

La synthèse biomimétique de la bipléiophylline

Mimer la nature dans toute sa complexité

Résumé La bipléiophylline est un alcaloïde de structure complexe issu de l'ancrage de deux unités indoliques sur une plateforme aromatique. Au cours de l'étude de sa synthèse, une méthode biomimétique de couplage oxydant, permettant l'assemblage soit du motif benzofuro[2,3-*b*]indoline, soit du motif isochromano[3,4-*b*]indoline, a été développée. La méthode unifiée fait intervenir l'oxydation d'un *ortho*-diphénol en quinone par l'oxyde d'argent, suivie d'additions conjuguées d'indoles sur les accepteurs de Michael formés. Elle a été mise au point sur des composés indoliques simples, puis sur des substrats plus complexes d'origine naturelle afin d'en vérifier l'efficacité. Par cette méthode, la bipléiophylline et son précurseur la voacalgine A, dont la structure a été révisée, ont été synthétisés.

Mots-clés Alcaloïde, couplage oxydant, indole, phénol, synthèse biomimétique.

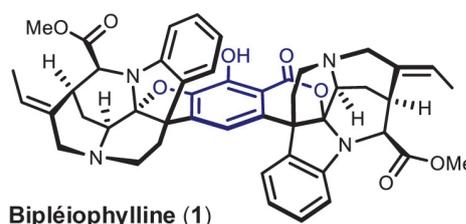
Abstract Biomimetic synthesis of bipleiophylline: copying the nature in all its complexity

Bipleiophylline is a complex alkaloid constituted of two indole subunits anchored on an aromatic spacer. During this study, a biomimetic oxidative coupling was developed, allowing synthesizing selectively either the benzofuro[2,3-*b*]indoline motif, either the isochromano[3,4-*b*]indoline motif. The unified method involved the oxidation of an *ortho*-diphenol into a quinone mediated by silver oxide, followed by conjugated additions of indoles onto intermediary Michael acceptors. The scope of the method was evaluated on simple indoles and then on complex natural substances. This way, bipleiophylline and its precursor voacalgine A, which structure was revised, were synthesized.

Keywords Alkaloid, oxidative coupling, indole, phenol, biomimetic synthesis.

Contexte du défi

Les alcaloïdes indolomonoterpéniques⁽¹⁾ constituent une large famille de molécules naturelles isolées principalement de trois familles de plantes présentes sous toutes les latitudes [1]. À ce jour, plus de trois mille membres de cette famille sont connus et sont caractérisés par la très riche diversité et la complexité de leurs structures [2]. La strychnine de la noix vomique, fortement toxique, et la vinblastine de la pervenche tropicale, un anticancéreux, en sont quelques représentants emblématiques. La synthèse de ces alcaloïdes représente un défi d'envergure permettant de démontrer qu'il est possible de synthétiser toute structure quelle que soit la difficulté apparente. L'intérêt de tels projets est aussi de développer de nouvelles méthodes de synthèse vers des squelettes originaux qui sont directement valorisables dans le domaine de la chimie médicinale. Une molécule en particulier, la bipléiophylline (1), un alcaloïde *bis*-indolique isolé en 2008 en Malaisie des écorces d'*Alstonia angustifolia*, est considérée comme un des membres les plus complexes de la famille des alcaloïdes indolomonoterpéniques (figure 1) [3]. Cette molécule, obtenue en très faible quantité (2 mg kg^{-1}), est le premier exemple de *bis*-indole dont les deux unités indoliques sont séparées par une plateforme aromatique⁽²⁾ – ici deux sous-unités pléiocarpamine (2) ancrées sur l'acide pyrocatechique (3). La bipléiophylline, de par sa structure compacte et polycyclique (treize cycles) densément fonctionnalisée, a ainsi attiré l'attention de plusieurs groupes de recherche internationaux au vu du défi de synthèse qu'elle représente, et particulièrement à l'Université Paris-Sud au sein d'équipes de BioCIS et de l'Institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay (ICMMO). Une approche biomimétique, consistant à s'inspirer du chemin réactionnel élaboré par la nature puis à le mimer au laboratoire, a été choisie



Bipléiophylline (1)



Figure 1 - La bipléiophylline (1) a été isolée en 2008 des écorces d'*Alstonia angustifolia* (photo : Biswarup Ganguly, CC BY 3.0).

(figure 2) [4-5]. Ce type d'approche permet d'envisager la synthèse totale de la molécule par l'assemblage rapide d'unités plus simples avec une augmentation très rapide de la complexité structurale. De plus, avec une telle complexité et au-delà de l'aspect synthèse, la caractérisation des intermédiaires et produits finaux par RMN notamment se révèle être un exercice très délicat. Notre consortium a décidé de réaliser une hémisynthèse de la bipléiophylline, et donc d'aborder le défi par la fin, c'est-à-dire de commencer la synthèse à partir d'un produit de départ particulièrement complexe qui est une substance naturelle connue, la pléiocarpamine, afin de nous concentrer sur un défi particulièrement difficile : un double ancrage d'indoles sur un cycle aromatique. D'un point de vue pragmatique, cela nous permet également d'éviter l'écueil du manque de produit pour poursuivre le travail en fin de synthèse totale et ainsi de pouvoir accéder à la bipléiophylline en un nombre très réduit d'étapes chimiques. L'hypothèse de biosynthèse de la bipléiophylline (1), permettant de proposer une stratégie d'ancrage des sous-unités pléiocarpamine (2), a pour point de départ l'oxydation de l'acide

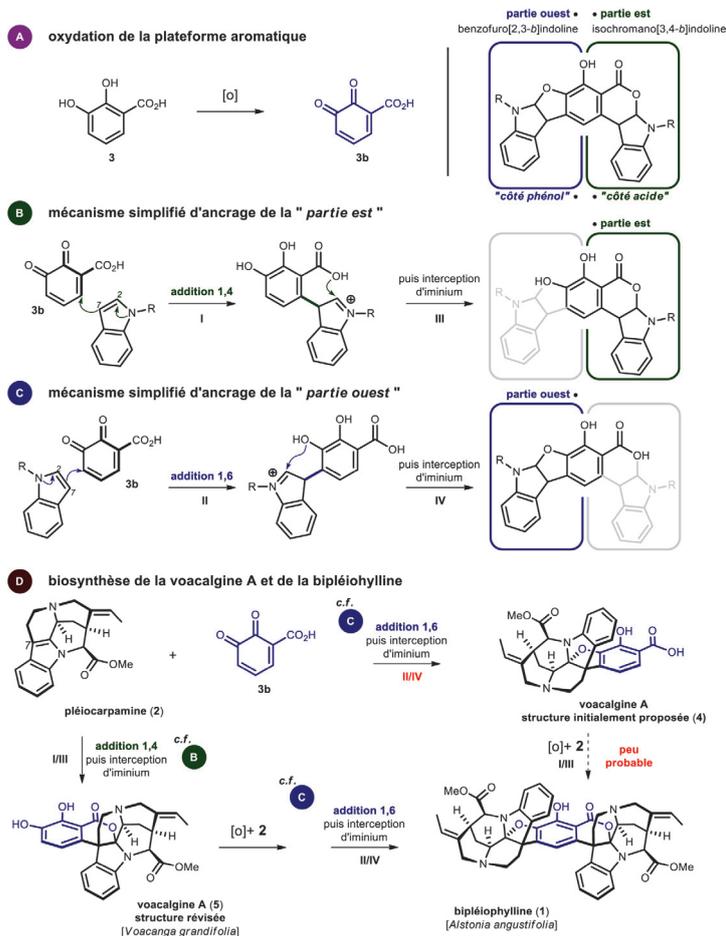


Figure 2 - Structures de la bipléiophylline (1) et de la voalgaline A (5).

pyrocatéchique (**3**) en quinone **3b** [6]. L'*ortho*-quinone [7] **3b** pourrait subir une addition conjuguée soit 1,4 (réaction I), soit 1,6 (réaction II) de la part de la pléiocarpamine (**2**) [8], suivie de l'interception d'un iminium (réaction III/IV) par la fonction acide ou phénol de la plateforme aromatique. Ces deux modes d'ancrage formeraient respectivement la « partie est » et la « partie ouest » de la bipléiophylline (**1**). Dans le cas où la « partie ouest » serait la première à être formée, l'assemblage produirait la structure **4** initialement proposée pour la voalgaline A isolée de *Voacanga grandifolia* [9]. Dans ce cas, un second couplage oxydant semble peu probable car la formation de l'*ortho*-quinone intermédiaire nécessiterait l'ouverture de l'hémiaminal de **4**. Ainsi cette voie ne permettrait pas de réaliser l'ancrage de la seconde unité indolique. Par contre, dans le cas où la « partie est » serait la première à être formée (molécule **5**), une seconde oxydation en *ortho*-quinone est possible. La formation dans un second temps de la « partie ouest » par un mécanisme similaire conduirait à la bipléiophylline (**1**).

Ancrage de la « partie est », dite « côté acide »

Avant de pouvoir réaliser la synthèse biomimétique de la bipléiophylline (**1**), une étude méthodologique préliminaire était nécessaire afin de développer des conditions réactionnelles permettant de réaliser sélectivement l'assemblage des parties « est » et « ouest ». Comme souvent en synthèse biomimétique, les conditions expérimentales les plus simples se sont montrées les plus efficaces. L'ancrage sur l'acide pyrocatéchique (**3**) a pu être réalisé très facilement avec le tétrahydro-carbazole (**6a**) en présence d'oxyde d'argent [10] dans l'acétonitrile (figure 3) avec un rendement de 62 %.

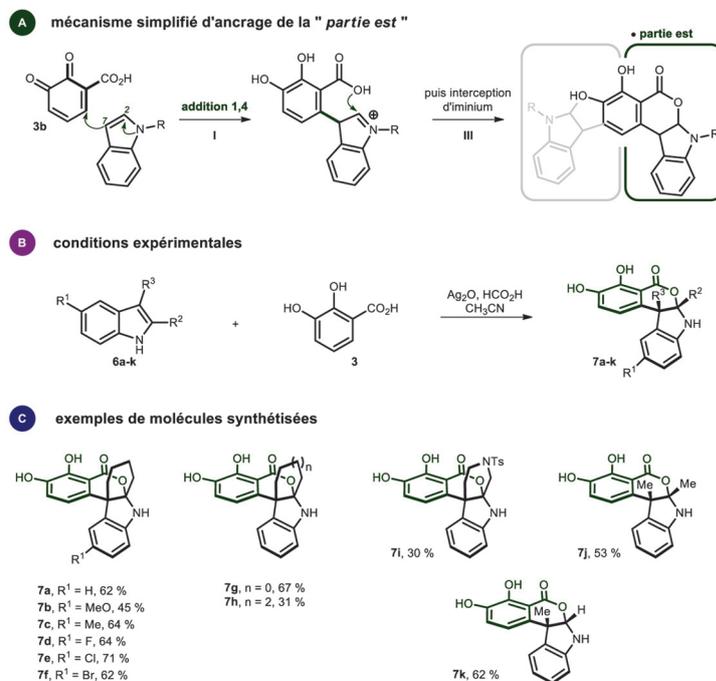


Figure 3 - Méthodologie d'assemblage de la « partie est » de la bipléiophylline.

Dans ce cas, on accède exclusivement à l'assemblage de la « partie est » issue d'une addition 1,4 sur la forme oxydée **3b** de la plateforme aromatique et suivie de la formation d'un cycle lactone avec la fonction acide benzoïque. Il a également été noté que l'ajout d'acide formique améliore à la fois la cinétique et le rendement, ceci probablement en venant activer la quinone intermédiaire. La robustesse de la méthode a été testée avec succès sur toute une gamme de dérivés indoliques (**6b-k**) diversement substitués par des groupements alkyle ou alors par des cycles fusionnés avec le noyau indole.

Ancrage de la « partie ouest », dite « côté phénol »

En utilisant l'acide pyrocatéchique (**3**) pour réaliser les assemblages biomimétiques, seule une addition 1,4 aboutissant à un ancrage « côté acide » est observée. En employant les conditions déjà développées pour effectuer le couplage oxydant, mais cette fois-ci avec l'ester méthylique de l'acide pyrocatéchique (**8**) (afin d'empêcher l'ancrage « côté acide ») dans le dichlorométhane, seul l'ancrage de la « partie ouest » ou « côté phénol » est observé [11]. Dans ce cas, l'étape finale d'ancrage de la « partie est » faisant intervenir une cyclisation par le carboxylate n'est plus possible. Le mécanisme d'ancrage du composé indolique fait intervenir une addition conjuguée 1,6 sur la forme oxydée **8b** de la plateforme aromatique, suivie de la formation d'un cycle furane avec une des fonctions phénol (figure 4). Pour ce mode d'ancrage, les rendements sont plus modestes et ne dépassent pas 38 %. Ces résultats très encourageants ont montré qu'il était possible de réaliser les deux modes d'ancrage sur une plateforme aromatique avec un protocole unifié. Le choix d'un solvant de réaction différent pour l'ancrage « côté phénol » ou « côté acide » (acétonitrile ou dichlorométhane) s'explique simplement pour des raisons de solubilité des plateformes aromatiques **3** et **8**. L'étape suivante consistait à valider qu'il était possible de construire le cœur polyhétérocyclique de la bipléiophylline (**1**) en couplant séquentiellement des unités indoliques sur une même plateforme aromatique. Ceci a été vérifié avec le composé **7j** issu d'un premier assemblage entre le diméthylindole

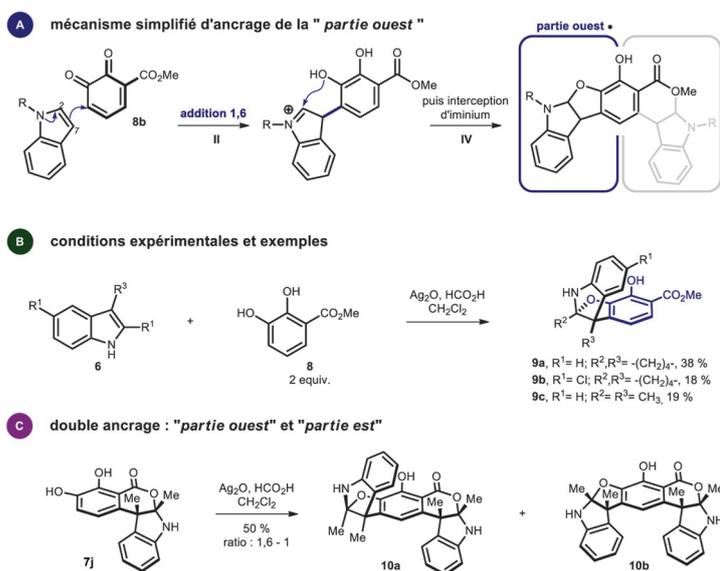


Figure 4 - Méthodologie d'assemblage de la « partie ouest » de la bipléiophylline.

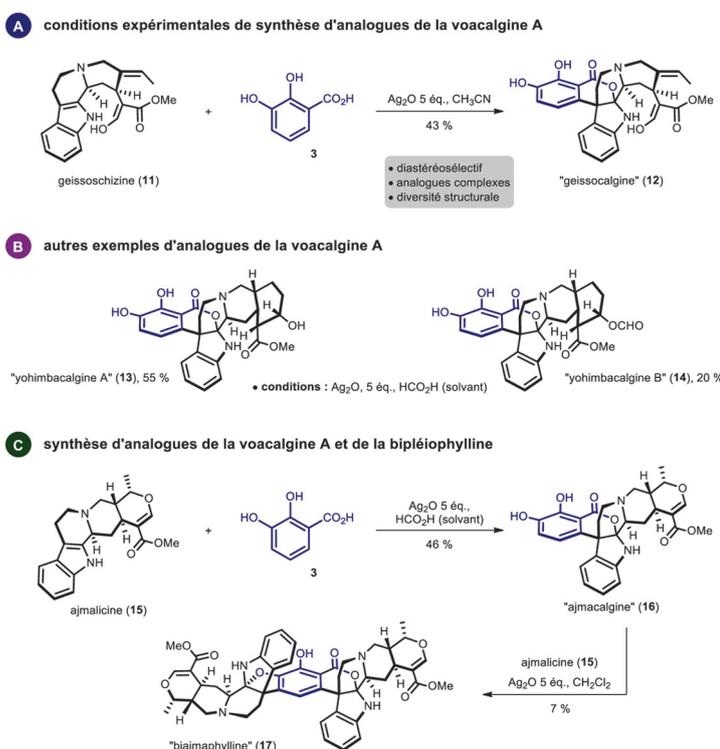


Figure 5 - Synthèse d'analogues de la voacalgine A et de la bipléiophylline.

(6j) et l'acide pyrocatechique (3) (figure 3). En utilisant la molécule 7j comportant déjà une unité indolique ancrée, un second couplage oxydant a été effectué avec les mêmes conditions expérimentales (figure 4). Le produit de double ancrage a été isolé sous la forme de deux diastéréoisomères 10a et 10b séparables par chromatographie éclair. Au cours du travail d'optimisation, il a été démontré que les ancrages séquentiels des unités indoliques sur la plateforme sont plus efficaces quand le premier est réalisé dans l'acétonitrile et le second dans le dichlorométhane.

Application de la méthode à des substrats naturels

Pour gagner en complexité et diversité moléculaires et valider l'applicabilité de la méthode mise au point, des couplages oxydants sur l'acide pyrocatechique ont été réalisés avec des alcaloïdes en tant que substrats complexes (figure 5). À partir de

la geissoschizine, de la yohimbine et de l'ajmalicine, les adduits de structures complexes 12-14 et 16 ont été synthétisés, démontrant ainsi l'efficacité de la méthode d'assemblage. Les ancrages à partir de la yohimbine et de l'ajmalicine (15) se sont montrés plus difficiles à obtenir en raison de la faible solubilité des substrats. Par contre, en utilisant l'acide formique comme solvant, l'efficacité de la méthode a été restaurée. Pour compléter cette étude méthodologique, les conditions pour réaliser le second ancrage biomimétique ont été appliquées au composé 16 précédemment synthétisé. Sur cette structure issue d'un premier ancrage, il a été possible d'ancrer une seconde molécule d'ajmalicine (15) et ainsi d'isoler la molécule 17 inspirée de la bipléiophylline (1) présentant un haut degré de complexité moléculaire. Ce dernier résultat montre qu'il est possible d'ancrer séquentiellement et sélectivement un substrat complexe sur une même plateforme aromatique.

Synthèse des molécules naturelles cibles

Pour pouvoir appliquer la méthode mise au point à la synthèse biomimétique de la bipléiophylline (1), il a été nécessaire d'isoler la pléiocarpamine (2) à partir d'*Alstonia undulata* (synonyme *A. balansae*), une plante collectée en Nouvelle-Calédonie. L'extraction à partir de 2 kg d'écorces a fourni moins d'une centaine de milligrammes de la substance naturelle (0,007 %). En appliquant à la pléiocarpamine (2) le protocole d'ancrage, le produit de couplage 5 a été isolé avec un rendement de 21 % (figure 6). Les spectres RMN du produit 5 enregistrés dans le méthanol deutérié sont en tous points identiques à ceux de la voacalgine A. Les données spectrales indiquent donc que c'est bien le produit naturel qui a été synthétisé. La structure 4, initialement proposée pour la voacalgine A, correspondait en fait à la « partie ouest » de la bipléiophylline (1) (ou ancrage « côté phénol »), ce qui était illogique d'un point de vue réactivité.

En effet, au cours de cette étude, il a été montré sans ambiguïté que les ancrages réalisés avec l'acide pyrocatechique (3) ne se font que du « côté acide » (figure 3). En analysant les spectres RMN de la voacalgine A enregistrés dans le chloroforme deutérié, une seule corrélation ⁴J longue distance a été identifiée sur le spectre HMBC⁽³⁾ au niveau de la plateforme

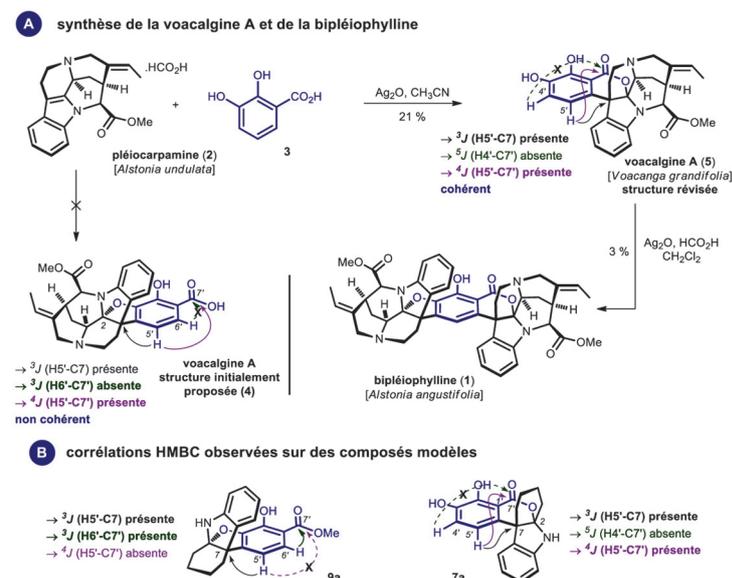


Figure 6 - A) Synthèses de la voacalgine A et de la bipléiophylline; B) corrélations HMBC observées pour 7a et 9a.

aromatique. En comparant ce profil de corrélations HMBC avec ceux obtenus pour les produits **7a** et **9a** (figure 6B), il est clairement démontré que la voacalgine A est la structure **5** issue d'un ancrage « côté acide » et non la structure **4** issue d'un ancrage « côté phénol ».

Finalement, en employant un protocole monotope, il a été possible d'ancrer séquentiellement deux unités pléiocarpamine (**2**) sur l'acide pyrocatéchique (**3**). Tout d'abord, une première unité pléiocarpamine (**2**) a été ancrée en présence d'oxyde d'argent dans l'acétonitrile pour produire la voacalgine A (**5**). Ensuite, quand la réaction a été achevée, une seconde unité pléiocarpamine (**2**) a été introduite et le solvant a été remplacé par du dichlorométhane. Au bout de six jours, la bipléiophylline (**1**) a été isolée avec un rendement de 3 %, ce qui correspond à la première synthèse de cette molécule naturelle. Au vu du gain de complexité moléculaire de ces transformations, l'approche biomimétique et les conditions expérimentales se sont montrées d'une simplicité et d'une efficacité déconcertante pour synthétiser la bipléiophylline (**1**).

Au cours de ce travail, une étude préliminaire réalisée sur des monomères simples a permis d'optimiser les conditions réactionnelles afin d'effectuer indépendamment, puis séquentiellement, les deux types d'ancrage sur la plateforme aromatique. Pour confirmer l'efficacité des conditions développées, la méthode a été transposée à d'autres substrats d'origine naturelle, produisant ainsi des analogues chimériques de la bipléiophylline tout aussi complexes. Pour achever la synthèse de cette molécule naturelle, la pléiocarpamine a été isolée d'*Alstonia undulata*, puis la démarche biomimétique a été appliquée. Par ce travail, la structure de la voacalgine A a pu être révisée et la première synthèse de la bipléiophylline a été réalisée, permettant également de mieux comprendre comment un organisme vivant peut produire une molécule aussi élaborée.

Les auteurs remercient l'Agence Nationale de la Recherche (projets ANR-15-CE29-0001, « Mount Indole », et ANR-12-JS07-0002, « CouPhIn ») pour le financement des travaux ; la Fondation pour le développement de la chimie des substances naturelles et ses applications, sous l'égide de l'Académie des sciences, pour le financement du doctorat de Natacha Denizot ; Fanny Roussy, Marc Litaudon et Vincent Dumontet de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN, CNRS, Gif-sur-Yvette) pour avoir fourni *Alstonia angustifolia* à partir de laquelle a été isolée la pléiocarpamine ; Jean-François Gallard de l'ICSN, Régis Guillot de l'ICMMO, Kadiria Ahamada, Mehdi Beniddir et Guillaume Bernadat, ainsi qu'Elvis Otogo N'ngang, Karine Leblanc et Victor Turpin de BioCIS pour leur contribution à la réalisation de ce travail ; et Michel Leboeuf pour la relecture attentive du manuscrit.

(1) *Alcaloïde indolomonoterpénique* : alcaloïde issu d'un précurseur unique, la strictosidine, elle-même biosynthétisée par l'assemblage du tryptophane et d'une unité monoterpène modifiée, le sécologanoside. À ce jour, les alcaloïdes indolomonoterpéniques ont été principalement isolés de trois familles de plantes : les apocynacées, les loganiacées et les rubiacées, mais ont aussi été décrits dans certaines plantes des familles des icacinacées, des nyssacées, des alangiées et des gelsémiacées.

(2) *Plateforme aromatique* : dans cet article, ce terme désigne l'unité acide pyrocatéchique séparant les deux unités indoliques dans la structure de la bipléiophylline.

(3) *HMBC* : séquence de RMN hétéronucléaire (entre noyaux d'atomes d'hydrogène et noyaux d'atomes de carbone) à deux dimensions permettant de représenter graphiquement les corrélations à longue distance entre des noyaux d'hydrogène et de carbone séparés principalement par trois liaisons covalentes (³J), mais également dans certains cas les corrélations entre des noyaux d'hydrogène et de carbone séparés par deux et quatre liaisons (²J, ⁴J).

[1] Szabó L.F., Rigorous biogenetic network for a group of indole alkaloids derived from strictosidine, *Molecules*, **2008**, *13*, p. 1875.

[2] O'Connor S.E., Maresh J.J., Chemistry and biology of monoterpene indole alkaloid biosynthesis, *Nat. Prod. Rep.*, **2006**, *23*, p. 532.

[3] Kam T.-S., Tan S.-J., Ng S.-W., Komiyama K., Bipleiophylline, an unprecedented cytotoxic bisindole alkaloid constituted from the bridging of two indole moieties by an aromatic spacer unit, *Org. Lett.*, **2008**, *10*, p. 3749.

[4] Lachkar D., Denizot N., Bernadat G., Ahamada K., Beniddir M.A., Dumontet V., Gallard J.-F., Guillot R., Leblanc K., Otogo N'ngang E., Turpin V., Kouklovsky C., Poupon E., Evanno L., Vincent G., Unified biomimetic assembly of voacalgine A and bipleiophylline via divergent oxidative couplings, *Nat. Chem.*, **2017**, *9*, p. 793.

[5] Denizot N., Lachkar D., Kouklovsky C., Poupon E., Evanno L., Vincent G., Divergent oxidative couplings between indoles and 2,3-dihydroxybenzoic acid derivatives for the biomimetic synthesis of voacalgine A and bipleiophylline, *Synthesis*, **2018**, doi:10.1055/s-0036-1591910.

[6] Koval I. A., Gamez P., Belle C., Selmezci K., Reedijk J., Synthetic models of the active site of catechol oxidase: mechanistic studies, *Chem. Soc. Rev.*, **2006**, *35*, p. 814.

[7] Nematollahi D., Khoshafar H., Investigation of electrochemically induced Michael addition reactions: oxidation of some dihydroxybenzene derivatives in the presence of azide ion, *Tetrahedron*, **2009**, *65*, p. 4742.

[8] Nematollahi D., Dehdashtian S., Electrochemical oxidation of catechol in the presence of indole: a facile and one-pot method for the synthesis of trisindolyl-*o*-benzoquinone, *Tetrahedron Lett.*, **2008**, *49*, p. 645.

[9] Hirasawa Y., Arai H., Rahman A., Kusumawati I., Zaini N.C., Shirota O., Morita H., Voacalgines A-E, new indole alkaloids from *Voacanga grandifolia*, *Tetrahedron* **2013**, *69*, p. 10869.

[10] Morgan L.R., Dimerization of 3-carboxybenzoquinone-1,2, *J. Org. Chem.*, **1962**, *27*, p. 2634.

[11] Denizot N., Pouilhès A., Cucca M., Beaud R., Guillot R., Kouklovsky C., Vincent G., Bioinspired direct access to benzofuroindolines by oxidative [3 + 2] annulation of phenols and indoles, *Org. Lett.*, **2014**, *16*, p. 5752.

Natacha DENIZOT,

a obtenu son doctorat à l'Université Paris-Sud^(a).

David LACHKAR,

a été chercheur postdoctorant à l'Université Paris-Sud^(b).

Cyrille KOUKLOVSKY,

professeur de l'Université Paris-Sud^(a).

Erwan POUPON*,

professeur de l'Université Paris-Sud^(b).

Guillaume VINCENT*,

chargé de recherche du CNRS à l'Université Paris-Sud^(a).

Laurent EVANNO*,

maître de conférences de l'Université Paris-Sud^(b).

* erwan.poupon@u-psud.fr, guillaume.vincent@u-psud.fr, laurent.evanno@u-psud.fr

^(a) Institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay (ICMMO), UMR CNRS 8181, Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Orsay.

^(b) Pharmacognosie et chimie des substances naturelles, UMR CNRS BioCIS 8076, Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Châtenay-Malabry.