (C-23'), 174.6 (C-25'), 172.7 (C-24), 171.5 (C-26), 170.2 (C-28'), 159.3 (C-16), 153.9 (C-18), 139.5 (C-4'), 136.0 (C-16'), 133.0 (C-18'), 131.2 (C-11'), 125.4 (C-14), 125.3 (C-7), 124.2 (C-13), 123.1 (C-3'), 123.1 (C-14'), 121.6 (C-15), 121.6 (C-12'), 119.7 (C-13'), 113.8 (C-10'), 111.7 (C-15'), 93.9 (C-17), 87.7 (C-8'), 84.1 (C-2), 81.6 (C-7'), 80.7 (C-3), 77.3 (C-4), 65.9 (C-19), 57.2 (C-19'), 56.7 (C-22), 54.5 (C-5'), 54.1 (C-12), 53.8 (C-26'), 53.2 (C-24'), 53.0 (C-29'), 52.6 (C-25), 51.4 (C-8), 51.0 (C-27'), 50.8 (C-10), 45.6 (C-11), 44.9 (C-20'), 43.5 (C-5), 38.7 (C-23), 34.6 (C-2'), 34.2 (C-1'), 31.7 (C-20), 28.1 (C-21'), 23.7 (C-9'), 21.3 (C-27), 12.7 (C-22'), 8.5 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $\text{C}_{52}\text{H}_{64}\text{N}_7\text{O}_{12}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 978.4607, found 978.4624

COMPOUND 279



General procedure D (Method 2) was followed using $NaBH(OAc)_3$ (15 mg, 0.07 mmol, 3 eq.) and enaminoester **233** (20 mg, 0.02 mmol, 1 eq.) in dichloromethane (0.2 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 4 hours at 0 °C. The resulting mixture was diluted with dichloromethane and washed with a saturated sodium carbonate solution. Solvent removal under reduced pressure provided the aminoester **279** (14 mg, 69% yield) as a white powder.

1H NMR (600 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.51 (s, 1H, H-17'), 7.33 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H-12'), 7.16 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H-15'), 7.01 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, H-14'), 6.92 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, H-13'), 6.80 (s, 1H, H-14), 6.25 (s, 1H, H-17), 5.77 (dd, $J=10.7$ and 5.1 Hz, 1H, H-7), 5.26 (d, $J=10.7$ Hz, 1H, H-6), 5.18 (s, 1H, H-4), 5.13 (d, $J=4.6$ Hz, 1H, H-3'), 4.14 (d, $J=14.5$ Hz, 1H, H-9' β), 3.75 (s, 3H, H-22), 3.71 (s, 3H, H-26'), 3.66 (s, 3H, H-25), 3.52 (s, 1H, H-2), 3.49 (s, 3H, H-24'), 3.26 (dd, $J=14.9$ and 5.1 Hz, 1H, H-8 β), 3.21 (dd, $J=16.0$ and 11.4 Hz, 1H, H-1' β), 3.16 (td, $J=9.9$ and 5.6 Hz, 1H, H-10 β), 3.10 (d, $J=14.5$ Hz, 1H, H-9' α), 3.02-3.00 (m, 1H, H-8'), 2.99 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, H-5' β), 2.84 (d, $J=11.3$ Hz, 1H, H-20' β), 2.82 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, H-5' α), 2.80 (s, 1H, H-19), 2.70 (d, $J=12.2$ Hz, 1H, H-7' β), 2.68 (d, $J=14.9$ Hz, 1H, H-8 α), 2.65 (s, 3H, H-23), 2.60-2.56 (m, 1H, H-7' α), 2.44 (td, $J=9.9$ and 5.6 Hz, 1H, H-10 α), 2.20 (d, $J=16.0$ Hz, 1H, H-1' α), 2.01-1.97 (m, 1H, H-11 β), 1.94 (s, 3H, H-27), 1.87 (q, $J=7.6$ Hz, 2H, H-21'), 1.80 (td, $J=12.2$ and 5.6 Hz, 1H, H-11 α), 1.68 (d, $J=11.3$ Hz, 1H, H-20' α), 1.57 (q, $J=7.6$ Hz, 1H, H-20 β), 1.30 (q, $J=7.6$ Hz, 1H, H-20 α), 1.08 (s, 1H, H-2'), 0.92 (t, $J=7.6$ Hz, 3H, H-22'), 0.64 (t, $J=6.9$ Hz, 3H, H-21)

^{13}C NMR (150 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 178.3 (C-25'), 176.3 (C-23'), 173.1 (C-24), 171.8 (C-26), 159.6 (C-16), 154.2 (C-18), 140.8 (C-4'), 136.7 (C-16'), 132.4 (C-18'), 131.7 (C-6), 130.9 (C-11'), 125.9 (C-14), 125.8 (C-7), 124.9 (C-13), 124.4 (C-3'), 123.3 (C-14'), 122.7 (C-15), 120.2 (C-12'), 120.0 (C-13'), 118.0 (C-10'), 112.3 (C-15'), 94.9 (C-17), 84.4 (C-2), 81.1 (C-3), 77.7 (C-4), 65.8 (C-19), 57.7 (C-19'), 57.1 (C-22), 57.0 (C-5'), 56.3 (C-7'), 54.6 (C-12), 53.0 (C-24'), 53.0 (C-26'), 52.9 (C-25), 51.4 (C-8), 50.7 (C-10), 50.3 (C-20'), 47.8 (C-8'), 45.9 (C-11), 44.0 (C-5), 39.1 (C-23), 35.9 (C-2'), 35.2 (C-1'), 32.1 (C-20), 28.4 (C-21'), 22.1 (C-9'), 21.6 (C-27), 13.1 (C-22'), 9.0 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $C_{49}H_{61}N_4O_{10}$ $[M+H]^+$: 865.4387, found: 865.4398

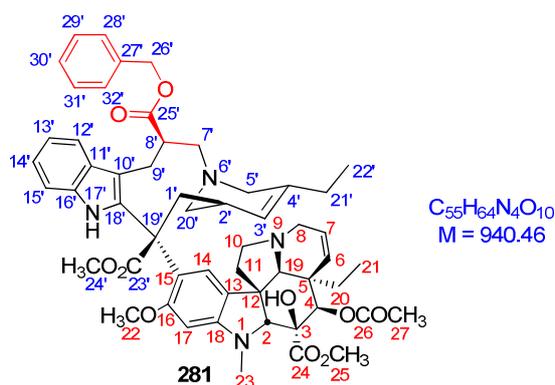
$[\alpha]_{\text{D}} = +30$ (CHCl_3 , $c = 1.0$)

(C-2'), 35.3 (C-1'), 32.2 (C-20), 28.5 (C-21'), 22.0 (C-9'), 21.7 (C-27), 15.1 (C-27'), 13.2 (C-22'), 9.1 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $C_{50}H_{63}N_4O_{10}$ [M+H]⁺: 879.4544, found 879.4547

[α]_D = +28 (CHCl₃, c = 1.0)

COMPOUND 281



General procedure D (Method 2) was followed using NaBH(OAc)₃ (13 mg, 0.06 mmol, 3 eq.) and enaminoester **250** (20 mg, 0.02 mmol, 1 eq.) in dichloromethane (0.2 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 4 hours at 0 °C. The resulting mixture was diluted with dichloromethane and washed with a saturated sodium carbonate solution. Solvent removal under reduced pressure provided aminoester **281** (19 mg, 90% yield) as a white powder.

¹H NMR (500 MHz, CD₃CN): δ (ppm) 8.47 (s, 1H, H-17'), 7.40 (d, J=7.5 Hz, 2H, H-28'), 7.36 (t, J=7.5 Hz, 2H, H-29'), 7.34-7.31 (m, 1H, H-30'), 7.28 (d, J=7.8 Hz, 1H, H-12'), 7.14 (d, J=7.8 Hz, 1H, H-15'), 6.99 (t, J=7.8 Hz, 1H, H-14'), 6.84 (t, J=7.8 Hz, 1H, H-13'), 6.78 (s, 1H, H-14), 6.24 (s, 1H, H-17), 5.76 (dd, J=10.2 and 4.7 Hz, 1H, H-7), 5.27 (d, J=10.2 Hz, 1H, H-6), 5.25 (d, J=12.2 Hz, 1H, H-26'), 5.19 (s, 1H, H-4), 5.15 (d, J=12.2 Hz, 1H, H-26'), 5.12 (d, J=5.0 Hz, 1H, H-3'), 4.15 (dd, J= 13.3 and 4.6 Hz, 1H, H-9'β), 3.75 (s, 3H, H-25), 3.66 (s, 3H, H-22), 3.52 (s, 1H, H-2), 3.50 (s, 3H, H-24'), 3.25 (dd, J=16.2 and 4.7 Hz, 1H, H-8β), 3.23 (t, J=14.7 Hz, 1H, H-1'β), 3.16-3.13 (m, 1H, H-10β), 3.11 (dd, J=13.3 and 4.6 Hz, 1H, H-9'α), 3.05 (td, J=6.7 and 4.6 Hz, 1H, H-8'), 2.95 (d, J=15.5 Hz, 1H, H-5'β), 2.83 (d, J=11.4 Hz, 1H, H-20'β), 2.79 (d, J=15.5 Hz, 1H, H-5'α), 2.76 (s, 1H, H-19), 2.72 (t, J=11.5 Hz, 1H, H-7'β), 2.65 (s, 3H, H-23), 2.63 (d, J=16.2 Hz, 1H, H-8α), 2.62 (dd, J=11.5 and 6.7 Hz, 1H, H-7'α), 2.40 (td, J=10.2 and 5.6 Hz, 1H, H-10α), 2.20 (d, J=14.7 Hz, 1H, H-1'α), 2.01-1.96 (m, 1H, H-11β), 1.94 (s, 3H, H-27), 1.93-1.90 (m, 1H, H-11α), 1.84 (q, J= 7.5 Hz, 2H, H-21'), 1.67 (d, J=11.4 Hz, 1H, H-20'α), 1.58 (dd, J=14.1 and 7.4 Hz, 1H, H-20β), 1.29 (dd, J=14.1 and 7.4 Hz, 1H, H-20α), 1.12-1.08 (m, 1H, H-2'), 0.91 (t, J=7.5 Hz, 3H, H-22'), 0.63 (t, J=7.4 Hz, 3H, H-21)

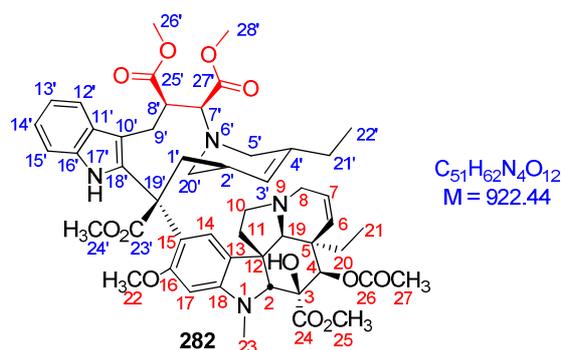
¹³C NMR (125 MHz, CD₃CN): δ (ppm) 177.7 (C-25'), 176.3 (C-23'), 173.2 (C-24), 171.9 (C-26), 159.7 (C-16), 154.3 (C-18), 140.8 (C-4'), 137.9 (C-27'), 136.7 (C-16'), 132.6 (C-18'), 131.8 (C-6), 130.9 (C-11'), 130.0 (C-29'), 130.0 (C-28'), 129.6 (C-30'), 126.0 (C-7), 125.8 (C-14), 125.0 (C-13), 124.6 (C-3'), 123.3 (C-15), 122.9 (C-14'), 120.3 (C-12'), 120.1 (C-13'), 118.1 (C-10'), 112.3 (C-15'), 95.1 (C-17), 84.5 (C-2), 81.1 (C-3), 77.8 (C-4), 67.8 (C-19), 66.1 (C-26'), 57.8 (C-19'), 57.2 (C-22), 57.1 (C-5'), 56.9 (C-7'), 54.7 (C-12), 53.1 (C-24'), 52.9 (C-25), 51.5 (C-8), 50.8 (C-10), 50.4 (C-

20'), 48.1 (C-8'), 46.0 (C-11), 44.1 (C-5), 39.3 (C-23), 36.0 (C-2'), 35.3 (C-1'), 32.2 (C-20), 28.5 (C-21'), 22.1 (C-9'), 21.7 (C-27), 13.3 (C-22'), 9.1 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $C_{55}H_{65}N_4O_{10}$ $[M+H]^+$: 941.4700, found: 941.4730

$[\alpha]_D$ = +31 (CHCl₃, c = 1.0)

COMPOUND 282



General procedure D (Method 1) was followed using a solution of anhydrous zinc iodide (21 mg, 0.07 mmol, 3 eq.) in dry CH₂Cl₂ (0.2 mL) at 0 °C and enaminoester **253** (20 mg, 0.02 mmol, 1 eq.). The resulting mixture was stirred at the same temperature for 1 h, after which NaBH₄ (4 mg, 0.12 mmol, 5 eq.) was added. The solution was allowed to reach room temperature and stirred at room temperature overnight. The reaction was then quenched with a saturated ammonium chloride solution, and the reaction mixture was extracted with CH₂Cl₂. The organic layers were combined, washed with brine, dried over magnesium sulfate and filtrated. The solvents were removed under reduced pressure to provide the crude compound that was purified by column chromatography on silica gel using ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1) to afford compound **282** (7 mg, 33% yield) as a white powder.

¹H NMR (600 MHz, CD₃CN): δ (ppm) 8.96 (s, 1H, OH), 8.54 (s, 1H, H-17'), 7.38 (d, J=7.7 Hz, 1H, H-12'), 7.17 (d, J=7.7 Hz, 1H, H-15'), 7.02 (t, J=7.7 Hz, 1H, H-14'), 6.94 (s, 1H, H-14), 6.93 (t, J=7.7 Hz, 1H, H-13'), 6.25 (s, 1H, H-17), 5.78 (dd, J=10.2 and 5.1 Hz, 1H, H-7), 5.29 (d, J=10.2 Hz, 1H, H-6), 5.18 (s, 1H, H-4), 5.15 (d, J=5.5 Hz, 1H, H-3'), 4.10 (dd, J=15.1 and 5.7 Hz, 1H, H-9'β), 3.75 (s, 3H, H-22), 3.69 (s, 3H, H-26'), 3.66 (s, 3H, H-25), 3.59 (s, 3H, H-28'), 3.52 (s, 1H, H-2), 3.48 (s, 3H, H-24'), 3.47 (m, 1H, H-8'), 3.41 (d, J=5.7 Hz, 1H, H-7'), 3.27 (dd, J=16.3 and 5.1 Hz, 1H, H-8β), 3.23 (dd, J=15.4 and 11.7 Hz, 1H, H-1'β), 3.16 (td, J=9.9 and 5.5 Hz, 1H, H-10β), 3.13 (dd, J=15.1 and 5.7 Hz, 1H, H-9'α), 3.05 (d, J=16.0 Hz, 1H, H-5'β), 2.98 (d, J=16.0 Hz, 1H, H-5'α), 2.95 (d, J=12.2 Hz, 1H, H-20'β), 2.85 (s, 1H, H-19), 2.68 (d, J=16.3 Hz, 1H, H-8α), 2.65 (s, 3H, H-23), 2.44 (td, J=9.9 and 5.5 Hz, 1H, H-10α), 2.12 (d, J=15.4 Hz, 1H, H-1'α), 2.02 (d, J=12.2 Hz, 1H, H-20'α), 1.98 (td, J=10.6 and 5.5 Hz, 1H, H-11β), 1.94 (s, 3H, H-27), 1.85 (q, J=7.5 Hz, 2H, H-21'), 1.78 (td, J=10.6 and 5.5 Hz, 1H, H-11α), 1.57 (td, J=14.4 and 7.2 Hz, 1H, H-20β), 1.32 (td, J=14.4 and 7.2 Hz, 1H, H-20α), 1.10-1.07 (m, 1H, H-2'), 0.91 (t, J=7.5 Hz, 3H, H-22'), 0.69 (t, J=7.2 Hz, 3H, H-21)

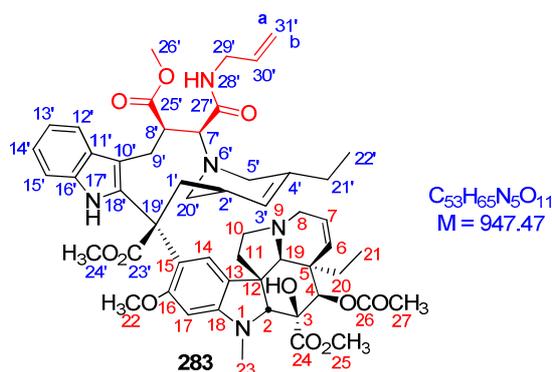
¹³C NMR (150 MHz, CD₃CN): δ (ppm) 176.2 (C-25'), 176.1 (C-23'), 173.4 (C-27'), 173.1 (C-24), 171.8 (C-26), 159.5 (C-16), 154.2 (C-18), 140.4 (C-4'), 136.8 (C-16'), 133.0 (C-18'), 131.7 (C-6), 130.7 (C-11'), 126.0 (C-14), 125.8 (C-7), 124.9 (C-13), 124.1 (C-3'), 123.3 (C-14'), 122.2 (C-15),

120.2 (C-13'), 120.1 (C-12'), 116.1 (C-10'), 112.5 (C-15'), 94.9 (C-17), 84.3 (C-2), 81.0 (C-3), 77.7 (C-4), 67.5 (C-7'), 65.7 (C-19), 57.6 (C-19'), 57.1 (C-22), 54.6 (C-12), 53.1 (C-26'), 53.0 (C-24'), 52.8 (C-25), 52.7 (C-5'), 52.5 (C-28'), 51.5 (C-8), 51.4 (C-20'), 50.6 (C-10), 50.0 (C-8'), 45.9 (C-11), 44.0 (C-5), 39.1 (C-23), 35.9 (C-2'), 35.2 (C-1'), 32.1 (C-20), 28.4 (C-21'), 22.5 (C-9'), 21.6 (C-27), 13.1 (C-22'), 9.1 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $C_{51}H_{63}N_4O_{12}$ [M+H]⁺: 923.4442, found 923.4360

$[\alpha]_D$ = +4 (CHCl₃, c = 1.0)

COMPOUND 283



General procedure D (Method 2) was followed using $NaBH(OAc)_3$ (13 mg, 0.06 mmol, 3 eq.) and enaminoester **254** (20 mg, 0.021 mmol, 1 eq.) in dichloromethane (0.2 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 4 hours at 0 °C. The resulting mixture was diluted with dichloromethane and washed with a saturated sodium carbonate solution. Solvent removal under reduced pressure provided aminoester **283** (16 mg, 78% yield) as a yellow powder.

1H NMR (500 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.54 (s, 1H, H-17'), 7.38 (d, $J=7.7$ Hz, 1H, H-12'), 7.14 (d, $J=7.7$ Hz, 1H, H-15'), 7.00 (t, $J=7.7$ Hz, 1H, H-14'), 6.90 (t, $J=7.7$ Hz, 1H, H-13'), 6.81 (t, $J=5.7$ Hz, 1H, H-28'), 6.75 (s, 1H, H-14), 6.25 (s, 1H, H-17), 5.83 (m, 1H, H-30'), 5.76 (dd, $J=14.0$ and 4.8 Hz, 1H, H-7), 5.28 (d, $J=14.0$ Hz, 1H, H-6), 5.19 (s, 1H, H-4), 5.18 (dd, $J=14.0$ and 1.6 Hz, 1H, H-31'b), 5.09 (d, $J=5.1$ Hz, 1H, H-3'), 5.06 (dd, $J=10.6$ and 1.6 Hz, 1H, H-31'a), 4.02 (d, $J=12.7$ Hz, 1H, H-9 β), 3.79-3.75 (m, 2H, H-29'), 3.77 (s, 3H, H-22), 3.68 (s, 3H, H-26'), 3.66 (s, 3H, H-25), 3.53 (s, 1H, H-2), 3.52 (s, 3H, H-24'), 3.30 (dd, $J=10.9$ and 4.8 Hz, 1H, H-8 β), 3.29 (t, $J=14.7$ Hz, 1H, H-1' β), 3.25 (d, $J=12.7$ Hz, 1H, H-9' α), 3.24-3.22 (m, 1H, H-8'), 3.20-3.19 (m, 1H, H-7'), 3.14 (dd, $J=9.9$ and 5.4 Hz, 1H, H-10 β), 3.11 (d, $J=12.1$ Hz, 1H, H-20' β), 3.05 (d, $J=15.4$ Hz, 1H, H-5' β), 2.79 (s, 1H, H-19), 2.69 (d, $J=15.4$ Hz, 1H, H-5' α), 2.68 (d, $J=16.0$ Hz, 1H, H-8 α), 2.66 (s, 3H, H-23), 2.46 (td, $J=9.9$ and 5.4 Hz, 1H, H-10 α), 2.22 (d, $J=14.7$ Hz, 1H, H-1' α), 2.00 (td, $J=9.9$ and 5.4 Hz, 1H, H-11 β), 1.94 (s, 3H, H-27), 1.86 (q, $J=7.4$ Hz, 2H, H-21'), 1.82 (td, $J=10.9$ and 5.4 Hz, 1H, H-11 α), 1.77 (dd, $J=12.1$ and 2.8 Hz, 1H, H-20' α), 1.57 (td, $J=14.5$ and 7.2 Hz, 1H, H-20 β), 1.30 (td, $J=14.5$ and 7.2 Hz, 1H, H-20 α), 1.20-1.16 (m, 1H, H-2'), 0.91 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, H-22'), 0.61 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, H-21)

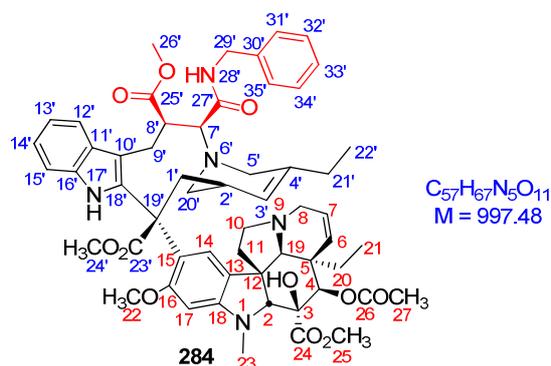
^{13}C NMR (125 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 176.3 (C-25'), 176.2 (C-23'), 173.2 (C-24), 171.9 (C-26), 171.3 (C-27'), 159.6 (C-16), 154.3 (C-18), 140.4 (C-4'), 136.8 (C-16'), 136.6 (C-30'), 132.5 (C-18'), 131.8 (C-6), 130.8 (C-11'), 126.4 (C-14), 125.7 (C-7), 125.0 (C-13), 124.5 (C-3'), 123.4 (C-14'), 123.2 (C-15), 120.5 (C-12'), 120.2 (C-13'), 118.3 (C-10'), 116.6 (C-31'), 112.4 (C-15'), 95.0 (C-17), 84.4 (C-2), 81.2 (C-3), 77.8 (C-4), 70.0 (C-7'), 66.1 (C-19), 58.2 (C-19'), 57.2 (C-22), 54.7 (C-5'),

54.7 (C-12), 53.2 (C-24'), 53.1 (C-25), 53.0 (C-26'), 51.6 (C-8), 50.8 (C-10), 50.3 (C-8'), 49.6 (C-20'), 46.0 (C-11), 44.1 (C-5), 42.4 (C-29'), 39.2 (C-23), 35.8 (C-2'), 35.1 (C-1'), 32.2 (C-20), 28.7 (C-21'), 21.7 (C-27), 19.9 (C-9'), 13.2 (C-22'), 9.0 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $C_{53}H_{66}N_5O_{11}$ [M+H]⁺: 948.4759, found: 948.4766

$[\alpha]_D$ = +11 (CHCl₃, c = 1.0)

COMPOUND 284



General procedure D (Method 2) was followed using NaBH(OAc)₃ (13 mg, 0.06 mmol, 3 eq.) and enaminoester **255** (20 mg, 0.02 mmol, 1 eq.) in dichloromethane (0.2 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 4 hours at 0 °C. The resulting mixture was diluted with dichloromethane and washed with a saturated sodium carbonate solution. Solvent removal under reduced pressure provided aminoester **284** (19 mg, 95% yield) as a yellow powder.

¹H NMR (500 MHz, CD₃CN): δ (ppm) 8.57 (s, 1H, H-17'), 7.43 (d, J=8.1 Hz, 1H, H-12'), 7.37-7.33 (m, 2H, H-32' and H-34'), 7.33-7.31 (m, 1H, H-33'), 7.26-7.23 (m, 2H, H-31' and H-35'), 7.18 (d, J=8.1 Hz, 1H, H-15'), 7.03 (t, J=8.1 Hz, 1H, H-14'), 7.01 (t, J=7.7 Hz, 1H, H-28'), 6.94 (t, J=8.1 Hz, 1H, H-13'), 6.77 (s, 1H, H-14), 6.28 (s, 1H, H-17), 5.79 (td, J=10.3 and 5.1 Hz, 1H, H-7), 5.30 (d, J=10.3 Hz, 1H, H-6), 5.21 (s, 1H, H-4), 5.10 (d, J=4.5 Hz, 1H, H-3'), 4.38 (d, J=6.3 Hz, 1H, H-29'), 4.08-4.04 (m, 1H, H-9'β), 3.79 (s, 3H, H-22), 3.69 (s, 6H, H-26' and H-25), 3.55 (s, 1H, H-2), 3.54 (s, 3H, H-24'), 3.35 (d, J=15.1 Hz, 1H, H-1'β), 3.34-3.29 (m, 1H, H-8β), 3.31 (d, 1H, J=17.5 Hz, H-9'α), 3.32-3.27 (m, 1H, H-8'), 3.22-3.19 (m, 1H, H-10β), 3.15 (d, J=12.0 Hz, 1H, H-20'β), 3.29-3.24 (m, 1H, H-7'), 3.00 (d, J=15.2 Hz, 1H, H-5'β), 2.78 (s, 1H, H-19), 2.71 (d, J=15.2 Hz, 1H, H-5'α), 2.69 (dd, J= 13.2 and 5.1 Hz, 1H, H-8α), 2.68 (s, 3H, H-23), 2.46 (td, J=10.6 and 7.0 Hz, 1H, H-10α), 2.23 (d, J=15.1 Hz, 1H, H-1'α), 2.13 (s, 3H, H-27), 2.04-1.99 (m, 1H, H-11β), 1.87-1.83 (m, 1H, H-11α), 1.81 (q, J=7.8 Hz, 2H, H-21'), 1.78 (d, J=12.0 Hz, 1H, H-20'α), 1.59 (dd, J=14.2 and 7.6 Hz, 1H, H-20β), 1.35-1.30 (m, 1H, H-20α), 1.21 (t, J=7.6 Hz, 1H, H-2'), 0.87 (t, J=7.8 Hz, 3H, H-22'), 0.64 (t, J=7.6 Hz, 3H, H-21)

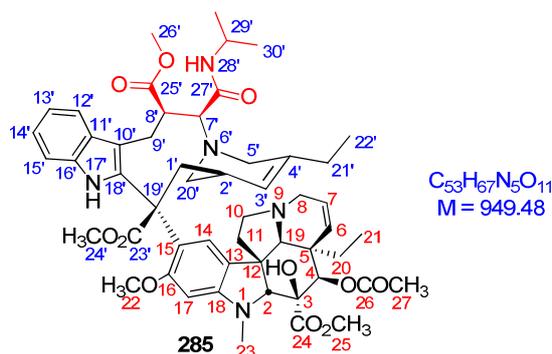
¹³C NMR (125 MHz, CD₃CN): δ (ppm) 176.3 (C-25'), 176.2 (C-23'), 173.2 (C-24), 171.9 (C-26), 171.5 (C-27'), 159.6 (C-16), 154.4 (C-18), 141.0 (C-30'), 140.4 (C-4'), 136.8 (C-16'), 132.5 (C-18'), 131.8 (C-6), 130.8 (C-11'), 129.8 (C-33'), 129.3 (C-32' and C-34'), 128.4 (C-31' and C-35'), 126.4 (C-14), 125.8 (C-7), 125.1 (C-13), 124.4 (C-3'), 123.4 (C-14'), 123.2 (C-15), 120.5 (C-12'), 120.2 (C-13'), 118.3 (C-10'), 112.4 (C-15'), 95.0 (C-17), 84.5 (C-2), 81.2 (C-3), 77.9 (C-4), 70.1 (C-7'), 66.0 (C-19), 58.2 (C-19'), 57.2 (C-22), 54.7 (C-12), 53.2 (C-5'), 53.1 (C-24'), 53.0 (C-25), 52.9 (C-26'), 51.6 (C-8), 50.8 (C-10), 50.3 (C-8'), 49.6 (C-20'), 46.0 (C-11), 44.1 (C-5), 43.8 (C-29'), 39.2

(C-23), 35.8 (C-2'), 35.0 (C-1'), 32.2 (C-20), 28.6 (C-21'), 21.7 (C-27), 20.0 (C-9'), 13.1 (C-22'), 9.1 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $C_{57}H_{68}N_5O_{11}$ [M+H]⁺: 998.4915, found: 998.4922

[α]_D = -4 (CHCl₃, c = 1.0)

COMPOUND 285



General procedure D (Method 2) was followed using $NaBH(OAc)_3$ (13 mg, 0.06 mmol, 3 eq.) and enaminoester **256** (20 mg, 0.02 mmol, 1 eq.) in dichloromethane (0.2 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 4 hours at 0 °C. The resulting mixture was diluted with dichloromethane and washed with a saturated sodium carbonate solution. Solvent removal under reduced pressure provided aminoester **285** (16 mg, 81% yield) as a yellow powder.

1H NMR (600 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.54 (s, 1H, H-17'), 7.39 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, H-12'), 7.14 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, H-15'), 6.99 (t, $J=7.9$ Hz, 1H, H-14'), 6.90 (t, $J=7.9$ Hz, 1H, H-13'), 6.73 (s, 1H, H-14), 6.45 (d, $J=6.9$ Hz, 1H, H-28'), 6.25 (s, 1H, H-17), 5.76 (dd, $J=10.4$ and 4.2 Hz, 1H, H-7), 5.27 (d, $J=10.4$ Hz, 1H, H-6), 5.19 (s, 1H, H-4), 5.10 (d, $J=5.0$ Hz, 1H, H-3'), 4.04 (d, $J=15.2$ Hz, 1H, H-9' β), 3.97 (q, $J=6.9$ Hz, 1H, H-29'), 3.77 (s, 3H, H-22), 3.69 (s, 3H, H-26'), 3.66 (s, 3H, H-25), 3.53 (s, 1H, H-2), 3.53 (s, 3H, H-24'), 3.29 (t, $J=14.8$ Hz, 1H, H-1' β), 3.28 (dd, $J=13.9$ and 4.2 Hz, 1H, H-8 β), 3.25 (dd, $J=15.2$ and 6.5 Hz, 1H, H-9' α), 3.20 (m, 1H, H-8'), 3.17 (td, $J=10.1$ and 5.3 Hz, 1H, H-10 β), 3.12 (d, $J=6.5$ Hz, 1H, H-7'), 3.09 (d, $J=12.3$ Hz, 1H, H-20' β), 3.05 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, H-5' β), 2.77 (s, 1H, H-19), 2.67 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, H-5' α), 2.66 (d, $J=13.9$ Hz, 1H, H-8 α), 2.66 (s, 3H, H-23), 2.46 (td, $J=10.1$ and 5.3 Hz, 1H, H-10 α), 2.23 (d, $J=14.8$ Hz, 1H, H-1' α), 2.00 (dq, $J=12.9$ and 5.3 Hz, 1H, H-11 β), 1.94 (s, 3H, H-27), 1.87 (q, $J=7.7$ Hz, 2H, H-21'), 1.81 (td, $J=12.9$ and 5.3 Hz, 1H, H-11 α), 1.74 (dd, $J=12.3$ and 2.6 Hz, 1H, H-20' α), 1.57 (dd, $J=14.2$ and 7.3 Hz, 1H, H-20 β), 1.29 (dd, $J=14.2$ and 7.3 Hz, 1H, H-20 α), 1.20-1.16 (m, 1H, H-2'), 1.12 (d, $J=6.9$ Hz, 3H, H-30'), 1.09 (d, $J=6.9$ Hz, 3H, H-31'), 0.91 (t, $J=7.7$ Hz, 3H, H-22'), 0.61 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, H-21)

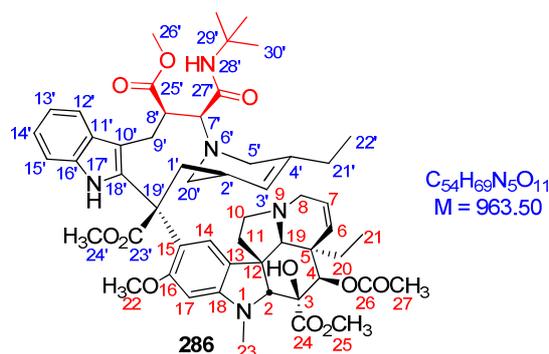
^{13}C NMR (150 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 176.3 (C-23'), 176.2 (C-25'), 173.2 (C-24), 171.9 (C-26), 170.3 (C-27'), 159.6 (C-16), 154.3 (C-18), 140.4 (C-4'), 136.8 (C-16'), 132.4 (C-18'), 131.8 (C-6), 130.8 (C-11'), 126.3 (C-14), 125.8 (C-7), 125.0 (C-13), 124.6 (C-3'), 123.4 (C-14'), 123.2 (C-15), 120.5 (C-12'), 120.1 (C-13'), 118.5 (C-10'), 112.3 (C-15'), 95.0 (C-17), 84.5 (C-2), 81.1 (C-3), 77.8 (C-4), 69.7 (C-7'), 66.0 (C-19), 58.1 (C-19'), 57.2 (C-22), 54.7 (C-12), 54.4 (C-5'), 53.1 (C-24'), 53.1 (C-25), 52.9 (C-26'), 51.6 (C-8), 50.8 (C-10), 50.3 (C-8'), 49.5 (C-20'), 46.0 (C-11), 44.1 (C-5), 42.1

(C-29'), 39.1 (C-23), 35.7 (C-2'), 35.1 (C-1'), 32.2 (C-20), 28.7 (C-21'), 23.3 (C-30'), 23.0 (C-31'), 21.7 (C-27), 19.8 (C-9'), 13.3 (C-22'), 9.0 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $C_{53}H_{68}N_5O_{11}$ [M+H]⁺: 950.4915, found: 950.4939

[α]_D = +12 (CHCl₃, c = 1.0)

COMPOUND 286



General procedure D (Method 2) was followed using $NaBH(OAc)_3$ (13 mg, 0.06 mmol, 3 eq.) and enaminoester **257** (20 mg, 0.02 mmol, 1 eq.) in dichloromethane (0.2 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 4 hours at 0 °C. The resulting mixture was diluted with dichloromethane and washed with a saturated sodium carbonate solution. Solvent removal under reduced pressure provided aminoester **286** (19 mg, 90% yield) as a white powder.

1H NMR (600 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.55 (s, 1H, H-17'), 7.44 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, H-12'), 7.17 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, H-15'), 7.03 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, H-14'), 6.94 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, H-13'), 6.78 (s, 1H, H-14), 6.34 (s, 1H, H-28'), 6.28 (s, 1H, H-17), 5.80 (td, $J=9.9$ and 5.2 Hz, 1H, H-7), 5.30 (d, $J=9.9$ Hz, 1H, H-6), 5.22 (s, 1H, H-4), 5.25-5.14 (d, $J=5.2$ Hz, 1H, H-3'), 3.81 (t, $J=14.3$ Hz, 1H, H-9 β), 3.80 (s, 3H, H-22), 3.74 (s, 3H, H-26'), 3.70 (s, 3H, H-25), 3.61 (s, 1H, H-2), 3.56 (s, 3H, H-24'), 3.39 (d, $J=14.3$ Hz, 1H, H-9 α), 3.35 (d, $J=13.2$ Hz, 1H, H-8 β), 3.22 (t, $J=13.4$ Hz, 1H, H-1 β), 3.22-3.21 (m, 1H, H-8'), 3.21-3.18 (m, 1H, H-10 β), 3.14 (d, $J=11.6$ Hz, 1H, H-20 β), 3.12 (d, $J=6.5$ Hz, 1H, H-7'), 3.10 (d, $J=14.5$ Hz, 1H, H-5' β), 2.79 (s, 1H, H-19), 2.73 (d, $J=14.5$ Hz, 1H, H-5' α), 2.69 (s, 3H, H-23), 2.68 (dd, $J=13.2$ and 5.2 Hz, 1H, H-8 α), 2.46 (td, $J=10.4$ and 5.2 Hz, 1H, H-10 α), 2.26 (d, $J=13.4$ Hz, 1H, H-1' α), 2.06-1.99 (m, 1H, H-11 β), 1.97 (s, 3H, H-27), 1.95-1.93 (m, 2H, H-21'), 1.88-1.84 (m, 1H, H-11 α), 1.81 (dd, $J=11.6$ and 4.1 Hz, 1H, H-20' α), 1.60 (dd, $J=13.6$ and 7.0 Hz, 1H, H-20 β), 1.36-1.33 (m, 1H, H-20 α), 1.32 (s, 9H, H-30'), 1.24-1.22 (m, 1H, H-2'), 0.96 (t, $J=7.7$ Hz, 3H, H-22'), 0.64 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, H-21)

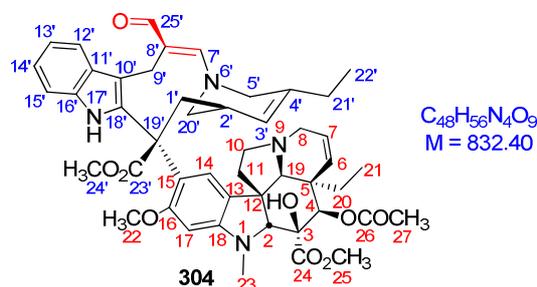
^{13}C NMR (150 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 176.2 (C-25'), 176.0 (C-23'), 173.2 (C-24), 171.9 (C-26), 170.6 (C-27'), 159.6 (C-16), 154.4 (C-18), 140.6 (C-4'), 136.8 (C-16'), 132.5 (C-18'), 131.8 (C-6), 130.8 (C-11'), 126.4 (C-14), 125.8 (C-7), 125.1 (C-13), 124.8 (C-3'), 123.4 (C-14'), 123.1 (C-15), 120.5 (C-12'), 120.2 (C-13'), 118.4 (C-10'), 112.3 (C-15'), 95.0 (C-17), 84.5 (C-2), 81.2 (C-3), 77.9 (C-4), 69.9 (C-7'), 66.1 (C-19), 58.1 (C-19'), 57.2 (C-22), 54.7 (C-12), 54.5 (C-5'), 53.1 (C-24'), 53.1 (C-25), 52.9 (C-26'), 52.0 (C-29'), 51.6 (C-8), 50.8 (C-10), 50.1 (C-8'), 49.6 (C-20'), 46.0 (C-11), 44.1 (C-5), 39.2 (C-23), 35.8 (C-2'), 35.3 (C-1'), 32.2 (C-20), 29.3 (C-30'), 28.7 (C-21'), 21.7 (C-27), 19.9 (C-9'), 13.5 (C-22'), 9.1 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $C_{54}H_{69}N_5O_{11}$ $[M+H]^+$: 964.5072, found: 964.5109

$[\alpha]_D$ = +1 (CHCl₃, c = 1.0)

C. HYBRIDS IN C-8'

COMPOUND 304



The general procedure C (Method 1) was followed, using 3-(trimethylsilyl)propionaldehyde (10 μ L, 0.07 mmol, 1.1 eq.), dimethylamine 2 M (56 μ L) and vinorelbine (50 mg, 0.065 mmol, 1 eq) in 0.5 mL of anhydrous acetonitrile. After 2 h of stirring at room temperature, the solvent was evaporated under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on silica gel using ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1) to afford compound **304** (20 mg, 36% yield) as white solid.

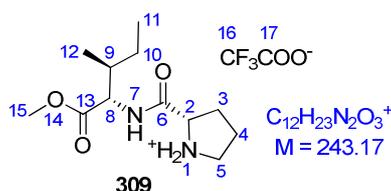
1H NMR (500 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8,99 (s, 1H, H-25'), 8,22(s, 1H, H-17'), 7,89 (s, 1H, OH), 7,54 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, H-12'), 7,16 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, H-15'), 7,03 (s, 1H, H-14), 7,00(s, 1H, H-7'), 6,97 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, H-14'), 6,89 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, H-13'), 6,31 (s, 1H, H-17), 5,79 (dd, $J=10.4$ and 3.9 Hz, 1H, H-7), 5,44 (d, $J=2.6$ Hz, 1H, H-3'), 5,29 (s, 1H, H-4), 5,23 (d, $J=10.4$ Hz, 1H, H-6), 4,2 (d, $J=15.8$ Hz, 1H, H-9' β), 3,72 (d, $J=15.8$ Hz, 1H, H-5' α), 3,68 (s, 3H, H-25), 3,64 (s, 1H, H-2), 3,64 (s, 3H, H-22), 3,59 (d, $J=15.8$ Hz, 1H, H-9' α), 3,51 (s, 3H, H-24'), 3,48 (m, 1H, H-20' β), 3,47(d, $J=15.8$ Hz, 1H, H-5' β), 3,36 (dd, $J=15.8$ and 4.9 Hz, 1H, H-8' β), 3,30 (m, 1H, H-10' β), 3,09 (dd, $J=14.8$ and 11,9 Hz, 1H, H-1' α), 2,72 (s, 1H, H-19), 2,70 (m, 1H, H-8' α), 2,69 (s, 3H, H-23), 2,56 (dd, $J=14.5$ and 4.3 Hz, 1H, H-20' α), 2,48 (m, 1H, H-10' α), 2,22-2,15 (m, 2H, H-11' α and H-11' β), 2,18 (m, 1H, H-1' β), 2,08 (m, 1H, H-2'), 2,01 (s, 3H, H-27), 1,93 (m, 2H, H-21'), 1,73 (dd, $J=14.0$ and 7.3 Hz, 1H, H-20' α), 1,28 (dd, $J=14.0$ and 7.3 Hz, 1H, H-20' β), 0,95 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, H-22'), 0,54 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, H-21)

^{13}C NMR (125 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 192.0 (C-25'), 174.7 (C-23'), 173.1 (C-24), 171.5 (C-26), 162.0 (C-7'), 159.8 (C-16), 154.5 (C-18), 139.8 (C-4'), 136.0 (C-16'), 132.7 (C-18'), 131.2 (C-6), 129.9 (C-11'), 125.5 (C-7), 125.4 (C-13), 124.7 (C-14), 124.4 (C-3'), 122.6 (C-14'), 120.5 (C-12'), 120.5 (C-15), 120.0 (C-13'), 115.3 (C-10'), 114.0 (C-8'), 111.9 (C-15'), 95.5 (C-17), 84.5 (C-2), 80.6 (C-3), 77.5 (C-4), 67.5 (C-19), 56.6 (C-22), 55.5 (C-19'), 55.1 (C-5'), 54.2 (C-12), 52.9 (C-24'), 52.7 (C-25), 51.8 (C-10), 51.6 (C-8), 50.7 (C-20'), 45.3 (C-11), 43.8 (C-5), 38.9 (C-23), 35.9 (C-1'), 34.7 (C-2'), 32.0 (C-20), 28.1 (C-21'), 21.3 (C-27), 20.7 (C-9'), 12.6 (C-22'), 8.7 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $C_{48}H_{55}N_4O_9$ [M-H] $^-$: 831.3969, found: 831.3990

$[\alpha]_D$ = -60 (CHCl₃, c = 1.0)

COMPOUND 309



The general procedure E was followed using NMM (0.51 mL, 4.65 mmol, 1 eq.), NH₂IleOMe (0.84 g, 4.65 mmol, 1 eq.), BocProOH (1.0 g, 4.65 mmol, 1 eq.), EDCI (1.07 g, 5.58 mmol, 1.2 eq.) and HOBT (0.75 g, 5.58 mmol, 1.2 eq.). After 2 h of stirring at room temperature in dichloromethane (70 mL), the reaction mixture was quenched with a saturated solution of sodium hydrogen carbonate. The residue was purified by flash chromatography on silica gel using dichloromethane/methanol (99.5:0.5 to 95:5) to afford the desired dipeptide as a colourless oil.

According to the general procedure, this was later deprotected with a mixture of TFA/dichloromethane (15.4 mL/7.70 mL) to afford quantitatively the trifluoroacetate salt of the deprotected peptide **309** (1.03 g, 90% yield).

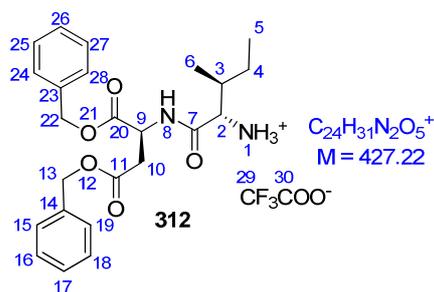
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 8.11 (d, J = 9.0 Hz, 1H, H-7), 4.48-4.44 (m, 1H, H-8), 3.87-3.84 (m, 1H, H-2), 3.72 (br s, 2H, H-1), 3.65 (s, 3H, H-15), 3.06-3.03 (m, 1H, H-5α), 2.95-2.93 (m, 1H, H-5β), 2.17-2.14 (m, 1H, H-3α), 1.89-1.86 (m, 2H, H-3β and H-9), 1.72-1.69 (m, 2H, H-4), 1.38-1.35 (m, 1H, H-10α), 1.14-1.11 (m, 1H, H-10β), 0.92-0.89 (m, 6H, H-11 and H-12)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 174.1 (C-13), 172.3 (C-6), 160.7 (C-17), 116.8 (C-16), 60.3 (C-2), 56.1 (C-8), 51.8 (C-15), 47.1 (C-5), 37.6 (C-9), 30.8 (C-3), 25.8 (C-4), 25.0 (C-10), 15.5 (C-12), 11.4 (C-11)

HRMS (ESI): calculated for C₁₂H₂₃N₂O₃ [M+H]⁺: 243.1709, found: 243.1720

[α]_D = - 35 (CH₂Cl₂, c = 1.2)

COMPOUND 312



The general procedure E was followed using NMM (2.25 mL, 20.5 mmol, 1 eq.), $NH_2Asp(OBn)_2$ (9.97 g, 20.5 mmol, 1 eq.), BocIleOH (4.75 g, 20.50 mmol, 1 eq.), EDCI (4.72 g, 24.6 mmol, 1.2 eq.) and HOBt (3.32 g, 24.6 mmol, 1.2 eq.). After 2 h of stirring at room temperature in dichloromethane (70 mL), the reaction mixture was quenched with a saturated solution of sodium hydrogen carbonate. The residue was purified by flash chromatography on silica gel using dichloromethane/methanol (99.5:0.5 to 95:5) to afford the desired dipeptide as a colourless oil.

According to the general procedure, this was later deprotected with a mixture of TFA/dichloromethane (50 mL/37 mL) to afford quantitatively the trifluoroacetate salt of the deprotected peptide **312** (9.95 g, 90% yield).

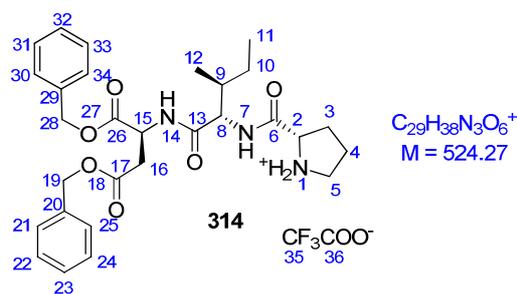
1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 9.75 (br s, 3H, H-1), 7.48 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-8), 7.32-7.17 (m, 10H, H-15–H-19 and H-24–H-28), 5.11 (dd, $J = 26.1$ and 12.1 Hz, 2H, H-13), 5.03 (dd, $J = 26.5$ and 12.1 Hz, 2H, H-22), 4.01 (t, $J = 5.0$ Hz, 1H, H-2), 4.98-4.94 (m, 1H, H-9), 3.07 (dd, $J = 18.0$ and 4.8 Hz, 1H, H-10 α), 2.85 (dd, $J = 18.0$ and 4.4 Hz, 1H, H-10 β), 1.95-1.91 (m, 1H, H-3), 1.55-1.51 (m, 1H, H-4 α), 1.29-1.26 (m, 1H, H-4 β), 0.94 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-6), 0.86 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, H-5)

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 171.0, 169.7, 167.7 (C-7, C-11, C-20), 161.3 (C-30), 135.1-128.2 (C-14–C-19 and C-23–C-28), 117.0 (C-29), 67.9, 67.1 (C-13 and C-22), 58.0 (C-2), 48.9 (C-9), 36.8 (C-3), 35.6 (C-10), 24.9 (C-4), 13.8 (C-6), 11.3 (C-5)

HRMS (ESI): calculated for $C_{24}H_{31}N_2O_5$ $[M+H]^+$: 427.2233, found: 427.2238

$[\alpha]_D$ = - 14 (CH_2Cl_2 , $c = 1.0$)

COMPOUND 314



The general procedure E was followed using NMM (735 μ L, 6.66 mmol, 1 eq.), dipeptide **305** (3.60 g, 6.66 mmol, 1 eq.), BocProOH (1.41 g, 6.66 mmol, 1 eq.), EDCI (1.53 g, 7.99 mmol, 1.2 eq.) and HOBT (1.08 g, 7.99 mmol, 1.2 eq.). After 2 h of stirring at room temperature in dichloromethane (70 mL), the reaction mixture was quenched with a saturated solution of sodium hydrogen carbonate. The residue was purified by flash chromatography on silica gel using dichloromethane/methanol (99.5:0.5 to 95:5) to afford the desired dipeptide as a colourless oil.

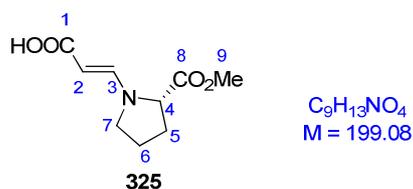
According to the general procedure, this was later deprotected with 37 mL of 1/3 mixture of TFA/dichloromethane to afford quantitatively the trifluoroacetate salt of the deprotected peptide **314** (2.56 g, 100% yield).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 10.02 (br s, 2H, H-1), 7.87 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, H-7), 7.53 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-14), 7.38-7.22 (m, 10H, H-21–H-25 and H-30–H-34), 5.02 (dd, $J = 23.5$ and 12.3 Hz, 2H, H-28), 4.95 (dd, $J = 20.0$ and 12.3 Hz, 2H, H-19), 4.85-4.82 (m, 1H, H-15), 4.66 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H, H-2), 4.23 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, H-8), 3.30 (s, 2H, H-5), 2.96 (dd, $J = 17.2$ and 5.3 Hz, 1H, H-16 α), 2.80 (dd, $J = 17.2$ and 4.7 Hz, 1H, H-16 β), 2.35-2.32 (m, 1H, H-3 α), 1.93-1.90 (m, 3H, H-3 β and H-4), 1.72-1.68 (m, 1H, H-9), 1.39-1.36 (m, 1H, H-10 α), 1.02-0.97 (m, 1H, H-10 β), 0.75 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, H-12), 0.71 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, H-11)

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 171.1, 170.7, 170.1, 169.5 (C-6, C-13, C-17, C-26), 161.2 (C-36), 135.1- 128.2 (C-20–C-25 and C-29–C-34) 117.1 (C-35), 67.6, 67.0 (C-19, C-28), 59.7 (C-2), 59.4 (C-8), 48.9 (C-15), 46.8 (C-5), 36.8 (C-9), 36.1 (C-16), 30.2 (C-3), 25.1 (C-4), 24.3 (C-10), 14.9 (C-12), 11.1 (C-11)

HRMS (ESI): calculated for $C_{29}H_{38}N_3O_6$ [M+H] $^+$: 524.2761, found : 524.2778

$[\alpha]_D$ = - 16 (CH_2Cl_2 , $c = 1.0$)

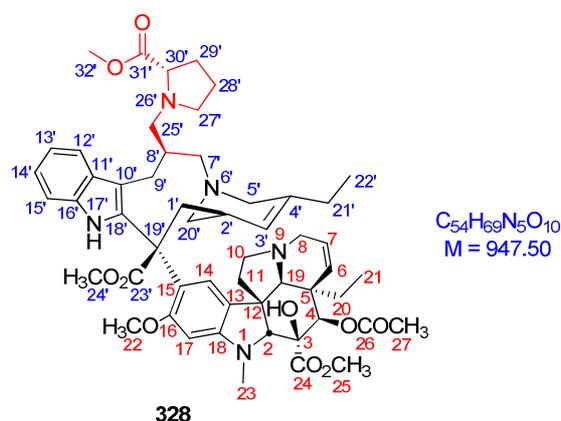
COMPOUND 325

The general procedure E was followed using NMM (72 μ L, 0.71 mmol, 1 eq.), propionic acid (50 mg, 0.71 mmol, 1 eq.), L-proline methyl ester (118 mg, 0.71 mmol, 1 eq.), EDCI (164 mg, 0.86 mmol, 1.2 eq.) and HOBT (116 mg, 0.86 mmol, 1.2 eq.). After 2 h of stirring at room temperature in dichloromethane (2.5 mL), the reaction mixture was quenched with a saturated solution of sodium hydrogen carbonate. The residue was purified by flash chromatography on silica gel using dichloromethane/methanol (99.5:0.5 to 95:5) to afford **325** (64.9 mg, 46% yield) as a colourless oil.

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 7.54 (d, $J=12.0$ Hz, 1H, H-3), 4.68 (d, $J=12.0$ Hz, 1H, H-2), 4.10-4.01 (m, 1H, H-4), 3.65 (s, 3H, H-9), 3.39-3.30 (m, 1H, H-7), 3.20 (q, $J=8.4$ Hz, 1H, H-7), 2.20-1.96 (m, 2H, H-5), 2.01-1.89 (m, 2H, H-6)

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 172.8 (C-8), 167.2 (C-1), 147.0 (C-3), 88.1 (C-2), 62.6 (C-4), 52.3 (C-9), 48.8 (C-7), 30.04 (C-5), 23.8 (C-6)

COMPOUND 328



3-(trimethylsilyl)propionaldehyde (20 μ L, 0.14 mmol, 1.1 eq.) was added to a solution of vinorelbine (100 mg, 0.13 mmol, 1 eq) in 1 mL of anhydrous acetonitrile. After 2 h of stirring at room temperature, proline methyl ester hydrochloride (38 mg, 0.23 mmol, 1.75 eq.) and $NaBH(OAc)_3$ (70 mg, 0.33 mmol, 2.6 eq.) was added at room temperature. The reaction mixture was stirred for 3 hours at room temperature. The resulting mixture was diluted with dichloromethane and washed with a saturated sodium carbonate solution. The organic layers were combined, washed with brine, dried over magnesium sulfate and filtrated. The solvents were removed under reduced pressure to provide the crude compound. Purification was carried out by column chromatography on silica gel using ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1) affording compound **328** (12 mg, 10% yield)

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 7.93 (s, 1H, H-17'), 7.70 (d, $J=7.3$ Hz, 1H, H-12'), 7.11-7.05 (m, 2H, H-14' and H-15'), 7.04 (t, $J=7.3$ Hz, 1H, H-13'), 6.84 (s, 1H, H-14), 6.11 (s, 1H, H-17), 5.83 (dd, $J=10.4$ and 4.4 Hz, 1H, H-7), 5.50 (s, 1H, H-4), 5.28 (d, $J=10.4$ Hz, 1H, H-6), 5.16 (d, $J=4.2$ Hz, 1H, H-3'), 3.78 (s, 3H, H-22), 3.77 (s, 3H, H-25), 3.72 (s, 1H, H-2), 3.70 (d, $J=10.2$ Hz, 1H, H-9' β), 3.67 (s, 3H, H-32'), 3.55-3.49 (m, 1H, H-1' β), 3.51 (s, 3H, H-24'), 3.43-3.36 (m, 2H, H-8 β and H-30'), 3.32-3.26 (m, 2H, H-5' β and H-10 α), 3.16-3.13 (m, 1H, H-27' α), 3.04-2.98 (m, 1H, H-20' β), 2.96 (d, $J=13.6$ Hz, 1H, H-5' α), 2.84-2.80 (m, 2H, H-8 α and H-25' β), 2.74-2.71 (m, 1H, H-9' α), 2.70 (s, 1H, H-19), 2.68 (s, 3H, H-23), 2.69-2.64 (m, 1H, H-25' α), 2.63 (d, $J=9.9$ Hz, H-7' β), 2.59 (d, $J=10.0$ Hz, H-27' β), 2.44-2.38 (m, 2H, H-7' α and H-10 β), 2.36-2.32 (m, 1H, H-8'), 2.22-2.17 (m, 2H, H-11), 2.14 (d, $J=14.0$ Hz, 1H, H-1' α), 2.09 (s, 3H, H-27), 2.12-2.07 (m, 1H, H-29' α), 2.02-1.94 (m, 3H, H-20' α , H-28' β and H-29' β), 1.91-1.73 (m, 4H, H-20 β , H-21' and H-28' α), 1.41-1.31 (m, 1H, H-20 α), 1.25-1.22 (m, 1H, H-2'), 0.94 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, H-22'), 0.83 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, H-21)

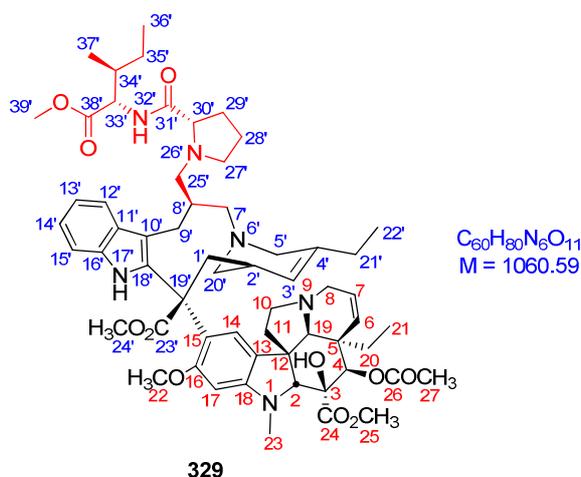
^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 175.4 (C-31'), 174.5 (C-23'), 171.9 (C-24), 171.1 (C-26), 158.5 (C-16), 153.2 (C-18), 140.2 (C-4'), 135.3 (C-16'), 130.6 (C-18'), 130.3 (C-6), 130.3 (C-11'), 125.2 (C-14), 124.7 (C-7), 123.6 (C-3'), 123.5 (C-13), 122.0 (C-14'), 121.4 (C-15), 120.1 (C-12'),

118.8 (C-13'), 117.3 (C-10'), 110.6 (C-15'), 94.7 (C-17), 83.9 (C-2), 79.8 (C-3), 76.7 (C-4), 66.7 (C-30'), 66.4 (C-19), 61.0 (C-25'), 58.2 (C-5'), 56.5 (C-19'), 56.2 (C-22), 55.8 (C-7'), 54.3 (C-27'), 53.6 (C-12), 53.5 (C-20'), 52.5 (C-25), 52.4 (C-24'), 52.3 (C-32'), 51.1 (C-10), 50.7 (C-8), 45.0 (C-11), 43.1 (C-5), 41.1 (C-8'), 38.6 (C-23), 35.6 (C-2'), 34.6 (C-1'), 31.2 (C-20), 29.8 (C-29'), 27.8 (C-21'), 26.4 (C-9'), 24.0 (C-28'), 21.4 (C-27), 12.6 (C-22'), 8.8 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $C_{54}H_{70}N_5O_{10}$ [M+H]⁺: 948.5117, found: 948.5223

$[\alpha]_D$ = +6 (CHCl₃, c = 0.1)

COMPOUND 329



General procedure F was followed using amine **309** (10 mg, 0.04 mmol, 1.75 eq.) and aldehyde **304** (20 mg, 0.02 mmol, 1 eq) in 0.2 mL of dichloromethane, then $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (13 mg, 0.06 mmol, 2.6 eq) was added at room temperature. The reaction mixture was stirred for 3 hours at 0 °C. The resulting mixture was diluted with dichloromethane and washed with a saturated sodium carbonate solution. The organic layers were combined, washed with brine, dried over magnesium sulfate and filtrated. The solvents were removed under reduced pressure to provide the crude compound. Purification was carried out on silica gel using ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1) to afford compound **329** (3.3 mg, 13% yield) as a white solid.

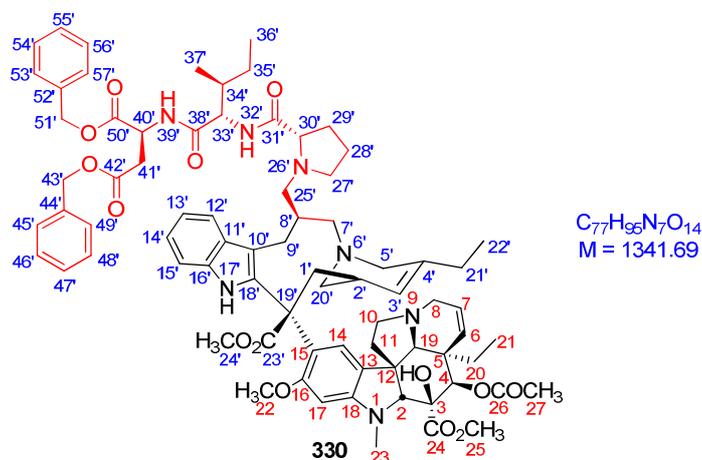
^1H NMR (500 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.30 (s, 1H, H-17'), 7.78 (d, $J=8.6$ Hz, 1H, H-32'), 7.59 (d, $J=6.8$ Hz, 1H, H-12'), 7.18 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H-15'), 7.10 (s, 1H, H-14), 7.04 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, H-14'), 6.97 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, H-13'), 6.29 (s, 1H, H-17), 5.83 (dd, $J=9.9$ and 4.7 Hz, 1H, H-7), 5.32 (d, $J=9.9$ Hz, 1H, H-6), 5.25 (s, 1H, H-4), 5.19 (d, $J=5.6$ Hz, 1H, H-3'), 4.30 (dd, $J=8.6$ and 5.0 Hz, 1H, H-33'), 3.75 (s, 3H, H-39'), 3.69 (s, 3H, H-22), 3.68-3.64 (m, 1H, H-9' β), 3.58 (s, 3H, H-25), 3.56 (s, 1H, H-2), 3.49 (dd, $J=14.2$ and 12.1 Hz, 1H, H-1' β), 3.44 (s, 3H, H-24'), 3.45-3.40 (m, 1H, H-7' α), 3.32 (dd, $J=15.8$ and 5.3 Hz, 1H, H-8 β), 3.20 (td, $J=9.3$ and 4.7 Hz, 1H, H-10 β), 3.10 (dd, $J=10.0$ and 2.9 Hz, 1H, H-30'), 3.04 (d, $J=15.8$ Hz, 1H, H-5' β), 2.98 (d, $J=12.2$ Hz, 1H, H-20' β), 2.94-2.89 (m, 2H, H-5' α and H-25' β), 2.88 (s, 1H, H-19), 2.89-2.85 (m, 1H, H-9' α), 2.76 (d, $J=15.9$ Hz, 1H, H-8 α), 2.67 (s, 3H, H-23), 2.58 (dd, $J=12.5$ and 5.5 Hz, 1H, H-25' α), 2.51-2.45 (m, 4H, H-7' β , H-27', H-10 α), 2.43-2.38 (m, 1H, H-8'), 2.19-2.15 (m, 1H, H-29' α), 2.09 (d, $J=14.2$ Hz, 1H, H-1' α), 2.08-2.02 (m, 1H, H-11 β), 1.98 (s, 3H, H-27), 1.96-1.92 (m, 1H, H-20' α), 1.93-1.88 (m, 3H, H-21' and H-34'), 1.88-1.83 (m, 2H, H-11 α and H-28' α), 1.83-1.78 (m, 2H, H-28' β and H-29' β), 1.68-1.63 (m, 1H, H-20 α), 1.43-1.39 (m, 1H, H-35' α), 1.40-1.35 (m, 1H, H-20 β), 1.21-1.17 (m, 1H, H-2'), 1.13-1.09 (m, 1H, H-35' β), 0.94 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, H-22'), 0.86 (d, $J=6.3$ Hz, 3H, H-37'), 0.81-0.78 (m, 6H, H-36' and H-21)

^{13}C NMR (125 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 175.9 (C-38'), 175.5 (C-31'), 174.8 (C-23'), 173.0 (C-24), 171.8 (C-26), 159.4 (C-16), 154.8 (C-18), 141.4 (C-4'), 136.6 (C-16'), 133.2 (C-18'), 131.5 (C-6), 131.1 (C-11'), 125.7 (C-14), 125.7 (C-7), 124.8 (C-13), 124.4 (C-3'), 122.7 (C-14'), 122.3 (C-15), 120.5 (C-12'), 119.6 (C-13'), 116.6 (C-10'), 112.1 (C-15'), 95.1 (C-17), 84.4 (C-2), 80.8 (C-3), 77.5 (C-4), 69.5 (C-30'), 66.0 (C-19), 64.2 (C-25'), 58.8 (C-5'), 57.5 (C-27'), 57.4 (C-19'), 57.0 (C-33'), 56.4 (C-22), 55.8 (C-7'), 55.3 (C-20'), 54.5 (C-12), 52.9 (C-25), 52.8 (C-24'), 52.7 (C-39'), 51.3 (C-8), 50.7 (C-10), 45.9 (C-11), 44.0 (C-5), 42.5 (C-8'), 39.1 (C-23), 38.2 (C-34'), 36.9 (C-2'), 35.7 (C-1'), 32.0 (C-20), 31.5 (C-29'), 28.3 (C-21'), 27.0 (C-9'), 26.0 (C-35'), 25.5 (C-28'), 21.5 (C-27), 16.4 (C-37'), 12.9 (C-22'), 12.1 (C-36'), 9.0 (C-21)

HRMS (ESI) for $\text{C}_{60}\text{H}_{81}\text{N}_6\text{O}_{11}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 1061.5958, found: 1061.6012

$[\alpha]_{\text{D}}$ = +4 (CHCl_3 , $c = 0.1$)

COMPOUND 330



General procedure F was followed using amine **314** (61 mg, 0.12 mmol, 1.75 eq.) and aldehyde **304** (55 mg, 0.07 mmol, 1 eq) in 0.2 mL of dichloromethane, then $NaBH(OAc)_3$ (36 mg, 0.17 mmol, 2.6 eq) was added at room temperature. The reaction mixture was stirred for 3 hours at 0 °C. The resulting mixture was diluted with dichloromethane and washed with a saturated sodium carbonate solution. The organic layers were combined, washed with brine, dried over magnesium sulfate and filtrated. The solvents were removed under reduced pressure to provide the crude compound. Purification was carried out on silica gel using ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1) to afford compound **330** (23 mg, 26% yield) as a white solid.

1H NMR (600 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.30 (s, 1H, H-17'), 7.78 (d, $J=8.6$ Hz, 1H, H-32'), 7.59 (d, $J=6.8$ Hz, 1H, H-12'), 7.30-7.23 (m, 10H, H-45'-H-49' and H-53'-H-57'), 7.13 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, H-15' and H-39'), 7.02 (s, 1H, H-14), 6.97 (t, $J=8.6$ Hz, 1H, H-14'), 6.91 (t, $J=8.6$ Hz, 1H, H-13'), 6.25 (s, 1H, H-17), 5.76 (dd, $J=10.3$ and 4.6 Hz, 1H, H-7), 5.26 (d, $J=10.3$ Hz, 1H, H-6), 5.23 (s, 1H, H-4), 5.09 (d, $J=4.7$ Hz, 1H, H-3'), 5.00 (s, 2H, H-43'), 4.94 (d, $J=4.3$ Hz, 2H, H-51'), 4.81 (q, $J=6.7$ Hz, 1H, H-40'), 4.12 (dd, $J=8.3$ and 6.1 Hz, 1H, H-33'), 3.69 (s, 3H, H-22), 3.66 (s, 3H, H-25), 3.64 (d, $J=13.3$ Hz, 1H, H-9' β), 3.52 (s, 1H, H-2), 3.43 (d, $J=10.3$ Hz, 1H, H-1' β), 3.41 (s, 3H, H-24'), 3.30 (t, $J=6.8$ Hz, 1H, H-7' α), 3.23 (dd, $J=16.4$ and 4.9 Hz, 1H, H-8 β), 3.13 (td, $J=9.3$ and 4.4 Hz, 1H, H-10 β), 3.08 (dd, $J=9.5$ and 3.2 Hz, 1H, H-30'), 2.98 (d, $J=15.1$ Hz, 1H, H-5' α), 2.91 (d, $J=11.6$ Hz, 1H, H-20' β), 2.89-2.84 (m, 1H, H-5' β), 2.83 (d, $J=12.0$ Hz, 1H, H-25' β), 2.80 (dd, $J=17.7$ and 5.5 Hz, 1H, H-41' β), 2.78 (s, 1H, H-19), 2.76-2.74 (m, 1H, H-9' α), 2.72 (dd, $J=17.7$ and 5.5 Hz, 1H, H-41' α), 2.66-2.64 (m, 1H, H-8 α), 2.63 (s, 3H, H-23), 2.56 (dd, $J=12.0$ and 6.7 Hz, 1H, H-25' α), 2.50-2.44 (m, 2H, H-7' β and H-27' β), 2.42-2.36 (m, 2H, H-10 α and H-27' α), 2.31-2.26 (m, 1H, H-8'), 2.13-2.09 (m, 1H, H-29' β), 2.07 (d, $J=10.3$ Hz, 1H, H-1' α), 2.05-2.00 (m, 1H, H-11 β), 1.94 (s, 3H, H-27), 1.87-1.77 (m, 8H, H-11 α , H-20' β , H-21', H-28' α , H-29' α , H-34'), 1.74-1.68 (m, 1H, H-28' β), 1.66-1.58 (m, 1H, H-20 α), 1.42-1.35 (m, 1H, H-35' α), 1.34-1.28 (m, 1H, H-20 β), 1.20-1.15 (m, 1H, H-

2'), 1.05-0.98 (m, 1H, H-35' β), 0.86 (t, J=7.6 Hz, 3H, H-22'), 0.80 (d, J=6.5 Hz, 3H, H-37'), 0.73 (t, J=7.5 Hz, 3H, H-21), 0.72 (t, J=7.5 Hz, 3H, H-36')

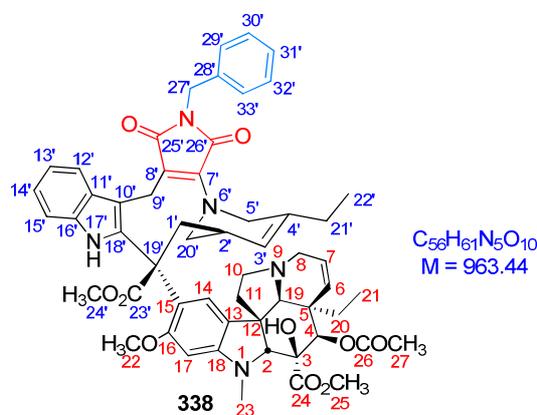
^{13}C NMR (150 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 176.0 (C-38'), 175.7 (C-31'), 173.2 (C-23'), 172.0 (C-24), 171.9 (C-50'), 171.7 (C-42'), 171.5 (C-26), 159.6 (C-16), 154.3 (C-18), 141.4 (C-4'), 137.3 (C-52'), 137.1 (C-44'), 136.6 (C-16'), 133.2 (C-18'), 131.6 (C-6), 131.3 (C-11'), 129.8 (C-46', C-48', C-54' and C-56'), 129.5 (C-45', C-49', C-53' and C-55'), 129.4 (C-47' and C-55'), 125.8 (C-14), 125.7 (C-7), 125.0 (C-13), 124.6 (C-3'), 122.9 (C-14'), 122.3 (C-15' and C-15), 120.7 (C-12'), 119.8 (C-13'), 117.0 (C-10'), 95.4 (C-17), 84.6 (C-2), 80.9 (C-3), 77.7 (C-4), 69.7 (C-30'), 68.2 (C-43'), 67.7 (C-51'), 66.4 (C-19), 64.2 (C-25'), 58.8 (C-5'), 58.4 (C-33'), 57.5 (C-22), 57.3 (C-19'), 57.1 (C-27'), 56.3 (C-7'), 54.8 (C-20'), 54.5 (C-12), 52.9 (C-25), 52.9 (C-24'), 51.5 (C-8), 51.1 (C-10), 49.9 (C-40'), 45.9 (C-11), 44.0 (C-5), 42.3 (C-8'), 39.2 (C-23), 38.7 (C-34'), 37.3 (C-41'), 36.8 (C-2'), 35.9 (C-1'), 32.2 (C-20), 31.6 (C-29'), 28.4 (C-21'), 27.3 (C-9'), 25.9 (C-35'), 25.6 (C-28'), 21.6 (C-27), 16.3 (C-37'), 13.1 (C-22'), 12.1 (C-36'), 9.2 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $\text{C}_{77}\text{H}_{96}\text{N}_7\text{O}_{14}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 1342.7010, found: 1342.7078

$[\alpha]_{\text{D}}$ = +12 (CHCl_3 , $c = 1.0$)

D. HYBRIDS IN C-7'

COMPOUND 338



Pd/C (2.2 mg) was added to compound **255** (40 mg, 0.04 mmol, 1 eq.) in 2.2 mL of methanol. The mixture was stirred overnight at room temperature, under a hydrogen atmosphere. The crude mixture was filtered on a pad of celite and purified by column chromatography on silica gel using ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1) to afford compound **338** (7 mg, 17% yield) as a yellow solid.

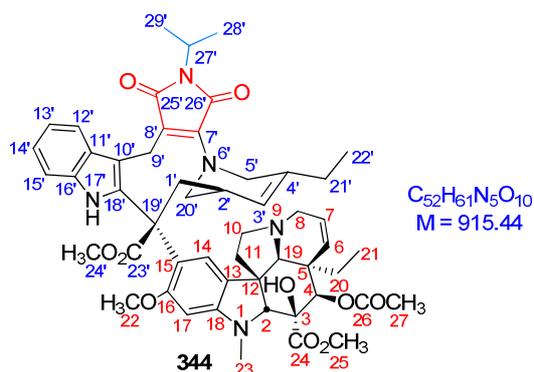
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.99 (d, J=7.2 Hz, 1H, H-12'), 7.79 (s, 1H, H-17'), 7.37 (d, J=7.5 Hz, 2H, H-29' and H-33'), 7.29 (t, J=7.5 Hz, 2H, H-30' and H-32'), 7.25-7.21 (m, 1H, H-31'), 7.11 (t, J=7.2 Hz, 1H, H-14'), 7.09 (t, J=7.2 Hz, 1H, H-13'), 7.08-7.06 (m, 1H, H-15'), 6.78 (s, 1H, H-14), 6.13 (s, 1H, H-17), 5.85 (dd, J=10.3 and 4.0 Hz, 1H, H-7), 5.49 (s, 1H, H-4), 5.28 (d, J=10.3 Hz, 1H, H-6), 5.21-5.19 (m, 1H, H-3'), 4.67 (dd, J=24.0 and 15.2 Hz, 2H, H-27'), 4.16 (d, J=15.2 Hz, 1H, H-9'β), 3.99 (d, J=15.2 and 6.4 Hz, H-9'α), 3.97 (d, J=15.9 Hz, 1H, H-5'α), 3.91-3.83 (m, 2H, H-5'β and 20'β), 3.79 (s, 3H, H-25), 3.78 (s, 1H, H-2), 3.75 (s, 3H, H-22), 3.57 (s, 3H, H-24'), 3.46 (d, J=12.8 Hz, 1H, H-1'β), 3.43-3.37 (m, 1H, H-8β), 3.37-3.30 (m, 1H, H-10α), 2.84 (dd, J=13.7 and 4.4 Hz, 1H, H-20'α), 2.74 (d, J= 13.9 Hz, 1H, H-8α), 2.71 (s, 3H, H-23), 2.61 (s, 1H, H-19), 2.39 (q, J=8.73 Hz, 1H, H-10β), 2.33-2.25 (m, 1H, H-11β), 2.13 (d, J=15.2 Hz, 1H, H-1'α), 2.09 (s, 3H, H-27), 1.92 (q, J=7.3 Hz, 2H, H-21'), 1.82 (dd, J=13.7 and 7.4 Hz, 1H, H-20α), 1.78-1.72 (m, 1H, H-2'), 1.32 (dd, J=13.7 and 7.4 Hz, 1H, H-20β), 0.96 (t, J=7.4 Hz, 3H, H-22'), 0.76 (t, J=7.3 Hz, 3H, H-21)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 173.8 (C-23'), 173.1 (C-25'), 171.9 (C-24), 171.2 (C-26), 168.8 (C-26'), 158.6 (C-16), 153.5 (C-18), 149.0 (C-7'), 139.2 (C-4'), 137.3 (C-28'), 135.1 (C-16'), 131.1 (C-18'), 130.1 (C-6), 129.6 (C-11'), 128.8 (C-30' and C-32'), 128.6 (C-29' and C-33'), 127.7 (C-31'), 124.7 (C-7), 124.7 (C-13), 124.1 (C-14), 122.9 (C-3'), 122.8 (C-14'), 120.2 (C-15 and C-12'), 120.0 (C-13'), 114.7 (C-10'), 110.5 (C-15'), 106.6 (C-8'), 94.5 (C-17), 83.7 (C-2), 79.7 (C-3), 76.5 (C-4), 67.1 (C-19), 56.1 (C-22), 55.5 (C-19'), 53.4 (C-12), 52.7 (C-24'), 52.6 (C-25), 51.5 (C-

10) 51.0 (C-20'), 50.9 (C-5' and C-8), 44.9 (C-11), 43.0 (C-5), 41.6 (C-27'), 38.3 (C-23), 34.2 (C-1'), 33.2 (C-2'), 31.2 (C-20), 27.9 (C-21'), 21.3 (C-27), 18.8 (C-9'), 12.3 (C-22'), 8.7 (C-21)

MS (ESI): calculated for $C_{56}H_{62}N_5O_{11}$ [M+H]⁺: 964.5, found: 964.5

COMPOUND 344



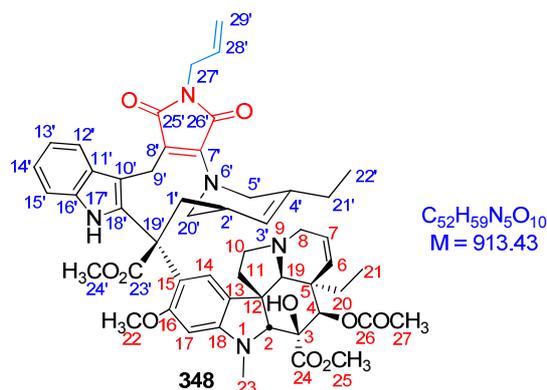
Boric acid (0.3 mg, 0.005 mmol, 0.3 eq.) was added to a solution of compound **256** (15 mg, 0.016 mmol, 1 eq.) in 0.4 mL of a 1 : 1 mixture of acetonitrile and water. The reaction mixture was stirred at 100 °C overnight. Solvent removal under reduced pressure afforded a residue, which was purified on silica gel using ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1) to afford compound **344** (11 mg, 75% yield) as a yellow solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 8.02 (d, J=7.3 Hz, 1H, H-12'), 7.79 (s, 1H, H-17'), 7.13-7.07 (m, 3H, H-13'-H-15'), 6.78 (s, 1H, H-14), 6.14 (s, 1H, H-17), 5.85 (dd, J=11.0 and 5.4 Hz, 1H, H-7), 5.29 (d, J=11.0 Hz, 1H, H-6), 5.50 (s, 1H, H-4), 5.21-5.20 (m, 1H, H-3'), 4.35 (quint, J=6.8 Hz, H-27'), 4.13 (d, J=15.8 Hz, 1H, H-9'β), 3.99 (d, J=15.8 Hz, 1H, H-9'α), 3.97 (d, J=18.3 Hz, 1H, H-5'β), 3.87 (d, J=18.3 Hz, 1H, H-5'α), 3.87 (d, J=15.0 Hz, 1H, H-20'β), 3.79 (s, 3H, H-25), 3.79 (s, 1H, H-2), 3.76 (s, 3H, H-22), 3.58 (s, 3H, H-24'), 3.47 (t, J=14.5 Hz, 1H, H-1'β), 3.42-3.40 (m, 2H, H-8β and H-10β), 2.85 (dd, J=15.0 and 4.8 Hz, 1H, H-20'α), 2.74 (d, J=14.0 Hz, 1H, H-8α), 2.71 (s, 1H, H-23), 2.61 (s, 1H, H-19), 2.40-2.38 (m, 1H, H-10α), 2.32-2.30 (m, 1H, H-11β), 2.14 (d, J=14.5 Hz, 1H, H-1'α), 2.09 (s, 3H, H-27), 1.96-1.94 (m, 1H, H-11α), 1.93 (q, J=7.7 Hz, 2H, H-21'), 1.83 (dd, J=14.2 and 7.3 Hz, 1H, H-20β), 1.72-1.70 (m, 1H, H-2'), 1.39 (dd, J=6.8 and 2.5 Hz, 6H, H-28' and H-29'), 1.33 (dd, J=14.2 and 7.3 Hz, 1H, H-20α), 0.98 (t, J=7.7 Hz, 3H, H-22'), 0.76 (t, J=7.4 Hz, 3H, H-21)

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 173.8 (C-23'), 173.4 (C-25'), 171.9 (C-24), 171.2 (C-26), 169.0 (C-26'), 158.6 (C-16), 153.5 (C-18), 148.7 (C-7'), 139.3 (C-4'), 135.1 (C-16'), 131.8 (C-18'), 130.2 (C-6), 129.7 (C-11'), 124.6 (C-7), 124.3 (C-13), 124.1 (C-14), 122.9 (C-3'), 122.8 (C-14'), 120.3 (C-15 and C-12'), 120.0 (C-13'), 114.7 (C-10'), 110.5 (C-15'), 106.8 (C-8'), 94.6 (C-17), 83.6 (C-2), 79.7 (C-3), 76.8 (C-4), 67.1 (C-19), 56.1 (C-22), 55.5 (C-19'), 53.4 (C-12), 52.7 (C-24'), 52.6 (C-25), 51.5 (C-10 and C-20'), 51.0 (C-5' and C-8), 44.9 (C-11), 43.0 (C-5), 42.8 (C-27'), 38.3 (C-23), 34.2 (C-1'), 33.3 (C-2'), 31.2 (C-20), 27.9 (C-21'), 21.3 (C-27), 20.6 (C-28' and C-29'), 18.7 (C-9'), 12.3 (C-22'), 8.7 (C-21)

MS (ESI): calculated for $\text{C}_{52}\text{H}_{62}\text{N}_5\text{O}_{11}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 916.4, found 916.3

COMPOUND 348



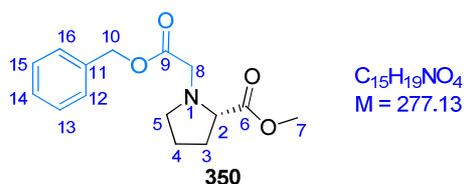
Compound **346** (34 mg, 0.16 mmol, 5 eq.) and Grubbs' second generation catalyst (1.4 mg, 1.6 μ mol, 0.05 eq.) was added to a solution of compound **254** (30 mg, 31.3 μ mol, 1 eq.) in dichloromethane. The reaction mixture was stirred for 24 h at 40 °C, concentrated under reduced pressure and purified by column chromatography on silica gel using ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1) to afford compound **348** (9.4 mg, 33% yield) as a yellow solid.

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 7.99 (d, $J=7.5$ Hz, 1H, H-12'), 7.79 (s, 1H, H-17'), 7.13-7.08 (m, 3H, H-13'–H-15'), 6.79 (s, 1H, H-14), 6.14 (s, 1H, H-17), 5.85 (dd, $J=10.3$ and 4.8 Hz, 1H, H-7), 5.84-5.82 (m, 1H, H-28'), 5.50 (s, 1H, H-4), 5.28 (d, $J=10.3$ Hz, 1H, H-6), 5.27 (s, 1H, H-3'), 5.16 (dd, $J=14.0$ and 1.6 Hz, 2H, H-29'), 4.18-4.10 (m, 3H, H-9' β and H-27'), 4.00 (d, $J=15.5$ Hz, 1H, H-9' α), 3.98 (d, $J=17.5$ Hz, H-5' β), 3.90 (d, $J=17.5$ Hz, 1H, H-5' α), 3.88 (d, $J=10.8$ Hz, 1H, H-20' β), 3.80 (s, 3H, H-25), 3.78 (s, 1H, H-2), 3.76 (s, 3H, H-22), 3.58 (s, 3H, H-24'), 3.46 (t, $J=14.7$ Hz, 1H, H-1' β), 3.41 (dd, $J=10.9$ and 4.8 Hz, 1H, H-8 β), 3.33 (dd, $J=10.2$ and 5.1 Hz, 1H, H-10 β), 2.84 (dd, $J=10.8$ and 4.8 Hz, 1H, H-20' α), 2.74 (d, $J=10.9$ Hz, 1H, H-8 α), 2.72 (s, 3H, H-23), 2.62 (s, 1H, H-19), 2.40-2.36 (m, 1H, H-10 α), 2.30 (dd, $J=10.0$ and 5.4 Hz, 1H, H-11 β), 2.13 (d, $J=14.7$ Hz, 1H, H-1' α), 2.10 (s, 3H, H-27), 2.00-1.95 (m, 1H, H-11 α), 1.93 (q, $J=7.4$ Hz, 2H, H-21'), 1.84-1.82 (m, 1H, H-20 β), 1.24-1.20 (m, 1H, H-20 α), 0.97 (t, $J=8.0$ Hz, 3H, H-22'), 0.75 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, H-21)

^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 173.8 (C-23'), 173.0 (C-25'), 172.0 (C-24), 171.2 (C-26), 168.7 (C-26'), 158.5 (C-16), 153.5 (C-18), 148.9 (C-7'), 139.2 (C-4'), 135.1 (C-16'), 132.7 (C-28'), 131.1 (C-18'), 130.1 (C-6), 129.6 (C-11'), 124.7 (C-13), 124.1 (C-14), 122.9 (C-3'), 122.8 (C-14'), 120.2 (C-12'), 120.1 (C-15), 120.1 (C-13') 120.0 (C-7), 117.3 (C-29'), 114.4 (C-10'), 110.5 (C-15'), 106.7 (C-8'), 94.5 (C-17), 83.7 (C-2), 79.8 (C-3), 78.1 (C-4), 67.1 (C-19), 56.1 (C-22), 56.0 (C-19'), 53.4 (C-12), 52.7 (C-24'), 52.6 (C-25), 51.4 (C-20'), 51.4 (C-10), 51.0 (C-5'), 50.9 (C-8), 44.9 (C-11), 43.0 (C-5), 40.2 (C-27'), 38.3 (C-23), 33.3 (C-1'), 32.7 (C-2'), 31.2 (C-20), 27.9 (C-21'), 21.3 (C-27), 18.8 (C-9'), 12.3 (C-22'), 8.7 (C-21)

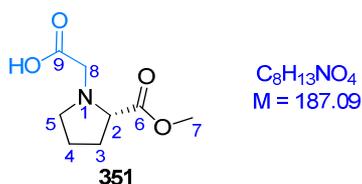
MS (ESI): calculated for $C_{52}H_{60}N_5O_{10}$ $[M+H]^+$: 914.4, found: 914.4

COMPOUND 350



To a solution of chloroacetic benzyl ester (1.8 g, 9.75 mmol, 1 eq.) in dichloromethane (50 mL) was added (S)-pyrrolidine-2-carboxylic acid methyl ester hydrochloride (1.51 g, 11.70 mmol, 1.2 eq.), diisopropylethylamine (4.09 mL, 23.40 mmol, 2.4 eq.) and tetrabutylammonium iodide (3.60 g, 9.75 mmol, 1 eq.) and the resulting mixture was stirred at room temperature overnight. The solvent was removed under reduced pressure and the residue purified by column chromatography on silica gel using heptane/ethyl acetate (1:0 to 1:1) to give compound **350** (2.50 g, 92% yield)

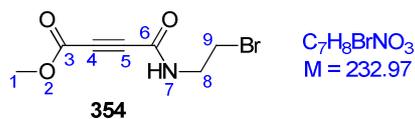
1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 7.38-7.34 (m, 5H, H-12-H-16), 5.15 (s, 2H, H-10), 3.70 (s, 3H, H-7), 3.69-3.57 (m, 3H, H-2 and H-8), 3.20-3.15 (m, 1H, H-5 α), 2.84-2.78 (m, 1H, H-5 β), 2.24-2.13 (m, 1H, H-3 α), 2.05-1.81 (m, 3H, H-3 β and H-4)

COMPOUND 351

Pd/C (300 mg) was added to the solution of compound **350** (2.50 g, 9.01 mmol) in a 1 :1 mixture of methanol and ethyl acetate (60 mL) and the mixture was stirred under an atmosphere of hydrogen for 18 h. The catalyst was filtered through a pad of celite and the filtrate was evaporated under reduced pressure to give the desired compound **351** (1.68 g, quant.) as a white powder.

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 3.68 (s, 3H, H-7), 3.69-3.57 (m, 3H, H-2 and H-8), 3.20-3.15 (m, 1H, H-5 α), 2.84-2.78 (m, 1H, H-5 β), 2.24-2.13 (m, 1H, H-3 α), 2.05-1.81 (m, 3H, H-3 β and H-4)

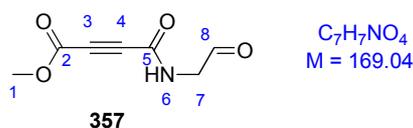
HRMS (ESI) : calculated for $C_8H_{14}NO_4$ [M+H] $^+$: 188.0197, found: 188.4025

COMPOUND 354

General procedure B (Method 1) was followed using methyl propiolate (0.45 mL, 5 mmol, 1 eq.) in anhydrous THF (25 mL), *n*-BuLi (1.6 M in hexanes, 3.3 mL, 5.25 mmol) and 2-bromoethyl isocyanate (702 μ L, 5 mmol, 1eq.) at -78 °C. A saturated aqueous solution of ammonium chloride (20 mL) was added and the mixture was allowed to warm to room temperature. The two phases were separated, and the aqueous layer was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with a saturated solution of sodium hydrogen carbonate (20 mL), dried over magnesium sulphate, filtered, and concentrated under reduced pressure to give brown oil that was purified by column chromatography on silica gel using heptane/ethyl acetate 4:1 and afforded alkyne **354** (387 mg, 33% yield) as a yellow oil.

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 3.80 (s, 3H, H-1), 3.73-3.67 (m, 3H, H-7 and H-8), 3.45 (t, $J=6.0$ Hz, 2H, H-9)

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 152.7 (C-3), 151.0 (C-6), 83.7 (C-5), 74.2 (C-4), 53.4 (C-1), 41.6 (C-8), 30.6 (C-9)

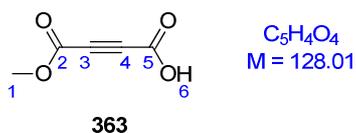
COMPOUND 357

A solution of alkyne **243** (100 mg, 0.60 mmol) in dichloromethane (8 mL) was purged with O_3 at $-78\text{ }^\circ\text{C}$ until reaction mixture turned blue. The excess of O_3 in the solution was removed by purging of oxygen and argon at $-78\text{ }^\circ\text{C}$ for 5 min, respectively. To the mixture was added one equivalent of dimethylsulfide (44 μL , 0.60 mmol) at $-78\text{ }^\circ\text{C}$, and then stirred it at $-78\text{ }^\circ\text{C}$ to rt under argon atmosphere over night. After all solvent was removed under reduced pressure to afford aldehyde **357** (85 mg, 84% yield) as a yellow oil.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 9.54 (s, 1H, H-8), 4.17 (d, $J=4.9$ Hz, 2H, H-7), 3.76 (s, 3H, H-1)

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 195.6 (C-8), 152.7 (C-2), 151.2 (C-5), 76.9 (C-4), 74.6 (C-3), 53.6 (C-7), 40.3 (C-1)

COMPOUND 363

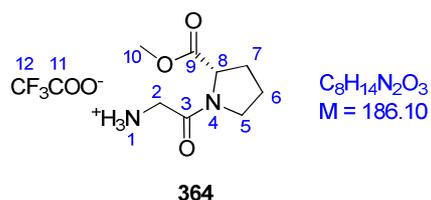


General procedure B (Method 1) was followed using dissolved in 25 mL dry THF and cooled to -78°C . *n*-BuLi solution (2.5 M in hexanes, 4.0 mL, 10 mmol) was added dropwise via syringe and stirring was continued at -78°C for 1 hour followed by the addition of a CO_2 filled balloon. The reaction was allowed to warm to room temperature, and subsequently stirred for 1 hour. The solvent was removed in vacuo. Water (25 mL) and hexane (25 mL) were added. The layers were separated, and the aqueous layer was acidified by HCl (2 M, aq.) to $\text{pH}\sim 2$. The aqueous layer was then back-extracted with ethyl acetate. The organic layers were combined and washed with brine. The upper layer was dried over magnesium sulfate and filtered. Solvent evaporation under reduced pressure give **363** (935 mg, 73% yield) as a brown oil.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 9.21 (br s, 1H, H-6), 3.81 (s, 3H, H-1)

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 178.0 (C-5), 152.5 (C-2), 75.4 (C-3), 71.9 (C-4), 53.5 (C-1)

COMPOUND 364



The general procedure E was followed using NMM (627 μ L, 5.7 mmol, 1 eq.), L-ProOMe (944 mg, 5.7 mmol, 1 eq.), BocGlyOH (1.0 g, 5.7 mmol, 1 eq.), EDCI (1.31 g, 6.84 mmol, 1.2 eq.) and HOBt (930 mg, 6.84 mmol, 1.2 eq.). After 2 h of stirring at room temperature in dichloromethane (54 mL), the reaction mixture was quenched with a saturated solution of sodium hydrogen carbonate. The residue was purified by flash chromatography on silica gel using dichloromethane/methanol (99.5:0.5 to 95:5) to afford the desired dipeptide as a colourless oil.

According to the general procedure, this was later deprotected with a mixture of TFA/dichloromethane (14 mL/7 mL) to afford the trifluoroacetate salt of the deprotected peptide **364** (976 mg, 92% yield).

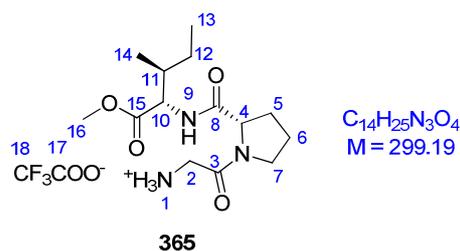
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 7.9 (br s, 3H, H-1), 4.49 (dd, $J=8.7$ and 3.3 Hz, 1H, H-8), 3.92 (s, 2H, H-2), 3.68 (s, 3H, H-10), 3.59-3.51 (m, 1H, H-5 α), 3.50-3.40 (m, 1H, H-5 β), 2.30-2.20 (m, 1H, H-7 α), 2.09-1.98 (m, 3H, H-6 and H-7 β)

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 172.1 (C-9), 165.1 (C-3), 161.2 (C-11), 116.4 (C-12), 59.6 (C-8), 52.8 (C-10), 46.5 (C-5), 41.1 (C-2), 29.0 (C-7), 24.6 (C-6)

HRMS (ESI) : calculated for $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 187.1077, found : 187.1172

$[\alpha]_D$ = - 41 (CHCl_3 , $c = 0.1$)

COMPOUND 365



The general procedure E was followed using NMM (181 μ L, 1.65 mmol, 1 eq.), dipeptide **306** (400 mg, 1.65 mmol, 1 eq.), BocGlyOH (289mg, 1.65 mmol, 1 eq.), EDCI (380 mg, 1.98 mmol, 1.2 eq.) and HOBt (267 mg, 1.98 mmol, 1.2 eq.). After 2 h of stirring at room temperature in dichloromethane (18 mL), the reaction mixture was quenched with a saturated solution of sodium hydrogen carbonate. The residue was purified by flash chromatography on silica gel using dichloromethane/methanol (99.5:0.5 to 95:5) to afford the desired dipeptide as a colourless oil.

According to the general procedure, this was later deprotected with a mixture of TFA/dichloromethane (4.7 mL/1.6 mL) to afford the trifluoroacetate salt of the deprotected peptide **365** (410 mg, 83% yield).

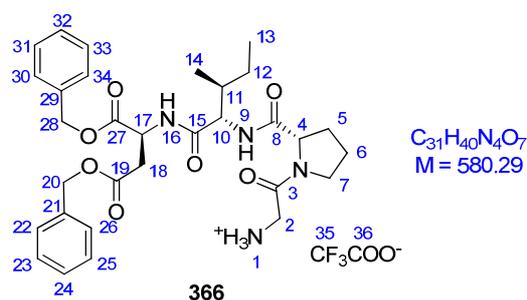
1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 8.05 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, H-9), 4.40-4.35 (m, 1H, H-4), 3.92-3.85 (m, 1H, H-10), 3.68 (s, 3H, H-16), 3.53 (s, 2H, H-2), 3.41-3.31 (m, 1H, H-7 α), 3.25-3.14 (m, 1H, H-7 β), 2.35-2.29 (m, 1H, H-5 α), 2.08-1.85 (m, 2H, H-5 β and H-11), 1.70-1.59 (m, 2H, H-6), 1.39-1.31 (m, 1H, H-12 α), 1.12-1.05 (m, 1H, H-12 β), 0.97-0.95 (m, 6H, H-13 and H-14)

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 174.1 (C-15), 172.3 (C-8), 166.3 (C-3), 161.2 (C-17), 116.4 (C-18), 60.3 (C-4), 56.1 (C-10), 51.8 (C-16), 47.1 (C-7), 43.5 (C-2), 37.6 (C-11), 30.8 (C-5), 25.8 (C-6), 25.0 (C-12), 15.5 (C-14), 11.4 (C-13)

HRMS (ESI): calculated for $C_{14}H_{26}N_3O_4$ $[M+H]^+$: 300.1918, found: 300.2013

$[\alpha]_D$ = - 30 ($CHCl_3$, $c = 0.1$)

COMPOUND 366



The general procedure E was followed using NMM (13 μ L, 0.113 mmol, 1 eq.), tripeptide **314** (60 mg, 0.11 mmol, 1 eq.), BocGlyOH (20 mg, 0.11 mmol, 1 eq.), EDCI (26 mg, 0.14 mmol, 1.2 eq.) and HOBT (18 mg, 0.14 mmol, 1.2 eq.). After 2 h of stirring at room temperature in dichloromethane (70 mL), the reaction mixture was quenched with a saturated solution of sodium hydrogen carbonate. The residue was purified by flash chromatography on silica gel using dichloromethane/methanol (99.5:0.5 to 95:5) to afford the desired dipeptide as a colourless oil.

According to the general procedure, this was later deprotected with 37 mL of 1/3 mixture of TFA/dichloromethane to afford the trifluoroacetate salt of the deprotected peptide **366** (42 mg, 64% yield).

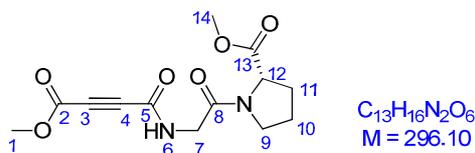
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 7.92 (br s, 3H, H-1), 7.87-7.77 (m, 2H, H-9 and H-16), 7.32-7.26 (m, 10H, H-22-H-26 and H-30-H-34), 5.06 (d, $J=3.4$ Hz, 2H, H-29), 5.00 (d, $J=4.2$ Hz, 2H, H-20), 4.86 (dt, $J=7.4$ and 5.1 Hz, 1H, H-17), 4.48 (dd, $J=6.9$ and 4.2 Hz, 1H, H-4), 4.16-4.07 (m, 1H, H-10), 3.31 (t, $J=5.9$ Hz, 1H, H-7 α), 3.12 (t, $J=5.9$ Hz, 1H, H-7 β), 3.00 (dd, $J=17.0$ and 5.5 Hz, 1H, H-18 α), 2.85 (dd, $J=17.0$ and 5.5 Hz, 1H, H-18 β), 2.83 (s, 2H, H-2), 2.15-2.05 (m, 1H, H-5 α), 2.01-1.91 (m, 3H, H-5 β and H-6), 1.88-1.75 (m, 1H, H-11), 1.44-1.35 (m, 1H, H-12 α), 1.15-1.01 (m, 1H, H-12 β), 0.78 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, H-14), 0.77 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, H-13)

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 172.1 (C-8), 170.9, 170.2 (C-19 and C-27), 166.4 (C-15), 161.0 (C-36), 160.8 (C-3), 135.2 (C-21 and C-29), 128.9 (C-23, C-25, C-31 and C-33), 128.5 (C-24 and C-32), 127.5 (C-22, C-26, C-30 and C-34), 117.6 (C-35), 68.0, 67.3 (C-20 and C-29), 61.3 (C-4), 59.2 (C-10), 49.1 (C-17), 46.9 (C-7), 43.4 (C-2), 36.2 (C-18), 35.9 (C-11), 29.7 (C-5), 25.3 (C-6), 24.7 (C-12), 14.8 (C-14), 10.6 (C-13)

HRMS (ESI): calculated for $C_{31}H_{41}N_4O_7$ $[M+H]^+$: 581.2959, found : 581.2946

$[\alpha]_D = -27$ ($CHCl_3$, $c = 0.1$)

COMPOUND 368

**368**

General procedure B (Method 2) was followed using a solution of 4-methoxy-4-oxobut-2-ynoic acid (100 mg, 0.78 mmol, 1.03 eq.) in 1.0 mL of THF and lithium hydride (6.5 mg, 0.82 mmol, 1.08 eq.). The reaction mixture was stirred at room temperature. After 18 h, ethyl chloroformate (72 μ L, 0.76 mmol, 1 eq.) was added at -15 °C and the reaction mixture was stirred for 45 min at -15 °C. Amine **364** (141 mg, 0.76 mmol, 1 eq.) was added at 0 °C and stirring continued for 4 h allowing the mixture to warm to room temperature. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was dissolved in ethyl acetate. A saturated aqueous solution of sodium carbonate was added, and the two phases were separated. The organic phase was dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated under reduced pressure to give a brown oil that was purified by column chromatography on silica gel using ethyl acetate to afford compound **368** (72 mg, 32% yield) as a colourless oil.

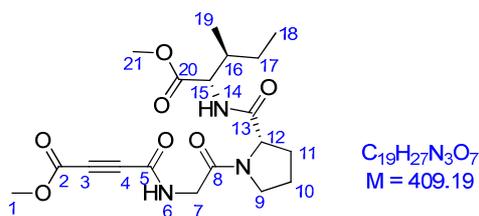
1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 4.55-4.47 (m, 1H, H-12), 4.13-4.07 (m, 2H, H-7), 3.80 (s, 3H, H-14), 3.71 (s, 3H, H-1), 3.62-3.53 (m, 1H, H-10 α), 3.50-3.41 (m, 1H, H-10 β), 2.29-2.12 (m, 1H, H-9 α), 2.10-1.96 (m, 3H, H-9 β and H-11)

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 175.4 (C-2), 172.2 (C-5), 167.5 (C-13), 165.6 (C-8), 92.1 (C-4), 77.4 (C-3), 59.3 (C-12), 53.5 (C-14), 52.6 (C-1), 46.1 (C-9), 42.5 (C-7), 29.3 (C-11), 24.8 (C-10)

HRMS (ESI): calculated for $C_{13}H_{17}N_2O_6$ $[M+H]^+$: 297.1081, found : 297.1048

$[\alpha]_D$ = - 80 ($CHCl_3$, $c = 0.1$)

COMPOUND 369



369

General procedure B (Method 2) was followed using a solution of 4-methoxy-4-oxobut-2-ynoic acid (291 mg, 2.27 mmol, 3.09 eq.) in 1.0 mL of THF and lithium hydride (19 mg, 2.37 mmol, 3.24 eq.). The reaction mixture was stirred at room temperature. After 18 h, ethyl chloroformate (239 μ L, 2.20 mmol, 3 eq.) was added at -15 °C and the reaction mixture was stirred for 45 min at -15 °C. Amine **365** (220 mg, 0.73 mmol, 1 eq.) was added at 0 °C and stirring continued for 4 h allowing the mixture to warm to room temperature. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was dissolved in ethyl acetate. A saturated aqueous solution of sodium carbonate was added, and the two phases were separated. The organic phase was dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated under reduced pressure to give a brown oil that was purified by column chromatography on silica gel using ethyl acetate to afford compound **369** (180.2 mg, 60 % yield) as a colourless oil.

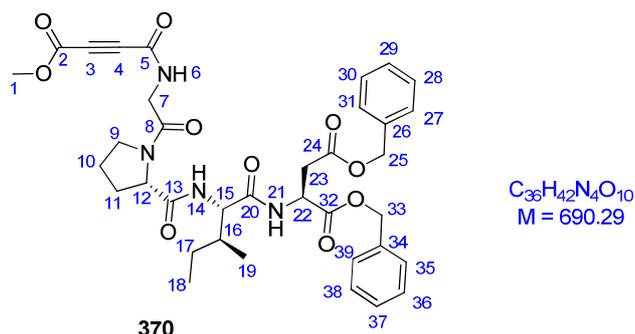
1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 7.15 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-14), 4.53-4.47 (m, 1H, H-15), 4.17-4.09 (m, 3H, H-7 α and H-12), 3.85 (s, 3H, H-1), 3.73 (s, 3H, H-21), 3.58 (td, $J=9.3$ and 3.7 Hz, 1H, H-9 α), 3.44 (q, $J=8.7$ Hz, 1H, H-9 β), 2.23-2.13 (m, 1H, H-11 α), 2.36-2.27 (m, 1H, H-10 α), 2.08-1.98 (m, 1H, H-10 β), 2.04-1.93 (m, 1H, H-11 β), 1.94-1.85 (m, 1H, H-16), 1.51-1.34 (m, 1H, H-17 α), 1.25 (t, $J=$, 1H, H-6), 1.21-1.09 (m, 1H, H-17 β), 1.12-1.05 (m, 1H, H-7 β), 0.95-0.86 (m, 6H, H-18 and H-19)

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 172.2 (C-20), 170.7 (C-8), 170.5 (C-5), 166.5 (C-13), 150.5 (C-2), 76.0 (C-4), 74.2 (C-3), 61.3 (C-12), 60.3 (C-15), 53.4 (C-1), 52.2 (C-21), 46.5 (C-9), 42.3 (C-7), 37.7 (C-16), 27.6 (C-11), 25.1 (C-17), 24.8 (C-10), 15.5 (C-19), 11.6 (C-18)

HRMS (ESI) : calculated for $C_{19}H_{28}N_3O_7$ [M+H] $^+$: 410.1922, found: 410.2005

$[\alpha]_D$ = - 47 ($CHCl_3$, $c = 0.1$)

COMPOUND 370



General procedure B (Method 2) was followed using a solution of 4-methoxy-4-oxobut-2-ynoic acid (100 mg, 0.78 mmol, 10.6 eq.) in 1.0 mL of THF and Lithium hydride (6.5 mg, 0.82 mmol, 11 eq.). The reaction mixture was stirred for at room temperature. After 18 h, ethyl chloroformate (72 μ L, 0.76 mmol, 10.3 eq.) was added at -15 °C and the reaction mixture was stirred for 45 min at -15 °C. Amine **366** (43 mg, 0.07 mmol, 1 eq.) was added at 0 °C and stirring continued for 4 h allowing the mixture to warm to room temperature. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was dissolved in ethyl acetate. A saturated aqueous solution of sodium carbonate was added, and the two phases were separated. The organic phase was dried over magnesium sulfate, filtered, and concentrated under reduced pressure to give a brown oil that was purified by column chromatography on silica gel using ethyl acetate to afford compound **370** (42.5 mg, 83 % yield) as a colourless oil.

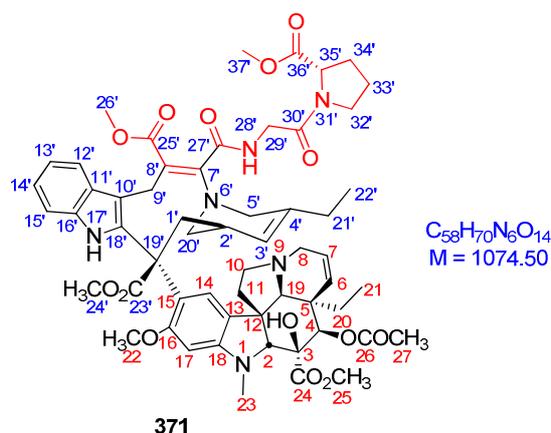
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 7.31-7.20 (m, 10H, H-27–H-31 and H-35–H-39), 6.87 (d, $J=8.2$ Hz, 1H, H-14), 6.82 (d, $J=8.2$ Hz, 1H, H-21), 5.06 (s, 2H, H-33), 5.00 (d, $J=4.0$ Hz, 2H, H-25), 4.85 (dt, $J=8.2$ and 4.4 Hz, 1H, H-22), 4.43 (dd, $J=7.9$ and 2.4 Hz, 1H, H-12), 4.21 (dd, $J=8.2$ and 5.8 Hz, 1H, H-15), 4.04 (dd, $J=13.8$ and 4.0 Hz, 2H, H-7), 3.74 (s, 3H, H-1), 3.54-3.45 (m, 1H, H-9 α), 3.40-3.30 (m, 1H, H-9 β), 3.04 (dd, $J=17.2$ and 4.5 Hz, 1H, H-23 α), 2.80 (dd, $J=17.2$ and 4.5 Hz, 1H, H-23 β), 2.20-2.10 (m, 1H, H-11 α), 2.10-2.00 (m, 1H, H-10 α), 1.97-1.89 (m, 2H, H-10 β and H-11 β), 1.86-1.75 (m, 1H, H-16), 1.41-1.30 (m, 1H, H-17 α), 1.19 (t, $J=7.3$ Hz, H-6), 1.10-0.96 (m, 1H, H-17 β), 0.82-0.74 (m, 6H, H-18 and H-19)

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 171.0 (C-32 and C-24), 170.9 (C-20), 170.8 (C-13), 170.3 (C-2), 166.7 (C-5), 135.1 (C-26 and C-34), 128.8 (C-28, C-30, C-36, C-38), 128.7 (C-29 and C-37), 128.6 (C-27, C-31, C-35 and C-39), 77.5 (C-4), 74.5 (C-3), 67.9, 67.2 (C-25 and C-33), 60.7 (C-12), 58.1 (C-14), 53.5 (C-15), 48.8 (C-22), 46.7 (C-9), 42.5 (C-7), 37.6 (C-16), 36.4 (C-23), 28.5 (C-11), 25.0 (C-10 and C-17), 15.6 (C-19), 11.7 (C-18)

HRMS (ESI) : calculated for $C_{36}H_{43}N_4O_{10}$ $[M+H]^+$: 691.2974, found : 691.2968

$[\alpha]_D$ = - 30 ($CHCl_3$, $c = 0.1$)

COMPOUND 371



The general procedure C (Method 2) was followed using alkyne **368** (35 mg, 0.12 mmol, 2 eq.) and vinorelbine (47 mg, 0.06 mmol, 1 eq) in 0.5 mL of anhydrous acetonitrile. After 2 h of stirring at room temperature, the solvent was evaporated under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on silica gel using ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1) to afford compound **371** (20 mg, 31% yield) as a yellow powder.

1H NMR (600 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.39 (s, 1H, H-17'), 7.37 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-12'), 7.13 (d, $J=8.0$ Hz, H-15'), 6.99 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, H-14'), 6.91 (s, 1H, H-14), 6.89 (t, $J=8.0$ Hz, H-13'), 6.75 (t, $J=5.0$ Hz, 1H, H-28'), 6.27 (s, 1H, H-17), 5.77 (dd, $J=10.3$ and 5.6 Hz, 1H, H-7), 5.26 (d, $J=10.3$ Hz, 1H, H-6), 5.23 (s, 1H, H-4), 5.23-5.21 (m, 1H, H-3'), 4.37 (d, $J=11.6$ Hz, 1H, H-9' β), 4.34 (dd, $J=8.9$ and 4.4 Hz, 1H, H-35'), 4.04 (d, $J=11.6$ Hz, 1H, H-9' α), 3.97 (ddd, $J=45.9$, 21.8 and 4.8 Hz, 2H, H-29'), 3.82 (d, $J=15.3$ Hz, 1H, H-20' β), 3.73 (s, 3H, H-22), 3.67 (s, 3H, H-25), 3.64 (s, 3H, H-26'), 3.62 (s, 3H, H-37'), 3.57 (s, 1H, H-2), 3.55-3.46 (m, 2H, H-32'), 3.50 (s, 3H, H-24'), 3.47-3.43 (m, 1H, H-1' β), 3.40 (d, $J=16.3$ Hz, 1H, H-5' β), 3.28 (dd, $J=15.9$ and 4.5 Hz, 1H, H-8 β), 3.19 (td, $J=9.2$ and 4.9 Hz, 1H, H-10 α), 3.14 (d, $J=16.3$ Hz, 1H, H-5' α), 2.77 (s, 1H, H-19), 2.74 (d, $J=14.1$ Hz, 1H, H-20' α), 2.71 (d, $J=17.6$ Hz, 1H, H-8 α), 2.67 (s, 3H, H-23), 2.45 (td, $J=9.2$ and 6.1 Hz, 1H, H-10 β), 2.17-2.12 (m, 1H, H-34' α), 2.13-2.08 (m, 1H, H-1' α), 2.10-2.04 (m, 1H, H-11 α), 1.97-1.90 (m, 2H, H-33'), 1.94 (s, 3H, H-27), 1.91-1.86 (m, 2H, H-11 β and H-34' β), 1.88-1.83 (m, 2H, H-21'), 1.64-1.57 (m, 2H, H-2' and H-20 α), 1.36-1.30 (m, 1H, H-20 β), 0.92 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, H-22'), 0.63 (t, $J=6.6$ Hz, 3H, H-21)

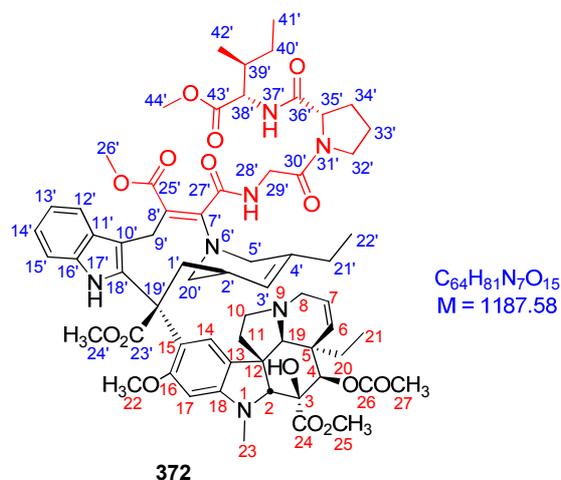
^{13}C NMR (150 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 175.6 (C-23'), 174.0 (C-36'), 173.4 (C-24), 172.6 (C-25'), 171.9 (C-26), 168.1 (C-30'), 167.0 (C-27'), 159.8 (C-16), 156.9 (C-7'), 154.8 (C-18), 139.8 (C-4'), 136.9 (C-16'), 132.8 (C-18'), 131.7 (C-6), 130.5 (C-11'), 126.1 (C-14), 125.9 (C-7), 125.1 (C-15), 124.3 (C-3'), 123.1 (C-14'), 122.4 (C-13), 121.1 (C-12'), 120.4 (C-13'), 116.1 (C-8'), 115.9 (C-10'), 112.5 (C-15'), 95.5 (C-17), 84.8 (C-2), 81.1 (C-3), 77.9 (C-4), 66.8 (C-19), 60.2 (C-35'), 57.2 (C-19'), 57.0 (C-22), 55.6 (C-20'), 54.7 (C-12), 53.2 (C-24'), 53.1 (C-37'), 53.0 (C-25), 52.9 (C-26'),

51.7 (C-8), 51.4 (C-10), 51.2 (C-5'), 47.4 (C-32'), 46.1 (C-11), 44.3 (C-5), 42.8 (C-29'), 39.3 (C-23), 36.0 (C-2'), 35.2 (C-1'), 32.3 (C-20), 30.2 (C-34'), 28.7 (C-21'), 26.8 (C-9'), 25.9 (C-33'), 21.7 (C-27), 13.1 (C-22'), 9.0 (C-21)

HRMS (ESI) : calculated for $\text{C}_{58}\text{H}_{71}\text{N}_6\text{O}_{14}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 1075.5023, found: 1075.5083

$[\alpha]_{\text{D}}$ = -30 (CHCl_3 , $c = 0.1$)

COMPOUND 372



The general procedure C (Method 2) was followed using alkyne **369** (17 mg, 0.04 mmol, 2 eq.) and vinorelbine (17 mg, 0.02 mmol, 1 eq) in 0.2 mL of anhydrous acetonitrile. After 2 h of stirring at room temperature, the solvent was evaporated under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on silica gel using ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1) to afford compound **372** (5.3 mg, 21% yield) as a yellow powder.

1H NMR (600 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.50 (s, 1H, N-17'), 7.42 (d, $J=8.3$ Hz, 1H, H-12'), 7.18 (d, $J=8.3$ Hz, 1H, H-15'), 7.15 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, H-37'), 7.03 (t, $J=8.3$ Hz, 1H, H-14'), 6.96 (s, 1H, H-14), 6.93 (t, $J=8.3$ Hz, 1H, H-13'), 6.88 (m, 1H, H-28'), 6.32 (s, 1H, H-17), 5.81 (dd, $J=10.8$ and 4.5 Hz, 1H, H-7), 5.31 (d, $J=10.8$ Hz, 1H, H-6), 5.27-5.25 (m, 2H, H-3' and H-4), 4.43 (dd, $J=7.7$ and 2.8 Hz, 1H, H-35'), 4.40 (d, $J=14.5$ Hz, 1H, H-9' β), 4.31 (dd, $J=8.5$ and 6.0 Hz, 1H, H-38'), 4.08 (d, $J=14.5$ Hz, 1H, H-9' α), 4.06 (dd, $J=21.4$ and 4.3 Hz, H-29' α), 3.98 (dd, $J=21.4$ and 4.3 Hz, H-29' β), 3.88 (d, $J=14.2$ Hz, H-20' β), 3.77 (s, 3H, H-22), 3.71 (s, 3H, H-44'), 3.68 (s, 3H, H-25), 3.66 (s, 3H, H-26'), 3.61 (s, 1H, H-2), 3.59-3.54 (m, 1H, H-32' β), 3.53 (s, 3H, H-24'), 3.52 (t, $J=14.5$ Hz, 1H, H-1' α), 3.49-3.45 (m, 1H, H-32' α), 3.44 (d, $J=15.7$ Hz, 1H, H-5' β), 3.33 (dd, $J=10.8$ and 4.5 Hz, 1H, H-8 β), 3.27-3.23 (m, 1H, H-10 α), 3.21 (d, $J=15.7$ Hz, 1H, H-5' α), 2.86 (s, 1H, H-19), 2.80-2.75 (m, 2H, H-8 α and H-20' α), 2.70 (s, 3H, H-23), 2.52 (td, $J=10.1$ and 6.3 Hz, H-10 α), 2.14 (d, $J=14.5$ Hz, 1H, H-1' β), 2.08-2.00 (m, 3H, H-11 α and H-34'), 1.98 (s, 3H, H-27), 1.97-1.91 (m, 5H, H-11 β , H-21', H-33'), 1.86-1.78 (m, 1H, H-39'), 1.65-1.59 (m, 2H, H-2' and H-20' β), 1.42-1.39 (m, 1H, H-40' α), 1.38-1.35 (m, 1H, H-20 α), 1.24-1.11 (m, 1H, H-40' β), 0.96 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, H-22'), 0.91-0.84 (m, 3H, H-41'), 0.86 (d, $J=7.0$ Hz, 3H, H-42'), 0.66 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, H-21)

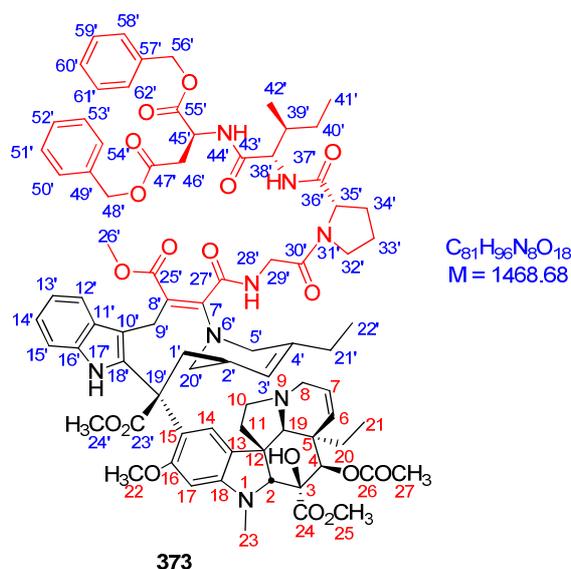
^{13}C NMR (150 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 175.4 (C-23'), 173.3 (C-43'), 173.1 (C-24), 172.7 (C-36'), 172.4 (C-25'), 171.8 (C-26), 168.6 (C-30'), 166.7 (C-27'), 159.3 (C-16), 156.6 (C-7'), 154.4 (C-18), 139.5 (C-4'), 136.6 (C-16'), 132.4 (C-18'), 131.5 (C-6), 130.2 (C-11'), 125.9 (C-14), 125.6 (C-7), 124.6 (C-13), 123.9 (C-3'), 122.9 (C-14'), 121.9 (C-15), 120.7 (C-12'), 120.0 (C-13'), 115.8 (C-10'),

114.3 (C-8'), 112.3 (C-15'), 95.1 (C-17), 84.2 (C-2), 79.8 (C-3), 77.5 (C-4), 66.0 (C-19), 61.2 (C-35'), 57.9 (C-19'), 57.0 (C-38'), 55.2 (C-20'), 54.4 (C-12), 53.0 (C-44'), 52.9 (C-24'), 52.8 (C-25), 52.8 (C-26'), 51.3 (C-8), 50.9 (C-10), 50.9 (C-5'), 47.5 (C-32'), 45.9 (C-11), 43.9 (C-5), 42.7 (C-29'), 38.9 (C-23), 38.2 (C-39'), 35.7 (C-2'), 34.9 (C-1'), 30.6 (C-20), 29.5 (C-34'), 28.4 (C-21'), 26.2 (C-9'), 26.1 (C-40'), 25.7 (C-33'), 21.5 (C-27), 16.3 (C-42'), 12.8 (C-22'), 12.1 (C-41'), 8.9 (C-21)

HRMS (ESI) : calculated for $C_{64}H_{82}N_7O_{15}$ [M+H]⁺: 1188.5863, found: 1188.5980

[α]_D = -33 (CHCl₃, c = 0.1)

COMPOUND 373



The general procedure C (Method 2) was followed using alkyne **370** (42 mg, 0.06 mmol, 2 eq.) and vinorelbine (24 mg, 0.03 mmol, 1 eq) in 0.5 mL of anhydrous acetonitrile. After 2 h of stirring at room temperature, the solvent was evaporated under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on silica gel using ethyl acetate/acetone (1:0 to 4:1) to afford compound **373** (12 mg, 26% yield) as a yellow powder.

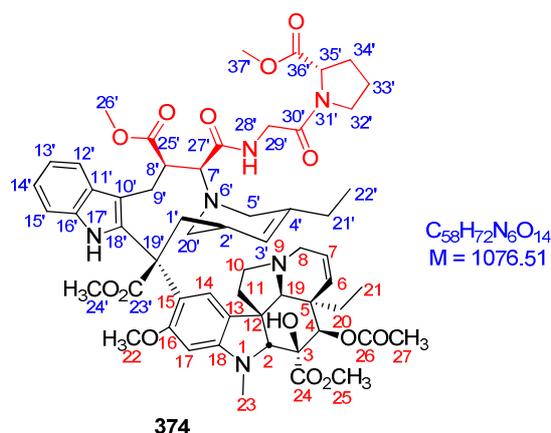
1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 7.89 (s, 1H, H-17'), 7.47 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-11'), 7.29-7.15 (m, 10H, H-50'-H-54' and H-58'-H-62'), 7.01-6.93 (m, 3H, H-14', H-15', H-37'), 6.90 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, H-13'), 6.87-6.82 (m, 1H, H-44'), 6.67 (br s, 1H, H-28'), 6.60 (s, 1H, H-14), 6.04 (s, 1H, H-17), 5.77 (dd, $J=10.0$ and 4.5 Hz, 1H, H-7), 5.40 (s, 1H, H-4), 5.21 (d, $J=10.0$ Hz, 1H, H-6), 5.10 (br s, 1H, H-3'), 5.03 (dd, $J=16.4$ and 13.1 Hz, 2H, H-48'), 4.97 (q, $J=12.3$ Hz, 2H, H-56'), 4.85-4.81 (m, 1H, H-45'), 4.42 (d, $J=14.1$ Hz, 1H, H-9' β), 4.40 (d, $J=7.0$ Hz, 1H, H-35'), 4.18 (m, 2H, H-29' β and H-38'), 4.10 (d, $J=14.1$ Hz, 1H, H-9' α), 3.95 (d, $J=12.8$ Hz, H-20' β), 3.88 (dd, $J=18.3$ and 3.6 Hz, H-29' α), 3.72 (s, 3H, H-22), 3.71 (s, 3H, H-25), 3.69 (s, 1H, H-2), 3.67 (s, 3H, H-26'), 3.53-3.50 (m, 2H, H-1' β and H-32' α), 3.50 (s, 3H, H-24'), 3.37 (d, $J=13.8$ Hz, 1H, H-5' β), 3.35-3.33 (m, 1H, H-32' β), 3.30 (dd, $J=16.8$ and 4.9 Hz, 1H, H-8' β), 3.21 (td, $J=9.0$ and 4.4 Hz, 1H, 10 α), 3.04 (dd, $J=18.8$ and 4.9 Hz, 1H, H-46' α), 2.99 (d, $J=16.8$ Hz, 1H, H-5' α), 2.84-2.76 (m, 2H, H-20' α and H-46' β), 2.71 (d, $J=16.8$ Hz, 1H, H-8 α), 2.63 (s, 3H, H-23), 2.55 (s, 1H, H-19), 2.42 (q, $J=9.0$ Hz, 1H, H-10 β), 2.14-2.06 (m, 3H, H-11 α , H-1' α and H-33' α), 2.03 (s, 3H, H-27), 2.00-1.96 (m, 1H, H-33' β), 1.94-1.85 (m, 2H, H-34'), 1.80-1.73 (m, 5H, H-2', H-21', H-39' and H-11), 1.72-1.66 (m, 1H, H-20 β), 1.37-1.22 (m, 2H, H-20 α and H-40' β), 1.06-0.95 (m, 1H, H-40' α), 0.85 (t, $J=8.0$ Hz, 3H, H-22'), 0.79-0.70 (m, 6H, H-41' and H-42'), 0.67 (t, $J=8.1$ Hz, 3H, H-21)

¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 174.2 (C-23'), 172.0 (C-43'), 171.9 (C-24), 171.8 (C-36'), 171.1 (C-25'), 171.0 (C-47' and C-55'), 170.8 (C-26), 170.7 (C-36'), 167.3 (C-27'), 167.0 (C-30'), 158.0 (C-16), 154.4 (C-7'), 153.2 (C-18), 137.6 (C-4'), 135.1 (C-16'), 130.7 (C-18'), 129.4 (C-6), 129.1 (C-11'), 128.7, 128.6, 128.5 (C-49'–C-54' and H-57'–H-62'), 124.8 (C-7), 124.3 (C-14), 123.4 (C-13), 123.2 (C-3'), 122.4 (C-14'), 120.7 (C-15), 120.3 (C-12'), 119.4 (C-13'), 115.7 (10'), 115.0 (C-8'), 110.5 (C-15'), 94.3 (C-17), 83.4 (C-2), 79.7 (C-3), 76.4 (C-4), 67.8 (C-48'), 67.1 (C-56'), 66.0 (C-19), 60.4 (C-35'), 58.0 (C-38'), 56.1 (C-19'), 55.9 (C-22), 54.3 (C-20'), 53.3 (C-12), 52.6 (C-25), 52.5 (C-24'), 52.3 (C-26'), 50.7 (C-8), 50.5 (C-10), 50.0 (C-5'), 48.5 (C-45'), 46.6 (C-32'), 44.9 (C-11), 42.8 (C-5), 42.2 (C-29'), 38.3 (C-39'), 38.0 (C-23), 37.6 (C-2'), 36.3 (C-46'), 34.5 (C-1'), 30.9 (C-20), 29.8 (C-34'), 27.6 (C-21'), 25.0 (C-33'), 24.9 (C-9'), 24.8 (C-40'), 21.3 (C-27), 15.4 (C-42'), 12.2 (C-41'), 11.6 (C-22'), 11.5 (C-40'), 8.7 (C-21)

HRMS (ESI) : calculated for **C₈₁H₉₇N₈O₁₁** [M+H]⁺: 1469.6915, found: 1469.5588

[α]_D = -25 (CHCl₃, c = 0.1)

COMPOUND 374



General procedure D (Method 2) was followed using $NaBH(OAc)_3$ (6 mg, 0.028 mmol, 3 eq.) and enaminoester **371** (10 mg, 0.009 mmol, 1 eq.) in dichloromethane (0.1 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 4 hours at 0 °C. The resulting mixture was diluted with dichloromethane and washed with a saturated sodium carbonate solution. Solvent removal under reduced pressure provided pure aminoester **374** (6 mg, 60% yield) as a white powder.

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 8.01 (s, 1H, H-17'), 7.46 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, H-12'), 7.07-6.94 (m, 4H, H-13'-H-15' and H-28'), 6.51 (s, 1H, H-14), 6.07 (s, 1H, H-17), 5.76 (dd, $J=10.1$ and 5.1 Hz, 1H, H-7), 5.43 (s, 1H, H-4), 5.20 (d, $J=10.1$ Hz, 1H, H-6), 5.06 (d, $J=4.7$ Hz, 1H, H-3'), 4.45 (dd, $J=7.9$ and 2.6 Hz, 1H, H-35'), 4.31 (dd, $J=16.6$ and 6.1 Hz, 1H, H-29' α), 3.89 (d, $J=16.5$ Hz, 1H, H-9' β), 3.82 (dd, $J=18.2$ and 5.0 Hz, H-29' β), 3.74 (s, 3H, H-22), 3.73 (s, 3H, H-25), 3.72 (s, 3H, H-26'), 3.70-3.68 (m, 1H, H-20' β), 3.68 (s, 1H, H-2), 3.66-3.63 (m, 1H, H-8'), 3.65 (s, 3H, H-37'), 3.62-3.56 (m, 2H, H-31'), 3.56 (s, 3H, H-24'), 3.52-3.48 (m, 1H, H-20' α), 3.46-3.41 (m, 2H, H-7' and H-9' α), 3.37-3.33 (m, 2H, H-8 α and H-5' β), 3.36-3.29 (m, 1H, H-1' β), 3.30-3.25 (m, 1H, H-8 β), 3.20-3.17 (m, 2H, H-32'), 2.82-2.78 (m, 1H, H-10 β), 2.76 (d, $J=15.0$ Hz, 1H, H-5' α), 2.69 (s, 3H, H-23), 2.67-2.59 (m, 2H, H-34'), 2.61 (s, 1H, H-19), 2.40 (td, $J=9.8$ and 7.3 Hz, 1H, H-10 α), 2.34-2.29 (m, 3H, H-1' α and H-11), 2.02-1.95 (m, H-27 and H-33'), 1.91-1.80 (m, 2H, H-21'), 1.82-1.75 (m, 1H, H-20 β), 1.37-1.30 (m, 1H, H-2'), 1.30-1.25 (m, 1H, H-20 α), 0.87 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, H-22'), 0.69 (t, $J=7.8$ Hz, 3H, H-21)

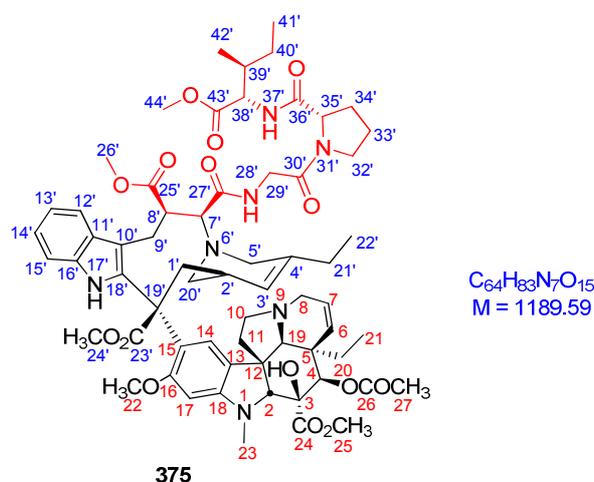
^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 175.1 (C-23'), 174.1 (C-36'), 172.2 (C-24), 171.1 (C-25'), 170.4 (C-26), 167.2 (C-30'), 163.7 (C-27'), 158.5 (C-16), 154.1 (C-18), 138.4 (C-4'), 134.5 (C-16'), 131.8 (C-18'), 130.3 (C-6), 129.7 (C-11'), 125.7 (C-15), 124.6 (C-7), 124.0 (C-14), 123.2 (C-13), 123.1 (C-14'), 122.7 (C-3'), 119.9 (C-12'), 119.5 (C-13'), 109.3 (C-10'), 94.7 (C-17), 83.7 (C-2), 79.8 (C-3), 76.6 (C-4), 66.3 (C-19), 66.2 (C-7'), 59.0 (C-35'), 57.1 (C-19'), 56.2 (C-22), 54.2 (C-12), 53.8 (C-24'), 53.5 (C-37'), 52.6 (C-25), 52.5 (C-26'), 52.5 (C-8), 50.9 (C-10), 50.6 (C-8'), 50.5 (C-

5'), 49.4 (C-20'), 49.1 (C-32'), 46.2 (C-11), 44.9 (C-5), 41.8 (C-29'), 38.5 (C-23), 36.8 (C-2'), 34.8 (C-1'), 32.1 (C-20), 29.9 (C-34'), 28.6 (C-21'), 24.9 (C-33'), 22.9 (C-27), 19.6 (C-9'), 12.3 (C-22'), 8.66 (C-21)

HRMS (ESI) : calculated for $C_{58}H_{73}N_6O_{14}$ [M+H]⁺: 1077.5179, found : 1077.5258

[α]_D = -21 (CHCl₃, c = 0.1)

COMPOUND 375



General procedure D (Method 2) was followed using $NaBH(OAc)_3$ (2.8 mg, 0.015 mmol, 3 eq.) and enaminoester **372** (5.4 mg, 0.005 mmol, 1 eq.) in dichloromethane (0.1 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 4 hours at 0 °C. The resulting mixture was diluted with dichloromethane and washed with a saturated sodium carbonate solution. Solvent removal under reduced pressure provided aminoester **375** (3 mg, 51% yield) as a white powder.

1H NMR (600 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.64 (s, 1H, H-17'), 7.81 (d, $J=8.3$ Hz, 1H, H-28'), 7.35 (d, $J=8.3$ Hz, 1H, H-12'), 7.16 (d, $J=8.3$ Hz, 1H, H-15'), 7.12 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, H-37'), 7.01 (t, $J=8.3$ Hz, 1H, H-14'), 6.90 (t, $J=8.3$ Hz, 1H, H-13'), 6.79 (s, 1H, H-14), 6.27 (s, 1H, H-17), 5.78 (dd, $J=10.5$ and 4.9 Hz, 1H, H-7), 5.35-5.31 (m, 1H, H-6), 5.17 (d, 1H, H-4), 5.07 (d, $J=5.5$ Hz, 1H, H-3'), 4.44-4.37 (m, 1H, H-35'), 4.29-4.25 (m, 1H, H-38'), 4.03-3.95 (m, 3H, H-1' β , H-8' and H-29' α), 3.83 (d, $J=3.7$ Hz, 1H, H-29' β), 3.78 (s, 3H, H-22), 3.68 (s, 3H, H-44'), 3.68 (s, 3H, H-25), 3.60 (s, 3H, H-26'), 3.56 (s, 1H, H-2), 3.54-3.51 (m, 1H, H-32' α), 3.52 (s, 3H, H-24'), 3.45-3.40 (m, 2H, H-32' β), 3.37 (dd, $J=15.5$ and 5.1 Hz, 1H, H-20' β), 3.37-3.34 (m, 1H, H-8 β), 3.29-3.21 (m, 3H, H-7', H-9' β and H-1' α), 3.15 (d, 1H, $H=14.8$ Hz, H-5' β), 2.94 (s, 1H, H-19), 2.78 (d, $J=14.8$ Hz, 1H, H-5' α), 2.77 (d, $J=15.4$ Hz, 1H, H-8 α), 2.30-2.27 (m, 1H, H-9' α), 2.00-1.95 (m, 2H, H-11), 1.94 (s, 3H, H-27), 1.94-1.89 (m, 4H, H-33' and H-34'), 1.89-1.83 (m, 3H, H-10 and H-20' α), 1.83-1.80 (m, 2H, H-21'), 1.80-1.74 (m, 1H, H-39'), 1.57-1.51 (m, 1H, H-20 β), 1.40-1.34 (m, 1H, H-40' α), 1.34-1.29 (m, 1H, H-20 α), 1.24 (s, 1H, H-2'), 1.06-1.02 (m, 1H, H-40' β), 0.88 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, H-22'), 0.85-0.75 (m, 6H, H-41' and H-42'), 0.58 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, H-21)

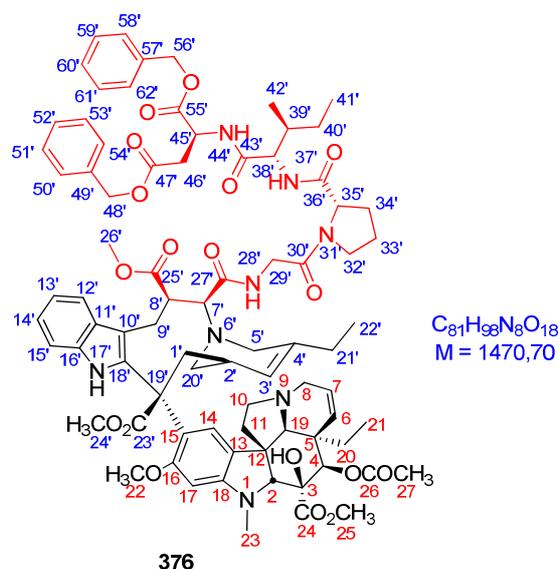
^{13}C NMR (150 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 176.0 (C-23'), 175.6 (C-24), 173.8 (C-43'), 173.1 (C-25'), 172.5 (C-36'), 171.1 (C-26), 168.4 (C-30'), 164.8 (C-27'), 159.1 (C-16), 154.0 (C-18), 140.7 (C-4'), 136.7 (C-16'), 131.8 (C-18'), 131.2 (C-6), 129.6 (C-11'), 125.5 (C-15), 126.0 (C-14), 124.5 (C-7), 123.3 (C-13), 123.6 (C-3'), 122.9 (C-14'), 120.0 (C-12'), 119.6 (C-13'), 109.2 (C-10'), 94.4 (C-17),

83.4 (C-2), 81.8 (C-3), 77.2 (C-4), 69.6 (C-7'), 65.9 (C-19), 60.5 (C-35'), 58.0 (C-8'), 57.8 (C-38'), 57.1 (C-19'), 56.8 (C-22), 54.5 (C-12), 52.7 (C-24'), 52.6 (C-44'), 52.6 (C-25), 52.5 (C-26'), 51.1 (C-8), 50.9 (C-10), 50.6 (C-5'), 49.4 (C-20'), 47.3 (C-32'), 44.4 (C-11), 43.8 (C-5), 42.3 (C-29'), 38.5 (C-23), 37.6 (C-40'), 37.5 (C-1'), 36.8 (C-2'), 31.1 (C-20), 29.6 (C-34'), 28.5 (C-21'), 25.6 (C-33'), 22.9 (C-27), 20.0 (C-9'), 16.1 (C-42'), 12.1 (C-41'), 11.9 (C-22'), 8.66 (C-21)

HRMS (ESI) : calculated for $C_{64}H_{84}N_7O_{15}$ [M+H]⁺: 1190.6020, found: 1190.6141

[α]_D = -32 (CHCl₃, c = 0.1)

COMPOUND 376



General procedure D (Method 2) was followed using $NaBH(OAc)_3$ (2.8 mg, 0.015 mmol, 3 eq.) and enaminoester **373** (6.8 mg, 0.005 mmol, 1 eq.) in dichloromethane (0.1 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 4 hours at 0 °C. The resulting mixture was diluted with dichloromethane and washed with a saturated sodium carbonate solution. Solvent removal under reduced pressure provided pure aminoester **376** (6.8 mg, 93% yield) as a white powder.

1H NMR (600 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 8.65 (s, 1H, H-17'), 7.38-7.30 (m, 11H, H-12', H-50'-H-54' and H-58'-H-62'), 7.26-7.20 (m, 1H, H-44'), 7.19 (d, $J=7.1$ Hz, 1H, H-15'), 7.02 (t, $J=7.1$ Hz, 1H, H-14'), 7.00-6.99 (m, 1H, H-28'), 6.92 (t, $J=7.1$ Hz, 1H, H-13'), 6.79 (s, 1H, H-14), 6.28 (s, 1H, H-17), 6.21-6.15 (m, 1H, H-37'), 5.79 (dd, $J=10.4$ and 4.9 Hz, 1H, H-7), 5.30 (d, $J=10.4$ Hz, 1H, H-6), 5.19 (s, 1H, H-4), 5.13-5.01 (m, 5H, H-3', H-48' and H-56'), 4.84-4.79 (m, 1H, H-45'), 4.41-4.34 (m, 3H, H-9' and H-35'), 4.24-4.16 (m, 2H, H-29'), 4.05-3.99 (m, 3H, H-1' β and H-20'), 3.89 (s, 3H, H-22), 3.70 (s, 3H, H-25), 3.69 (s, 3H, H-26'), 3.60-3.54 (m, 1H, H-32' α), 3.55 (s, 1H, H-2), 3.52 (s, 3H, H-24'), 3.50-3.42 (m, 1H, H-32' β), 3.30-3.25 (m, 2H, H-5' β and H-1' α), 3.20-3.15 (m, 1H, H-11 α), 2.92-2.85 (m, 3H, H-46' and H-8 β), 2.82 (s, 1H, H-19), 2.71-2.57 (m, 4H, H-5' α , H-39' and H-10), 2.48-2.45 (m, 1H, H-11 β), 2.20-2.15 (m, 1H, H-8 α), 2.07-2.05 (m, 1H, H-33' α), 1.98-1.91 (m, 4H, H-23, H-33' β), 1.88-1.79 (m, 2H, H-34'), 1.75-1.70 (m, 2H, H-21'), 1.41-1.33 (m, 1H, H-20 α), 1.27 (s, 3H, H-27), 1.21-1.18 (m, 1H, H-2'), 1.11-1.05 (m, 1H, H-20 β), 0.88 (q, $J=6.7$ Hz, 2H, H-40'), 0.85-0.77 (m, 4H, H-41' and H-42'), 0.76 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, H-22'), 0.63 (t, $J=8.1$ Hz, 3H, H-21)

^{13}C NMR (150 MHz, CD_3CN): δ (ppm) 176.1 (C-23'), 175.1 (C-43'), 173.2 (C-24), 171.7 (C-36'), 171.1 (C-25'), 171.4 (C-47' and C-55'), 170.8 (C-26), 167.3 (C-27'), 167.0 (C-30'), 159.5 (C-16), 153.6 (C-18), 140.7 (C-4'), 134.3 (C-16'), 130.8 (C-18'), 130.4 (C-6), 129.0 (C-11'), 128.7, 128.6, 128.5 (C-49'-C-54' and H-57'-H-62'), 125.1 (C-14), 124.6 (C-15), 124.2 (C-7), 122.7 (C-13),

123.2 (C-3'), 122.7 (C-15'), 121.7 (C-14'), 118.7 (C-12'), 118.6 (C-13'), 111.2 (C-10'), 93.3 (C-17), 82.7 (C-2), 79.9 (C-3), 76.3 (C-4), 67.1 (C-48'), 66.4 (C-56'), 66.2 (C-7'), 64.5 (C-19), 60.4 (C-35'), 58.0 (C-8'), 57.5 (C-38'), 55.3 (C-19'), 55.1 (C-23), 54.0 (C-20'), 53.9 (C-12), 53.0 (C-25), 52.5 (C-24'), 52.3 (C-26'), 50.9 (C-8), 50.3 (C-10), 50.1 (C-5'), 48.7 (C-45'), 46.4 (C-11), 46.3 (C-32'), 43.4 (C-5), 42.1 (C-29'), 38.0 (C-39'), 37.9 (C-23), 37.5 (C-1'), 36.0 (C-2'), 35.9 (C-46'), 31.2 (C-20), 28.3 (C-34'), 27.5 (C-21'), 24.3 (C-9'), 23.9 (C-40'), 21.5 (C-33'), 16.2 (C-42'), 12.9 (C-41'), 11.3 (C-22'), 11.0 (C-40'), 9.3 (C-21)

HRMS (ESI): calculated for $C_{81}H_{99}N_8O_{18}$ [M+H]⁺: 1471.7072, found: 1471.7134

[α]_D = -36 (CHCl₃, c = 0.1)

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

1. Ferlay, J., Steliarova-Foucher, E., Lortet-Tieulent, J., Rosso, S., Coebergh, J. W. W., Comber, H., Forman, D., Bray, F. *Eur. J. Cancer*, **2013**, *46*, 1374-1403
2. Schmidt, M., Bastians, H. *Drug Resistance Updates*, **2007**, *10*, 162-181
3. Teicher, A. *Clin. Cancer Res.*, **2008**, *14*, 1610-1617
4. Stanton, R. A., Gernert, K. M., Nettles, J. H., Aneja, R. *Med. Res. Rev.*, **2011**, *31*, 443-481
5. <http://edusofad.com/www/demo/wged-scp/demo/scie1m01a3.php> consulté le 29/08/2013
6. (a) Warsch, S., Montero, A. J., Glück, S. *Curr. Breast Cancer Rep.*, **2012**, *4*, 75-82 (b) Cortes, J., Vidal, M. *Breast Cancer Res. Treat.*, **2012**, *133*, 821-830 (c) Dumontet, C., Jordan, M. A. *Nat. Rev. Drug Disc.*, **2010**, *9*, 790-803 (d) Carlson, R. O. *Expert Opin. Investig. Drugs*, **2008**, *17*, 707-722
7. Jordan, M. A., Wilson, L. *Nat. Rev. Cancer*, **2004**, *4*, 253-265
8. Mitchison, T., Kirschner, M. *Nature*, **1984**, *312*, 237-242
9. Honore, S., Pasquier, E., Braguer, D. *Cell. Mol. Life Sci.* **2005**, *62*, 3039-3056
10. Nogales, E., Wolf, S. G., Downing, K. H. *Nature*, **1998**, *393*, 199-204
11. Löwe, J., Li, H., Downing, K. H., Nogales, E. *J. Mol. Biol.*, **2001**, *313*, 1045-1057
12. (a) Amos, L. A. *Semin. Cell Dev. Biol.*, **2011**, *22*, 916-926 (b) Nogales, E., Wang, H.-W. *Curr. Opin. Cell Biol.*, **2006**, *18*, 179-184
13. (a) Howard, J., Hyman, A. A. *Nature*, **2003**, *422*, 753-758 (b) Coderch, C., Morreale, A., Gago, F., *Anti-cancer Agents Med. Chem.*, **2012**, 219-225
14. Kirschner, M. W. *J. Cell Biol.*, **1980**, *86*, 330-334
15. Thèse de Dr. B. Franco, Université de Montpellier I, **2007**
16. (a) Janke, C., Bulinski, J. C., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2011**, *12*, 773-786 (b) Westermann, S., Weber, K., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2003**, *4*, 938-947
17. (a) Calligaris, D., Verdier-Pinard, P., Devred, F., Villard, C., Braguer, D., Lafitte, D. *Cell. Mol. Life Sci.*, **2010**, *67*, 1089-1104 (b) Kavallaris, M. *Nat. Rev. Cancer*, **2010**, *10*, 194-204
18. Stephenson, J. J., Lewis, N., Martin, J. C., Ho, A., Li, J., Wu, K., Pace, L., Eder, J. P., Schwartz, G. K. *J. Clin. Oncol.*, **2008**, *26* (Suppl. 15), 2516
19. Puztai, L., Jeong, J.-H., Gong, Y., Ross, J. S., Kim, C., Paik, S., Rouzier, R., Andre, F., Hortobagyi, G. N., Wolmark, N., Symmans, W. F. *J. Clin. Oncol.*, **2009**, *27*, 4287-4292

20. Altieri, D. C. *Curr. Opin. Cell Biol.*, **2006**, *18*, 609-615
21. Rana, S., Maples, P. B., Senzer, N., Nemunaitis, J. *Expert Rev. Anticancer Ther.*, **2008**, *8*, 1461-1470
22. (a) Jordan, M. A., Kamath, K. *Curr. Cancer Drug Targets*, **2007**, *7*, 730-742 (b) Zhou, J., Giannakakou, P., *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents*, **2005**, *5*, 65-71
23. (a) Ganguly, A., Cabral, F. *Biochim. Biophys. Acta*, **2011**, *1816*, 164-171 (b) Ganguly, A., Yang, H., Cabral, F., *Mol. Cancer Ther.* **2010**, *9*, 2914-2923 (c) Yang, H., Ganguly, A., Cabral, F. *J. Biol. Chem.* **2010**, *285*, 32242-32250
24. Snyder, J. P., Nettles, J. H., Cornett, B., Downing, K. H., Nogales, E., *PNAS*, **2001**, *98*, 5312-5316
25.
<http://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/OfficeofMedicalProductsandTobacco/CDER/ucm216214.htm> consulté le 15/06/2013
26. <http://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm323668.htm> consulté le 15/06/2013
27. Cheng, K. L., Bradley, T., Budman, D. R. *Biologics*, **2008**, *2*, 789-811
28. Perez, E. A., Patel, T., Moreno-Aspitia, A. *Breast Cancer Res. Treat.*, **2010**, *121*, 261-271
29. Colombo, N., Kutarska, E., Dimopoulos, M., Bae, D. S., Rzepka-Gorska, I., Bidzinski, M., Scambia, G., Engelholm, S. A., Joly, F., Weber, D., El-Hashimy, M., Li, J., Souami, F., Wing, P., Engelholm, S., Bamias, A., Schwartz, P. *J. Clin. Oncol.*, **2012**, *30*, 3841-3847
30. Beer, T. M., Smith, D.C., Hussain, A., Alonso, M., Wang, J., Giurescu, M., Roth, K., Wang, Y. *Br. J. Cancer.*, **2012**, *107*, 808-813
31. Chen, S. M., Meng, L. H., Ding, J. *Expert Opin. Investig. Drugs*, **2010**, *19*, 329-343
32. Jimenez-Barbero, J., Canales, A., Northcote, P.T., Buey, R.M., Andreu, J.M., Diaz, J.F. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8757-8765
33. (a) Bennett, M. J., Barakat, K., Huzil, J. T., Tuszynski, J., Schriemer, D. C. *J. Chem. Biol.*, **2010**, *17*, 725-734 (b) Nguyen, T. L., Xu, X., Gussio, R., Ghosh, A. K., Hamel, E. *J. Chem. Inf. Model.*, **2010**, *50*, 2019-2028 (c) Huzil, J. T., Chik, J. K., Slysz, G. W., Freedman, H., Tuszynski, J., Taylor, R. E., Sackett, D. L., Schriemer, D. C. *J. Mol. Biol.*, **2008**, *378*, 1016-1030
34. (a) Singh, A. J., Xu, C.-X., Xu, X., West, L. M., Wilmes, A., Chan, A., Hamel, E., Miller, J. H., Northcote, P. T., Ghosh, A. K. *J. Org. Chem.*, **2010**, *75*, 2-10 (b) Zhao, Z., Taylor, R. E. *Org. Lett.*, **2012**, *14*, 669-671

35. Ravelli, R. B. G., Gigant, B., Curmi, P. A., Jourdain, I., Lachkar, S., Sobel, A., Knossow, M. *Nature*, **2004**, *428*, 198-202
36. Garland, D. L. *Biochemistry*, **1978**, *17*, 4266-4272
37. Bhattacharyya, B. Panda, D., Gupta, S., Banerjee, M., *Med. Res. Rev.*, **2008**, *28*, 155-183
38. <http://www.entremed.com/clinic/> consulté le 13/06/2013
39. Rudin, C. M., Mauer, A., Smakal, M., Juergens, R., Spelda, S., Wertheim, M., Coates, A., McKeegan, E., Ansell, P., Zhou, X., Qian, J., Pradhan, R., Dowell, B., Krivoschik, A., Gordon, G. *J. Clin. Oncol.*, **2011**, *29*, 1075-1082
40. <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01113970> consulté le 13/06/2013
41. Mooney, C. J., Nagaiah, G., Fu, P., Wasman, J. K., Cooney, M. M., Savvides, P. S., Bokar, J. A., Dowlati, A., Wang, D., Agarwala, S. S., Flick, S. M., Hartman, P. H., Ortiz, J. D., Lavertu, P. N., Remick, S. C. *Thyroid*, **2009**, *19*, 233-240
42. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00892931> consulté le 13/06/2013
43. <https://www.sanofioncology.com/pipeline/ombrabulin.aspx> consulté le 13/06/2013
44. Naik, P. K., Santoshi, S., Rai, A., Joshi, H. C. *J Mol Graph Model*, **2011**, *29*, 947-955
45. <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00912899> consulté le 15/06/2013
46. (a) Gigant, B., Wang, C., Ravelli, R. B. G., Roussi, F., Steinmetz, M. O., Curmi, P. A., Sobel, A., Knossow, M. *Nature*, **2005**, *435*, 519-522 (b) Cormier, A., Knossow, M., Wang, C., Gigant, B. *Meth. Cell. Biol.*, **2010**, *95*, 373-390
47. Bellmut, J., Théodore, C., Demkov, T., Komyakov, B., Sengelov, L., Daugaard, G., Caty, A., Carles, J., Jagiello-Gruszfeld, A., Karyakin, O., Delgado, F. M., Hurteloup, P., Winkvist, E., Morsli, N., Salhi, Y., Culine, S., von der Maase, H. *J. Clin. Oncol.*, **2009**, *27*, 4454-4461
48. (a) Seligmann, J., Twelves, C. *Future Med. Chem.*, **2013**, *5*, 339-352 (b) Smith, J. A., Wilson, L., Azarenko, O., Zhu, X., Lewis, B. M., Littlefield, B. A., Jordan, M. A. *Biochemistry*, **2010**, *49*, 1331-1337
49. <http://www.halaven.com/hcp/moa.aspx> consulté le 14/06/2013
50. Boukari, H., Sackett, D. L., Schuck, P., Nossal, R. J. *Biopolymers*, **2007**, *86*, 424-436
51. Edgar, J. A., WO/0122986 A1
52. Bai, R., Pettit, G. R., Hamel, E. *Biochem. Pharmacol.*, **1990**, *39*, 1941-1949
53. Hamel, E. *Med. Res. Rev.*, **1996**, *16*, 207-231

54. Cormier, A., Marchand, M., Ravelli, R. B. G., Knossow, M., Gigant, B. *EMBO reports*, **2008**, *9*, 1101-1106
55. Mackay, M. F., Van Donkelaar, A., Culvenor, C. J. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1986**, 1219-1221
56. (a) Cao, B., Oark, H., Joullié, M. M. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 520-521 (b) Nakata, H., Sawayama, A. M., Wandless, T. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 6864-6865 (c) Mutoh, R., Shirai, R., Koiso, Y., Iwasaki, S. *Heterocycles*, **1995**, *41*, 9-12 (d) Li, P., Evans, C. D., Forbeck, E. M., Park, H., Bai, R., Hamel, E., Joullié, M. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 4804-4807 (e) Takahashi, M., Shirai, R., Koiso, Y., Iwasaki, S. *Heterocycles*, **1998**, *47*, 163-166
57. (a) Stohlmeyer, M. M., Tanaka, H., Wandless, T. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 6100-6101 (b) Shangguan, N., Joullié, M. *Tetrahedron, Lett.*, **2009**, *50*, 6748-6750
58. Laïb, T., Zhu, J. *Synlett.*, **2000**, 1363-1365
59. Lacey, E., Edgar, J. A., Culvenor, C. C. *J. Biochem. Pharmacol.*, **1987**, *36*, 2133-2138
60. Morisaki, N., Mitsui, Y., Yamashita, Y., Koiso, Y., Shirai, R., Hashimoto, Y., Iwasaki, S. *J. Antibiotics*, **1998**, *51*, 423-427.
61. <http://www.drugs.com/history/istodax.html> consulté le 14/06/2013
62. Bai, R., Taylor, G. F., Cichacz, Z.A., Herald, C. L., Kepler, J. A., Pettit, G. R., Hamel, E. *Biochemistry*, **1995**, *34*, 9714-9721
63. Watts, N. R., Cheng, N., West, W., Steven, A. C., Sackett, D. L. *Biochemistry*, **2002**, *41*, 12662-12669
64. Eissler, S., Bogner, T., Nahrwold, M., Sewald, N. *Chemistry*, **2009**, *15*, 11273-11287
65. Edelman, M. J., Gandara, D. R., Hausner, P., Israel, V., Thornton, D., DeSanto, J., Doyle, L. A. *Lung Cancer*, **2003**, *39*, 197-199
66. Ayrat-Kaloustian, S., Zhang, N., Beyer, C. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* **2009**, *31*, 443-447
67. (a) Tozer, G. M., Prise, V.E., Wilson, J., Cemazar, M., Shan, S., Dewhurst, M.W., Barber, P.R., Vojnovic, B., Chaplin, D.J. *Cancer. Res.*, **2001**, *61*, 6413-6422 (b) Hori, K., Saito, S., Kubota, K. *Br. J. Cancer*, **2002**, *86*, 1604-1614 (c) Galbraith, S. M., Maxwell, R. J., Lodge, M. A., Tozer, G. M., Wilson, J., Taylor, N. J., Stirling, J. J., Sena, L., Padhani, A. R., Rustin, G. J. S. *J. Clin. Oncol.*, **2003**, *21*, 2831-2842
68. Schwartz, E. L. *Clin. Cancer Res.*, **2009**, *15*, 2594-2601

69. (a) Abdollahi, A., Folkman, J. *Drug Resist. Update*, **2010**, *13*, 16-28 (b) Lippert, J. W. *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 605-615 (c) Tozer, G. M., Kanthou, C., Baguley, B. C. *Nature Rev. Cancer*, **2005**, *5*, 423-435
70. (a) Pluchino K. M., Hall, M. D. Goldsborough, A. S. Callaghanb, R. Gottesman, M.M. *Drug Resist. Update*, **2012**, *15*, 98-105 (b) Fojo, A. T., Menefee, M. *Semin. Oncol.*, **2005**, *32*, S3-S8
71. Don, S., Verrills, N. M., Liaw, T. Y. E., Liu, M. L. M., Norris, M. D., Haber, M., Kavallaris, M. *Mol. Cancer, Ther.*, **2004**, *3*, 1137-1146
72. Shoemaker, A. R., Oleksijew, A., Bauch, J., Belli, B. A., Borre, T., Bruncko, M., Deckwirth, T., Frost, D. J., Jarvis, K., Joseph, M. K., Marsh, K., McClellan, W., Nellans, H. Ng, S., Nimmer, P., O'Connor, J. M., Oltersdorf, T., Qing, W., Shen, W., Stavropoulos, J., Tahir, S. K., Wang, B., Warner, R., Zhang, H., Fesik, S. W., Rosenberg, S. H., Elmore, S. E. *Cancer Res.*, **2006**, *66*, 8731-8739
73. Canta, C., Chirazzi, A., Cavaletti, G. *Curr. Med. Chem.*, **2009**, *16*, 1315-1324
74. Wozniak, K. M. *et al. Proc. Annu. Meet. Am. Assoc. Cancer Res. Abstr.*, **2010**, 4438
75. Wienecke, A., Bacher, G. *Cancer Res.*, **2009**, *69*, 171-177
76. Rao, V. K., Knutsen, T., Ried, T., Wangsa, D., Flynn, B. M., Langham, G., Egorin, M. J., Cole, D., Balis, F., Steinberg, S. M., Bates, S., Fojo, T. *Mutat. Res.*, **2005**, *583*, 105-119
77. Honore, S., Kamath, K., Braguer, D., Horwitz, S. B., Wilson, L., Briand, C., Jordan, M. A., *Cancer Res.* **2004**, *64*, 4957-4964
78. Noble, R. L., Beer, C. T., Cutts, J. H. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1958**, *76*, 882-894
79. Johnson, I. S., Wright, H. F., Svoboda, G. H. *J. Lab. Clin. Med.*, **1959**, *54*, 830-838
80. Roussi, F., Guéritte, F., Fahy, J. *The Vinca Alkaloids in Anticancer Agents from Natural Products*, Eds; Taylor and Francis, **2012**
81. (a) Potier, P., Langlois, N., Langlois, Y., Guéritte, F. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1975**, 670-671 (b) Zavala, F., Guénard, D., Potier, P. *Experientia* **1978**, *34*, 1479-1480 (c) Kutney, J. P., Beck, J., Bylsma, F., Cretney, W. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, *90*, 4504-4505
82. Vukovic, J., Goodbody, A. E., Kutney, J. P., Misawa, M. *Tetrahedron*, **1988**, *44*, 325-331
83. Sagui, F., Chirivi, C., Fontana, G., Nicotra, S., Passarella, D., Riva, S., Danieli, B. *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 312-317
84. (a) Scott, A. I., Guéritte, F., Lee, S. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, *100*, 6253-6255 (b) Goodbody, A. E., Watson, C. D., Chapple, C. C. S., Vukovic, J., Misawa, M. *Phytochemistry*, **1988**, *27*, 1713-1717

85. Mangeney, P., Andriamioliosa, Z. R., Langlois, N., Langlois, Y., Potier, P. *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, *101*, 2243
86. Kutney, J.-P., Choi, L. S. L., Nakano, J., Tsukamoto, H., McHung, M., Boulet, C. A., *Heterocycles*, **1988**, *27*, 1845,
87. Shirahama, T., Kohno, T., Kaijima, T., Nagaoka, Y., Morimoto, D., Hirata, K., Uesato, S., *Chem. Pharm. Bull.*, **2006**, *54*, 665-668
88. Ishikawa, H., Colby, D. A., Seto, S., Va, P., Tam, A., Kakei, H., Rayl, T. J., Hwang, I., Boger, D. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 4904-4916
89. Yokoshima, S., Ueda, T., Kobayashi, S., Sato, A., Kuboyama, T., Tokuyama, H., Fukuyama, T. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 2137-2139
90. Miyazaki, T., Yokoshima, S., Simizu, S., Osada, H., Tokuyama, H., Fukuyama, T. *Org. Lett.*, **2007**, *9*, 4737-4740
91. (a) Ishikawa, H., Elliott, G. I., Velcicky, J., Choi, Y., Boger, D. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 10596-10612 (b) Choi, Y., Ishikawa, H., Velcicky, J., Elliott, G. I., Miller, M. M., Boger, D. L. *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 4539-4542
92. (a) O'Connor, S. E., Alkaloid Biosynthesis. in: Encyclopedia of Chemical Biology. WileyBlackwell, T. Begley Ed., **2008** (b) Costa, M. M. R., Hilliou, F., Duarte, P., Pereira, L. G., Almeida, I., Leech, M., Memelink, J., Ros Barceló, A., Sottomayor, M. *Plant Physiol.*, **2008**, *146*, 403-417 (c) El-Sayed, M., Verpoorte, R. *Phytochem. Rev.*, **2007**, *6*, 277-305 (d) Van der Heijden, R., Jacobs, D. I., Snoeijs, W., Hallared, D., Verpoorte, R., *Curr. Med. Chem.*, **2004**, *11*, 607-628
93. Keglevich, P., Hazai, L., Kalaus, G., Szántay, C. *Molecules*, **2012**, *17*, 5893-5914
94. Szantay, C., Szabo, L., Honty, K., Keve, T., Acs, T., Eckhardt, S., Sugar, J., Somafai, Z., Iva, E., Knaffel, Z. Eur. Patent No. 205,169 A2 861,217 ; *Chem. Abstr.* **1987**, *107*, 023569
95. (a) Hu, L., Song, W., Meng, Y., Guo, D., Liu, X., Hu, L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2012**, *22*, 7547-7550 (b) Shao, Y., Zhang, H-K., Ding, H., Quan, H.-T., Lou, L.-G., Hu, L.-H. *J. Nat. Prod.*, **2009**, *72*, 1170-1177 (c) Li, W., Shao, Y., Hu, L., Zhang, X., Chen, Y., Tong, L., Li, C., Shen, X., Ding, J. *Cancer Biol. Ther.*, **2007**, *6*, 787-794
96. Va, P., Campbell, E. L., Robertson, W. M., Boger, D. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 8489-8495
97. Schleicher, K. D., Sasaki, Y., Tam, A., Kato, D., Duncan, K. K., Boger, D. L. *J. Med. Chem.*, **2013**, *56*, 483-495
98. (a) Fahy, J. *Curr. Pharm. Des.*, **2001**, *7*, 1181-1197 (b) Duflos, A., Kruczynski, J.-M., Barret, A., *Curr. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents*, **2002**, *2*, 55-70

99. Voss, M. E., Ralph, J. M., Xie, D., Manning, D. D., Chen, X., Frank, A. J., Leyhane, A. J., Liu, L., Stevens, J. M., Budde, C., Surman, M. D., Friedrich, T., Peace, D., Scott, I. L., Wolf, M., Johnson, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19*, 1245-1249
100. Lei, X. S., Yu, X. D., Yin, L., Liu, Z. H., Tang, P. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, *18*, 4602-4605
101. Gotoh, H., Duncan, K. K., Roberston, W. M., Boger, D. L., *ACS Med. Chem.*, **2011**, *2*, 948-952
102. Wolf, M. A., Johnson, R. K., Xie, D., Avrutsakaya, A., Mullin, R., Godfrey, B., Mead, M. A., Trachet, E. E., Leopold, W. R., Guzzo, P., Scott, I. *Mol. Cancer Ther.* **2009**, *8* (12 Suppl), C232
103. http://www.amriglobal.com/news_and_publications/news_detail.cfm?ID=251 consulté le 17/06/2013
104. Mangeney, P., Andriamioliosa, Z. R., Langlois, N., Langlois, Y., Potier, P. *Tetrahedron*, **1979**, *35*, 2175-2179
105. Guéritte, F., Pouilhes, A., Mangeney, P., Andriamialisoa, R. Z., Langlois, N., Langlois, Y., Potier, P. *Eur. J. Med. Chem.*, **1983**, *18*, 419-424
106. (a) Fumoleau, P., Delgado, F. M., Delozier, T., Monnier, A., Gil Delgado, M. A., Kerbrat, P., Garcia-Giralt, E., Keiling, R., Namer, M., Closon, M. T. *J. Clin. Oncol.*, **1993**, *11*, 1245-1252 (b) Gregory, R.K, Smith, I. E., *Br. J. Cancer*, **2000**, *82*, 1907-1913
107. Guéritte, F., Pouilhes, A., Mangeney, P., Andriamialisoa, R. Z., Langlois, N., Langlois, Y., Potier, P. *Eur. J. Med. Chem.*, **1983**, *18*, 419
108. Kuehne, M. E., Matson, P. A., Bornmann, W. G. *J. Org. Chem.*, **1991**, *56*, 513-528
109. Kuehne, M. E., Cowen, S. D., Xu, F., Borman, L. S. *J. Org. Chem.*, **2001**, *66*, 5303-5316
110. Kuehne, M. E., Qin, Y., Huot, A. E., Bane, S. L. *J. Org. Chem.*, **2001**, *66*, 5317-5328
111. Fahy, J., Thillaye du Boullay, V., Bigg, D. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2002**, *12*, 505-507
112. Turner, T. C., Shibayama, K., Boger, D. L. *Org. Lett.*, **2013**, *15*, 1100-1103
113. Borman, L. S., Kuehne, M. E. *Biochem. Pharmacol.*, **1989**, *38*, 715-724
114. Silvestri, R. *J. Med. Chem.*, **2013**, *56*, 625-627
115. Leggans, E. K., Ducan, K. K., Barker, T. J., Schleicher, K. D., Boger, D. L. *J. Med. Chem.*, **2013**, *56*, 628-639
116. (a) Kuehne, M. E., Bornman, W. G., Markó, I., Qin, Y., LeBoullec, K. L., Frasier, D. A., Xu, F., Mulamba, T., Ensinger, C. L., Borman, L. S., Huot, A. E., Exon, C., Bissarro, F. T., Cheung, J. B., Bane, S. L. *Org. Biomol. Chem.*, **2003**, *1*, 2120-2136 (b) Parish, C. A., Dong, J. G., Bornman, W. G., Chang, J., Nakanishi, K., Berova, N. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 15739-15758

117. Fahy, J., Duflos, A., Jacquesy, J. C., Berrier, C., Jouannetaud, M. P., Zunino, F. *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 8576-8577
118. Discours B. Meunier, Chimie et Santé au Service de l'Homme, Colloque de la Fondation de la Maison de Chimie, 1er octobre **2008**
119. (a) Morphy R.; Rankovic Z. *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 6523-6543 (b) Cavalli, A., Bolognesi, M. L., Minarini, A., Rosini, M., Tumiatti, V., Recanatini, M., Melchiorre, C. *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*, 347-372
120. Passarella, D., Giardini, A., Peretto, B., Fontana, G., Sacchetti, A., Silvani, A., Ronchi, C., Cappelletti, G., Cartelli, D., Borlak, J., Danieli, B. *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, *16*, 6269-6285
121. Brady, S. F., Pawluczyk, J. M., Lumma, P. K., Feng, D. M., Wai, J. M., Jones, R., DeFeo Jones, D., Wong, B. K., Miller Stein, C., Lin, J. H., Oliff, A., Freidinger, R. M., Garsky, V. M. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4706-4715
122. Vlahov, I. R., Santhapuram, H. K. R., Klein, P. J., Howard, S. J., Stanford, K. M., Leamon, C. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 5093-5096
123. Reddy, J. A., Dorton, R., Westrick, E., Dawson, A., Smith, T., Xu, L.-C., Vetzels, M., Kleindl, P., Vlahov, I. R., Leamon, C. P. *Cancer Res.*, **2007**, *9*, 4434
124. (a) Vlahov, I. R., Leamon, C. P. *Bioconjugate Chem.*, **2012**, *23*, 1357-1369 (b) Pribble, P. Edelman, M. J. *Expert Opin. Investig. Drugs*, **2012**, *21*, 755-761
125. Leamon, C. P., Reddy, J. A., Westrick, E., Dawson, A., Dorton, R., Vetzels, M., Santhapuram, H. K., Wang, Y. *Mol. Pharmaceutics*, **2007**, *4*, 659-667
126. <http://clinicaltrials.gov/show/NCT00852189> consulté le 06/06/2013
127. Leamon, C. P., Reddy, J. A., Klein, P. J., Vlahov, I., Loomfield, A., Nelson, M., Westrick, E., Parker, N., Bruna, K., Vetzels, M., Gehrhe, M., Nicoson, J. S., Messmann, R. A., LoRusso, P. M., Sausville, E. A. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2011**, *336*, 336-343
128. Ngo, Q. A., Roussi, F., Cormier, A., Thoret, S., Knossow, M., Guénard, D., Guéritte, F. *J. Med. Chem.*, **2009**, *52*, 134-142
129. Ngo, Q. A., Roussi, F., Thoret, S., Guéritte, F. *Chem. Biol. Drug Des.*, **2010**, *75*, 284-294
130. Rannoux, C., Roussi, F., Martin, M.-T., Guéritte, F., *Org. Biomol. Chem.*, **2011**, *9*, 4873-4881
131. Stevens, T. S., Creighton, E. M., Gordon, A. B., MacNicol, M. *J. Chem. Soc.*, **1928**, 3193-3197
132. Vanecko, J. A., Wan, H., West, F. G. *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 1043-1062
133. Ghigo, G., Cagnina, S., Maranzana, A., Tonachini, G. *J. Org. Chem.*, **2010**, *75*, 3608-3617

134. (a) Hill, R. K., Chan, T. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, *88*, 866-867 (b) Marko, I. E. dans Trost, B. M., Flemming, I. Eds., *Comprehensive Organic Synthesis*, Pergamon : Oxford, **1991**, Vol. 3, 913-973
135. (a) Baldwin, J. E., Hackler, R. E., Kelly, D. P. *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, *90*, 4758-4759 (b) Baldwin, J. E., Hackler, R. E., Kelly, D. P. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1968**, 537-538 (c) Baldwin, J. E., Hackler, R. E., Kelly, D. P. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1968**, 899-900
136. (a) Hayashi, Y., Oda, R. *Tetrahedron Lett.*, **1968**, 5381-5384 (b) Ratts, K. W., Yao, A. N. *J. Org. Chem.*, **1968**, *33*, 70-75
137. Frey, L. P. A., Van Hove, L. *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **1960**, *69*, 79-94
138. Valpuesta, M., Diaz, A., Suau, R., Torres, G. *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, *21*, 4313-4318
139. Sun, M., Lu, T., Wang, Y., Yang, H., Liu, H. *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 2213-2216
140. (a) Vedejs, E., West, F. G. *J. Org. Chem.*, **1983**, *48*, 4773-4775 (b) Sato, Y., Yagi, Y., Koto, M. *J. Org. Chem.*, **1980**, *45*, 613-617
141. (a) Ando, W. *Acc. Chem. Res.*, **1977**, 179 (b) Doyle, M. P. *Acc. Chem. Res.*, **1986**, *19*, 348. (c) Padwa, A., Weingarten, M. D. *Chem. Rev.*, **1996**, *96*, 223-269 (d) Padwa, A. Beall, L. S., Eidell, C. K., Worsencroft, K. J. *J. Org. Chem.*, **2001**, *66*, 2414-2421 (e) Honda, K., Shibuya, H., Yasui, H., Hoshino, Y., Inoue, S. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2008**, *81*, 142-147
142. Walker, M. A. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *45*, 8133-8136.
143. Tuzina, P., Somfai, P. *Org. Lett.*, **2009**, *11*, 919-921
144. Ngo, Q. A., Roussi, F., Thoret, S., Guéritte, F. *Tetrahedron Lett.*, **2012**, *53*, 5821-5823
145. e-EROS Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis
146. Guéritte, F., Pouilhès, A., Mangeney, P., Andriamialisoa, R. Z., Langlois, N., Langlois, Y., Potier, P. *Eur. J. Med. Chem.-Chim. Ther.*, **1983**, *18*, 419-424
147. Chen, J., Liu, B., Liu, D., Liu, S., Cheng, J. *Adv. Synt. Catal.*, **2012**, *354*, 2438-2442
148. (a) Xia, Z., Long, S., Xiao, S., Zou, X., D'Aurizio, A., Panunzio, M. *Synth. Comm.*, **2009**, *39*, 2151-2160 (b) Hanessian, S., Rozema, M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 9884-9891 (c) Seki, M., Kondo, K., Iwasaki, T. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1995**, 3-5
149. Ephritikhine, M. *Chem. Comm.*, **1998**, 2549-2554
150. Fürstner, A., Hupperts, A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 4468-4475
151. (a) Palmieri, A., Petrini, M., Shaikh, R. R., *Org. Biomol. Chem.*, **2010**, *8*, 1259-1270 (b) Williams, R. M., Cao, J., Tsujishima, H., Cox, R. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 12172-12178

152. Jones, D., Artman, G. D., Williams, R. M. *Tetrahedron Lett.*, **2007**, *48*, 1291-1294
153. Somei, M., Karasawa, Y., Kaneko, C. *Heterocycles*, **1981**, *16*, 941-949
154. (a) Kametani, T., Kanaya, N., Ihara, M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1981**, 959-963 (b) Kametani, T., Huang, S. P., Nagahara, T., Yokohama, S., Ihara, M. *Ibid*, 964-968 (c) Kametani, T., Kanaya, N., Ihara, M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, *102*, 3972-3975
155. (a) Rainier, J. D., Kennedy, A. R. *J. Org. Chem.*, **2000**, *65*, 6213-6216 (b) Low, K. H., Magodemov, N. A. *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 2003-2005
156. Dubey, N., Olenyuk, B. *Tetrahedron Lett.*, **2010**, *51*, 609-612
157. Mesequer, B., Alonso-Diaz, D., Griebenow, N., Herget, T., Waldmann, H. *Chem. Eur. J.*, **2000**, *6*, 3943-3957
158. Hogan, I., Jenkins, P., Sainsbury, M. *Tetrahedron*, **1990**, *46*, 2943-2964
159. Low, K. H., Magomedov, N. A. *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 2003-2005
160. (a) Moyano, A., Rios, R. *Chem. Rev.*, **2011**, *111*, 4703-4832 (b) Alba, A. N., Companyó, X., Viciano, M., Rios, R. *Curr. Org. Chem.*, **2009**, *13*, 1432-1474 (c) Bertelsen, S., Jørgensen, K. A. *Chem. Soc. Rev.*, **2009**, *38*, 2178-2189 (d) MacMillan, D. W. C. *Nature*, **2008**, *455*, 304-308 (e) Dondoni, A., Massi, A. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, *47*, 4638-4660 (f) Melchiorre, P., Marigo, M., Carlone, A., Bartoli, G. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, *47*, 6138-6171
161. Mukherjee, S., Yang, J. W., Hoffmann, S., List, B. *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, 5471-5569
162. Spletstoser, J. T., White, J.; M., Tunoori, A. R., Georg, G. I. *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 3408-3419
163. Campagnone, R., Rapoport, H. *J. Org. Chem.*, **1986**, *51*, 1713-1719
164. Dess, D. B., Martin, J. C. *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 7277-7287
165. Gherbovet, O., Coderch, C., García Alvarez, M. C., Bignon, J., Thoret, S., Martin, M.-T., Guéritte, F., Gago, F., Roussi, F. *J. Med. Chem.*, **2013**, *56*, 6088-6100
166. Voskressensky, L. G., Borisova, T. N., Kulikova, L. N., Varlamov, A. V., Catto, M., Altomare, C., Carotti, A. *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, 3128-3135
167. Jiang, S., Janousek, Z., Viehe, H. G. *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 1185-1188
168. Weber, D., Heller, E., Hoenke, C., Hörer, S., Bäuerle, P., Austel, V. *Synthesis*, **2005**, *14*, 2357-2366
169. Austin, D., J., Nguyen, V.-A. A., Pupowicz, D., Deisseroth, A., Wang, T., Lerma, E., US 7304092B1

170. (a) Alami, M., Liron, F., Gervais, M., Peyrat, J.-F., Brion, J.-D. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, *41*, 1578-1580 (b) Rubin, M., Trofimov, A., Gevorgyan, V. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 10243-10249
171. Rossiter, B. E., Swingle, N. M. *Chem. Rev.*, **1992**, *92*, 771-806
172. (a) De Boeck, B., Jiang, S., Janousek, Z., Viehe, H. G. *Tetrahedron*, **1994**, *50*, 7075-7092 (b) Jiang, S., Janousek, Z., Viehe, H. G. *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 1185-1188 (c) Bourgois, J., Tonnard, F., Texier, F., *Bull. Soc. Chem. Fr.*, **1976**, *11-12*, 2025-2030 (d) Bourgois, J., Mathieu, A., Texier, F. *J. Heterocyclic Chem.* **1984**, *21*, 513
173. (a) Irlapati, N. R., Baldwin, J. E., Adlington, R. M., Pritchard, G. J., Cowley, A., R. *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 4603-4614 (b) Irlapati, N. R., Baldwin, J. E., Adlington, R. M., Pritchard, G. J. *Org. Lett.*, **2003**, *5*, 2351-2354
174. Grohe, K. US4699992A1
175. Cimorelli, C., Palmieri, G. *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 5557-5563
176. Fustero, S., Pina, B., Salavert, E., Navarro, A., Ramírez de Arellano, M. C., Fuentes, A. S. *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*, 4667-4679
177. (a) Snyder, J. P. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 11025-11026 (b) Dinér, R., Nielsen, M., Marigo, M., Jørgensen, K. A. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 1983-1987 (c) Chen, Y. K., Yoshida, M., MacMillan, D. W. C. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 9328-9329
178. Huisgen, R. *J. Org. Chem.*, **1976**, *41*, 403-419
179. Sheedan, J. C., Cruickshank, P. A., Boshart, G. L. *J. Org. Chem.*, **1961**, *26*, 2525-2528
180. (a) König, W., Geiger, R. *Chem. Ber.*, **1970**, *103*, 788-798 (b) König, W., Geiger, R. *Chem. Ber.*, **1970**, *103*, 2024-2033
181. Thompson, C. F., Jamison, T. F., Jacobsen, E. N. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 9974-9983
182. Brevet US2010/173889A1, 2010
183. Collins, C. J., Lanz, M., Singaran, B. *Tetrahedron Lett.*, **1999**, *40*, 3673-3676
184. Nguyen, T. B., Sorres, J., Tran, M. Q., Ermolenko, L., Al-Mourabit, A. *Org. Lett.*, **2012**, *14*, 3202-3205
185. Chatterjee, A. K., Choi, T.-L., Sanders, D. P., Grubbs, R. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 11360-11370
186. Park, S. H., Kang, H. J., Ko, S., Park, S., Chang, S. *Tetrahedron : Asymmetry*, **2001**, *12*, 2621-2624

187. Coppola, G. M., Iwaki, Y., Karki, R. G., Kawanami, T., Ksander, G. M., Mogi, M., Sun, R. WO/2010/136474
188. Coppola, G. M., Damon, R. E. *Synth. Commun.*, **1993**, *23*, 2003-2010
189. Luo, T., Dai, M., Zhend, S.-L., Schreiber, S. L. *Org. Lett.*, **2011**, *13*, 2834-2836

La tubuline est une protéine essentielle de la cellule. En polymérisant sous forme de microtubules, elle crée notamment le fuseau mitotique le long duquel migrent les chromosomes pendant la mitose. Les médicaments qui inhibent la polymérisation et/ou la dépolymérisation de la tubuline sont des composés majeurs de la thérapie anticancéreuse. Les vinca-alcaloïdes en sont des représentants importants. Ils induisent la mort des cellules par apoptose, en inhibant la dynamique des microtubules. D'autres molécules d'origine naturelle, comme la phomopsine A, se fixent sur la tubuline à proximité ou dans le même site de fixation que celui des vinca-alcaloïdes. C'est la raison pour laquelle nous avons envisagé d'élaborer des composés antimitotiques hybrides entre la vinblastine et la phomopsine A.

Dans ce contexte, deux séries de composés ont été conçues. La première série d'hybrides correspondant à des dérivés de l'anhydrovinblastine fonctionnalisés en position 7'. Cependant, aucune des trois stratégies étudiées n'a permis d'accéder à ces composés.

La deuxième série d'hybrides, dérivés de la 7'-*homo*-anhydrovinblastine a pu être synthétisée grâce à une réaction originale d'insertion d'acétylènes activés au niveau du pont gramine de la vinorelbine, suivie d'une réduction avec un contrôle totale de la régio- et stéréosélectivité. Dans un premier temps, les réactions d'insertion et de réduction ont été mise au point. Ensuite, deux familles d'hybrides portant la chaîne latérale de l'octahydrophomopsine en position 8' ou 7' ont été synthétisés. La plupart des composés ainsi obtenus possèdent une excellente activité sur la tubuline et sont très cytotoxique.

Mots clés : tubuline, vinca-alcaloïdes, phomopsine, hybrides, gramine

Tubulin plays a key role in many cellular functions, like cell division. Microtubules, resulting from its polymerisation, form the mitotic spindle along which chromosomes migrate during mitosis. Tubulin-binding molecules are one of the most important classes of anti-cancer agents with major drugs already on the market and many promising compounds in clinical trials. Vinca-alkaloids are one of these antimitotic drugs inhibiting microtubules dynamics.

It was shown that the vinca binding site partially overlaps with that of others natural products, like phomopsin A. In order to explore the vinca domain and to elaborate new acute derivatives, we have elaborated antimitotic vinblastine-phomopsin hybrids.

We were interested in the synthesis of two series of hybrids. The first, corresponding to 7'-anhydrovinblastine derivatives could not be obtained. None of the three studied strategies lead to desired compounds.

The second series of hybrids, corresponding to fonctionnalized 7'-*homo*-anhydrovinblastine derivatives, could be synthetised by an original and regioselective insertion reaction, followed by a stereoselective reduction. Firstly, the isertion reaction was studied using different activated acetylenes. Then, two different families of hybrids were obtained, thanks to the selective insertion of the octahydrophomopsin lateral chain in position 8' or 7'. Almost all the compounds were highly active on tubulin and very cytotoxic.

Keywords : tubulin, vinca-alkaloids, phomopsin, hybrids, gramine

INSTITUT DE CHIMIE DES SUBSTANCES NATURELLES (ICSN-CNRS)

Av. de la Terrasse

91198 GIF-SUR-YVETTE

PÔLE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11

UFR «FACULTÉ DE PHARMACIE DE CHATENAY-MALABRY »

5, rue Jean Baptiste Clément

92296 CHÂTENAY-MALABRY