

ALCALOÏDES STÉROÏDIQUES  
 CXL†. TROIS NOUVEAUX AMINODÉSOXYGLYCO-STÉROÏDES ISOLÉS  
 DES FEUILLES DE L'*Holarrhena antidysenterica* (ROXB) WALL :  
 L'HOLAROSINE B ET LES HOLANTOSINES E ET F  
 UN NOUVEAU SUCRE AMINÉ, LA D-HOLACOSAMINE\*

ROBERT GOUTAREL, CLAUDE MONNERET, PATRICK CHOAY, ISSIAKA KABORÉ ET  
 QUI KHUONG-HUU

C N R S, Institut de Chimie des Substances Naturelles, 91190-Gif-sur-Yvette (France)

(Reçu le 6 décembre 1971, accepté le 18 février 1972)

ABSTRACT

Holarosine B,  $3\beta$ -(4-amino-2,4,6-trideoxy-3-O-méthyl- $\beta$ -D-ribo-hexopyranosyl)oxy-14 $\beta$ -hydroxy-5 $\alpha$ ,17 $\beta$ H-card-20(22)-énolide, and holantosines E and F have been isolated from *H. antidysenterica* leaves. Holantosines E and F are  $\beta$ -D-glycosides of a new amino sugar, D-holacosamine or 4-amino-4-deoxy-sarmentose, and holantogénine or anhydroholantogénine.

SOMMAIRE

L'holarosine B,  $3\beta$ -(4-amino-2,4,6-tridésoxy-3-O-méthyl- $\beta$ -D-ribo-hexopyranosyl)oxy-14 $\beta$ -hydroxy-5 $\alpha$ ,17 $\beta$ H-card-20(22)-énolide, et les holantosines E et F ont été isolées des feuilles de *H. antidysenterica*. Les holantosines E et F sont les  $\beta$ -D-glycosides de l'holantogénine et de l'anhydro-holantogénine et d'un nouveau sucre aminé, la D-holacosamine ou 4-amino-4-désoxy-sarmentose.

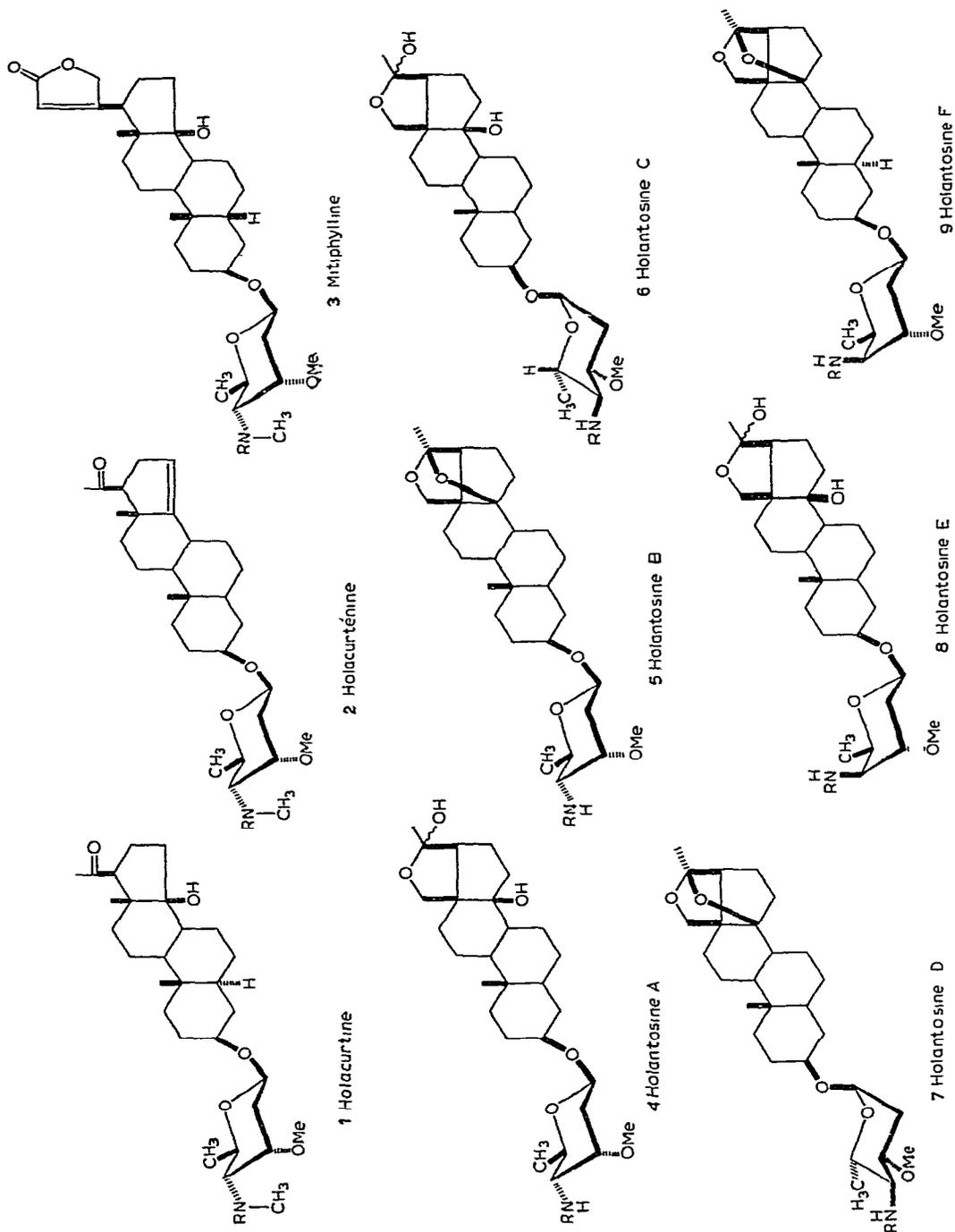
INTRODUCTION

Nous avons proposé le nom d'aminodésoxyglyco-stéroïdes pour des substances naturelles, présentant les caractères généraux des alcaloïdes et constituées par l'union d'un sucre aminé et d'une génine stéroïdique. Lorsque la génine est un cardénolide, l'alcaloïde peut être désigné sous le nom d'aminodésoxyglyco-cardénolide.

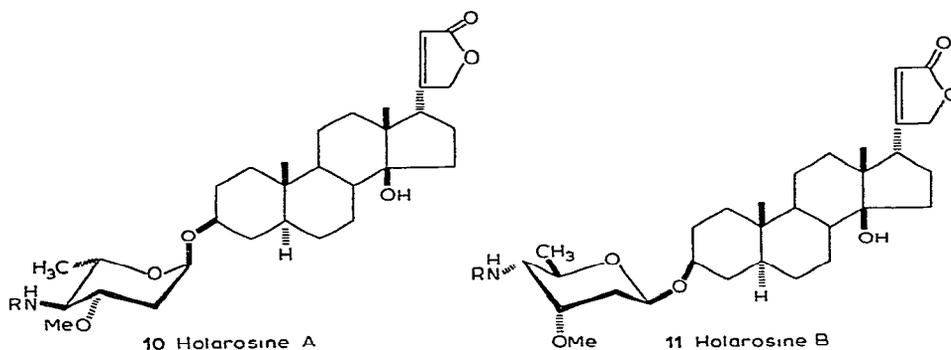
Huit aminodésoxyglyco-stéroïdes, isolés des feuilles d'*Holarrhena* asiatiques, ont été précédemment décrits : l'holacurtine (1), l'holacurténine (2) de *H. curtisi*<sup>2</sup>, la mitiphylline (3 premier exemple d'aminodésoxyglyco-cardénolide) de *H. mitis*<sup>3</sup>, les holantosines A (4) et B<sup>4</sup> (5), C (6) et D (7) et l'holarosine A (10) de *H. antidysenterica*<sup>5</sup>. Les sucres aminés liés aux différentes génines sont la N-méthyl-D-holosamine,

\*Dédié au Professeur Jean-Émile Courtois à l'occasion de son 65ème anniversaire

†Alcaloïdes stéroïdiques CXXXIX, voir Réf 1



dans **1**, **2** et **3**, la D-holosamine (4-amino-4-désoxy-D-cymarose) dans **4** et **5** et la L-holantosamine (4-amino-4-désoxy-L-oléandrose) dans **6**, **7** et **10**. La synthèse de la D-holosamine, obtenue par double inversion de la fonction hydroxyle en position 4 du D-cymarose, a été décrite<sup>4,6</sup>



Les aminodésoxyglyco-cardénolides pouvant présenter une éventuelle activité thérapeutique, les synthèses de quelques dérivés de la digitoxigénine comportant un sucre aminé en position 4 (Réfs 7 et 8) ou en position 2 (Réf 9) ont été réalisées. Nous décrivons ici deux nouveaux aminodésoxyglyco-stéroïdes, les holantosines E (**8**) et F (**9**), ainsi qu'un aminodésoxyglyco-cardénolide, l'holarosine B (**11**), retirés des feuilles d'un *Holarrhena antidysenterica* originaire des Indes.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les composés **8**, **9** et **11** ont été isolés sous forme de dérivés *N*-acétylés, à partir des alcaloïdes totaux préalablement acétylés, par une double chromatographie, tout d'abord sur « Florisil », les fractions éluées par un mélange d'éther-méthanol étant chromatographiées de nouveau sur alumine. L'éluion par du benzène donne la *N*-acétylholantosine F, par le mélange benzène-éther (3/2) la *N*-acétylholarosine B et par de l'éther la *N*-acétylholantosine E.

La *N*-acétylholarosine B, (**11** R = Ac) est un isomère de la *N*-acétylholarosine A<sup>5</sup> (**10**), qui n'a pu être obtenue sous forme cristallisée à partir des solvants usuels. Sa pureté chimique est établie par les techniques chromatographiques habituelles, ainsi que par les méthodes physiques. Le spectre i.r. présente une bande de  $\gamma$ -lactone insaturée à  $1750\text{ cm}^{-1}$  et le spectre u.v. un maximum à 217 nm,  $\log \epsilon = 4,00$ , caractéristiques des cardénolides.

Le spectre de masse confirme la formule brute  $\text{C}_{32}\text{H}_{49}\text{NO}_7$  par un pic moléculaire à  $m/e$  559. Le pic de base se situe à  $m/e$  115 et caractérise les groupes acétamide et méthoxyle portés par deux carbones vicinaux,  $\text{AcHN}^+=\text{CH}-\dot{\text{C}}\text{H}-\text{OMe}$ . D'autres

ions à  $m/e$  357 et 339 (357-18) correspondent à la génine lactonique. Ce spectre est tout à fait superposable à celui de la *N*-acétylholarosine A<sup>5</sup>.

Si l'on compare les spectres de r m n (chloroforme-*d*) des *N*-acétylholarosines A et B (10 et 11, R = Ac) (Tableau I), on constate une nette identité des signaux caractéristiques de la génine, le doublet du méthyle osidique est, par contre, déplacé de 1,10 à 1,20 p p m et le signal du proton anomérique se situe à 4,81 p p m au lieu de 5,10 p p m dans le cas de 10. Les constantes de couplage du proton anomérique de la *N*-acétylholarosine A ( $J_4$  et  $J'_2$ ) sont celles d'un hydrogène équatorial et caractéristiques d'une liaison glycosidique  $\alpha$ -L, dans le cas de la *N*-acétylholarosine B, ces constantes ( $J_{10}$  et  $J'_2$ ) sont celles d'un proton axial et l'holarosine B doit être un  $\beta$ -D-glycoside<sup>4, 10</sup>.

La méthanolyse chlorhydrique de 11 (R = Ac) permet d'isoler, à l'état cristallin, l'allo-uzarigénine\* (23), dont les constantes physiques et les spectres i r, u v, de r m n et de masse sont identiques à un échantillon de référence. On obtient, d'autre part, une fraction azotée qui a été identifiée au méthyl- $\beta$ -glycoside de la *N*-acétyl-D-holosamine<sup>4</sup> (13).

L'holarosine B est donc le 3 $\beta$ -(4-amino-2,4,6-tridésoxy-3-*O*-méthyl- $\beta$ -D-ribohexopyranosyl)oxy-14 $\beta$ -hydroxy-5 $\alpha$ ,17 $\beta$ H-card-20(22)-énolide. On doit remarquer que l'holarosine A<sup>5</sup>, dont le sucre est un 4-amino-4-désoxy-L-oléandrose, a été isolé d'un *H. antidyserterica* originaire du Viet-Nam, alors que l'holarosine B provenant

TABLEAU I

SPECTRE DE R M N DES *N*-ACETAMIDODÉSOXYGLYCO-STEROIDES<sup>a</sup>

Dérivés <i>N</i> -acétylés (R=Ac)	Me-19 <i>s</i>	Me-21 <i>s</i>	CH <sub>2</sub> -18 <i>d</i>	<i>d</i>	OMe <i>s</i>	AcNH <i>s</i>	Me-6' <i>d</i>	H-1'
Holantosine A (4)	0,74	1,40	3,53 (J9)	4,16 (J9)	3,40	2,00	1,19 (J5)	dd 4,78 (J10, J'2)
Holantosine B (5)	0,82	1,40	3,66 (J8)	4,05 (J8)	3,40	2,00	1,19 (J5)	4,78 (J10, J'2)
Holantosine E (8)	0,74	1,40	3,53 (J9)	4,16 (J9)	3,43	2,02	1,17 (J6)	4,80 (J9, J'2,5)
Holantosine F (9)	0,82	1,40	3,66 (J8)	4,05 (J8)	3,43	2,02	1,17 (J6)	4,80 (J9, J'2,5)
Holantosine C (6)	0,73	1,40	3,53 (J9)	4,16 (J9)	3,30	2,00	1,18 (J6)	m étroit 5,06
Holantosine D (7)	0,83	1,40	3,68 (J8)	4,05 (J8)	3,30	2,00	1,18 (J6)	m étroit 5,06
Holarosine A (10)	0,82	CH <sub>2</sub> -21 m 4,78	Me-18	1,05	3,33	2,02	1,10 (J6)	dd 5,10 (J4, J'2)
Holarosine B (11)	0,82	CH <sub>2</sub> -21 4,78	Me-18	1,05	3,40	2,02	1,20 (J5)	dd 4,80 (J10, J'2)

<sup>a</sup>Les spectres ont été déterminés avec un appareil Varian A-60-A, dans le chloroforme-*d* ( $\delta$  en p p m,  $J$  en Hz) avec le tétraméthylsilane comme référence.

\*Échantillon aimablement fourni par le Professeur R. Tschesche.

d'une espèce indienne correspond à un 4-amino-4-désoxy-D-cymarose Cette remarque est intéressante sur le plan de la chimiotaxonomie mais des recherches dans ce sens ne peuvent, malheureusement, être poursuivies à l'heure actuelle

Les *N*-acétylholantosines E et F (8 et 9, R = Ac) sont des isomères respectivement des *N*-acétylholantosines A et C (4 et 6, R = Ac) et B et D (5 et 7, R = Ac) Comme pour les couples A-B et C-D, E et F sont facilement convertibles l'une dans l'autre Les caractéristiques des signaux en r m n des différentes *N*-acétylholantosines sont indiquées dans le Tableau I

L'examen des spectres de r m n des *N*-acétylholantosines indique que les génines stéroïdiques sont l'holantogénine (21) pour A, E et C et l'anhydroholantogénine (22) pour B, D et F Ces génines ayant été préparées par voie de synthèse<sup>11 12</sup>, leurs structures sont parfaitement établies On observe une très nette concordance entre les caractéristiques des signaux des génines stéroïdiques dans les trois couples A-B, C-D et E-F Les différences essentielles entre ces trois couples résident dans la fraction osidique

Les protons anomériques H-1' des *N*-acétylholantosines E et F, (8 et 9, R = Ac) se présentent sous la forme d'un doublet ( $J$  10 Hz), dédouble, ( $J$  3 Hz), correspondant au proton axial d'un  $\beta$ -D-glycoside<sup>4 10</sup>

Comme dans le cas des *N*-acétylholantosines A-B et C-D, les spectres de masse du couple E-F sont pratiquement superposables Le pic de base à  $m/e$  115 correspond à l'ion  $\text{AcHN}^+=\text{CH}-\text{CH}-\text{OMe}$  caractérisant le sucre aminé L'ionisation chimique en spectrométrie de masse\* permet d'obtenir un pic net pour l'ion moléculaire, cependant, même dans ce cas, il n'existe aucune différence entre E et F, cet ion moléculaire correspondant à la forme F, ce qui confirme la très facile déshydratation interne du 14,20-diol en 14,20-epoxy L'ionisation chimique en s m conduit à des fragmentations permettant de caractériser directement les fractions osidiques et stéroïdiques, comme cela a été décrit à propos de l'holacurtine<sup>13</sup>

Les trois sucres aminés *N*-acétylés correspondant aux trois couples A-B, C-D, E-F, ont été obtenus par méthanolyse chlorhydrique des différentes *N*-acétylholan-

TABLEAU II

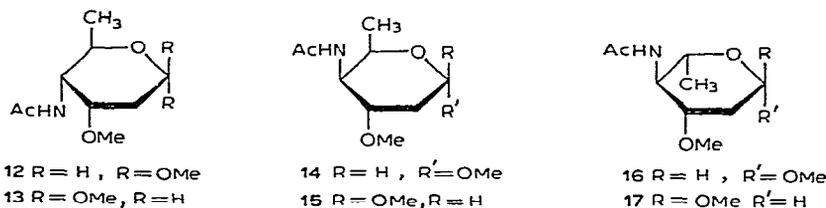
PROPRIÉTÉS DES MÉTHYL- $\alpha$ - ET  $\beta$ -D ET L-GLYCOSIDES DES AMINO-SUCRES ISOLÉS DES FEUILLES D'*Holarrhena*

Methyl- $\alpha$ - et $\beta$ -glycosides	<i>P f</i> (degrés)	$[\alpha]_D^{20}$ (degrés) <sup>a</sup>	$\Delta [M]_D \alpha - [M]_D \beta$
D-Holosamine $\alpha$ - (12)	154-156	+205	
$\beta$ - (13)	159-163	+35	+369
D-Holacosamine $\alpha$ - (14)	94	+103	
$\beta$ - (15)	119	-57	+346
L-Holantosamine $\alpha$ - (16)	212	+41	
$\beta$ - (17)	159-161	-107	-320

<sup>a</sup>Dans le chloroforme (*c* 1)

\*Spectre effectué dans le laboratoire du Dr H M Fales, N I H, par P Longevialle

tosines et caractérisés sous forme de leurs méthyl- $\alpha$ - et  $\beta$ -D-glycosides (voir Tableau II) Il s'agit du 4-acétamido-2,4,6-tridésoxy-3-*O*-méthyl-D-ribo-hexose ou *N*-acétyl-D-holosamine (méthyl- $\alpha$ - et  $\beta$ -D-glycosides **12** et **13**), dans le cas du couple A-B<sup>4</sup>, du 4-acétamido-2,4,6-tridésoxy-3-*O*-méthyl-L-arabmo-hexose ou *N*-acétyl-L-holantosaamine (méthyl- $\alpha$ - et  $\beta$ -L-glycosides **17** et **16**) pour C-D<sup>5</sup>, et d'un nouveau sucre aminé (méthyl- $\alpha$ - et  $\beta$ -D-glycosides **14** et **15**) auquel nous donnons le nom de *N*-acétyl-D-holacosamine, en ce qui concerne le couple E-F. La structure de la *N*-acétyl-D-holacosamine est établie par une étude détaillée des spectres de r m n des méthylglycosides **14** et **15**, ainsi que par la synthèse de ces deux méthylglycosides



Les spectres de r m n des méthyl- $\alpha$ - et  $\beta$ -D-glycosides de la *N*-acétyl-D-holacosamine (**14** et **15**) ont été exécutés à 60 et 100 MHz (voir Fig 1 et 2) Le spectre de r m n du méthyl- $\beta$ -D-glycoside (**15**) présente à 1,15 p p m le doublet ( $J$  6 Hz) du groupe méthyle d'un 6-désoxy sucre Le signal du proton anomérique à 4,53 p p m. a l'aspect d'un doublet ( $J$  10 Hz) dédoublé ( $J'$  2,5 Hz) attribuable aux couplages  $\alpha, \alpha$  et  $\alpha, e$  d'un 2-désoxy sucre Le méthylène en position 2 est du type ABXY, l'analyse du signal du proton axial 2a à 1,64 p p m permet d'attribuer les constantes de couplage  $J_{2a,2e}$

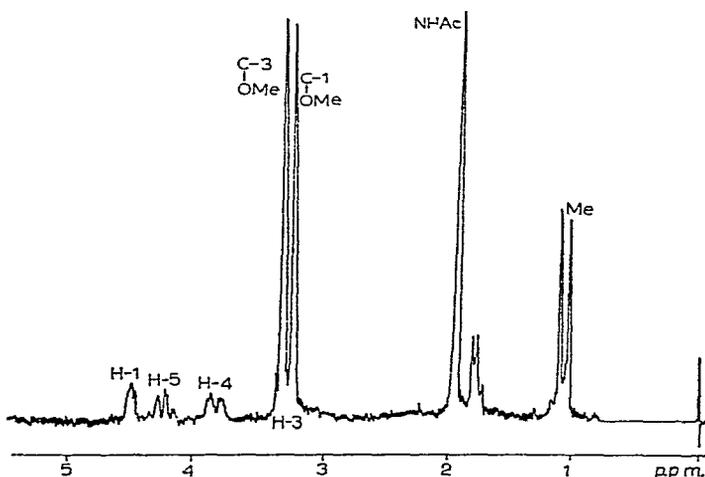


Fig 1 Spectre de r m n. à 100 MHz du méthyl-4-acétamido-2,4,6-tridésoxy-3-*O*-méthyl- $\alpha$ -D-xylohexopyranoside (méthyl-*N*-acétyl- $\alpha$ -D-holacosamine, **14**)

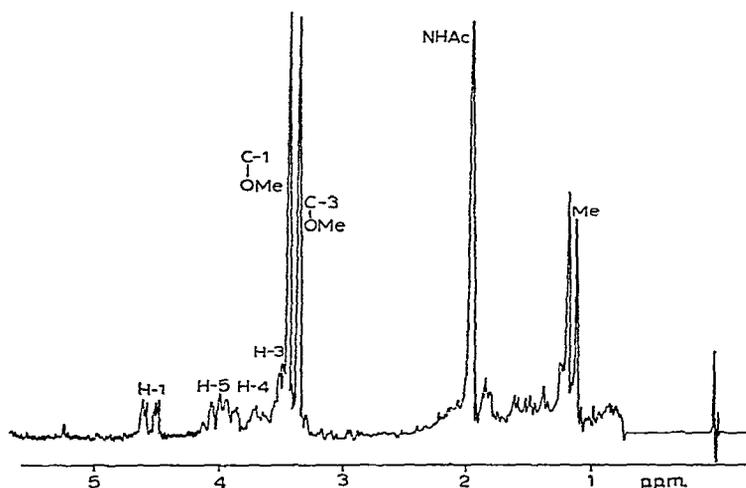


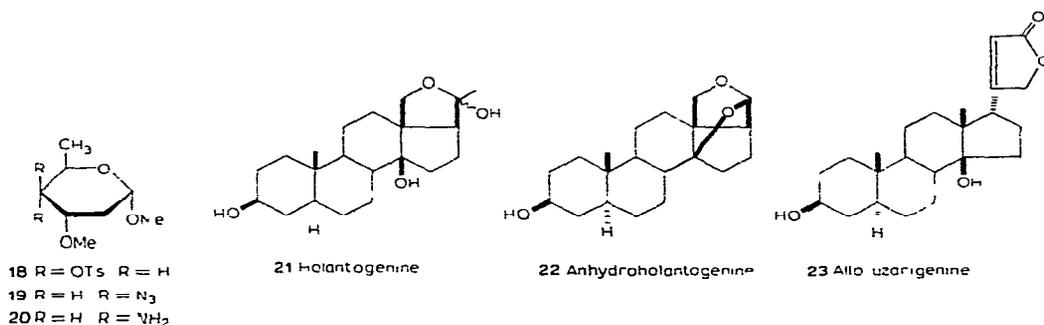
Fig 2 Spectre de r m n à 100 MHz du méthyl-4-acétamido-2,4,6-tridéoxy-3-O-méthyl- $\beta$ -D-xylohexopyranoside (méthyl-N-acétyl- $\beta$ -D-holacosamine, 15).

13 Hz,  $J'_{2a\ 1a}$  10 Hz,  $J''_{2a\ 3e}$  3,5 Hz. À 4,00 p p m. se situe un quadruplet dédoublé correspondant à CH-Me ( $J_{5,Me}$  6,5 Hz,  $J_{5a\ 4e}$  2,5 Hz) On observe vers 3,50 et 3,90 p p m les signaux mal définis des protons H-3 et H-4 Le signal du proton H-4 a pu être analysé en effectuant le spectre de r m n de 15 dans l'acétone- $d_6$  à 60 MHz après deutériation du groupe NHAc, le couplage H-4, NHAc est supprimé et le signal de H-4 devient un doublet dédoublé à 3,88 p p m ( $J_{4e\ 5a}$  2,5 Hz,  $J'_{4e,3e}$  2,5 Hz) Ces faibles constantes de couplage sont en faveur d'une conformation équatoriale de H-4, d'où l'on déduit la conformation axiale du groupe acétamide Le faible couplage  $J'_{4e\ 3}$  2,5 Hz permet d'attribuer à H-3 une conformation équatoriale, la fonction méthoxyle est donc axiale

La méthode de double irradiation confirme les attributions faites aux signaux de tous les protons du pyranoside 15 L'irradiation vers 3,50 p p m perturbe les signaux des protons H-2a et H-2e, le signal de H-2a devenant un doublet dédoublé ( $J$  13 Hz,  $J'$  10 Hz) Lorsque l'irradiation est faite vers 1,90 p p m, région de H-2e, le doublet dédoublé du proton anomérique devient un doublet large ( $J$  10 Hz) et le signal à 3,5 p p m est perturbé Ce dernier signal peut donc être attribué à H-3 L'irradiation de H-5 à 4 p p m transforme le doublet attribué au groupe méthyle en position 6 en un singulet. Il reste à définir le signal de H-5 Les signaux de H-4 et H-5 étant trop proches dans le spectre de 15, l'irradiation de H-4 ne donne rien Mais, dans le spectre de r.m.n. du méthyl- $\alpha$ -D-glycoside 14 les signaux de H-4 et H-5 sont suffisamment éloignés pour qu'il soit possible d'irradier H-4 Le quadruplet dédoublé de H-5 devient un quadruplet ( $J_{5Me}$  6,5 Hz)

Mis à part le signal du proton anomérique en C-1, doublet dédoublé, de caractère équatorial à 4,59 p p m ( $J$  2,5 Hz,  $J'$  2,5 Hz), les signaux des autres protons du méthyl- $\alpha$ -D-glycoside 14 présentent les mêmes caractéristiques que ceux de 15 et l'on

doit constater que l'analyse en r m n indique une conformation chaise pour les deux méthyl-glycosides malgré la présence de deux groupements axiaux dans **15**, et surtout de trois groupements axiaux avec une éventuelle interaction 1,3 diaxiale dans **14**. Les structures des méthyl- $\alpha$ - et  $\beta$ -D-glycosides **14** et **15** sont confirmées par leur synthèse à partir du méthyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside. Le *p*-toluènesulfonate du méthyl- $\alpha$ -D-cymaroside (**18**) a été obtenu suivant la technique précédemment décrite<sup>4</sup>. Le traitement par l'azoture de sodium dans un solvant aprotique (hexaméthylphosphotriamide) permet d'obtenir, avec un rendement acceptable, l'azide **19** avec inversion de la configuration en position 4. La réduction catalytique de **19** en présence de platine dans la méthanol conduit à l'amine **20** qui est acétylée pour donner le méthyl-4-acétamido-2,4,6-tridésoxy-3-O-méthyl- $\alpha$ -D-xylo-hexopyranoside, identique au méthyl- $\alpha$ -D-glycoside de la *N*-acetyl-D-holacosamine (**14**). Le méthyl- $\alpha$ -D-glycoside **14**, traité dans la méthanol chlorhydrique 2M, conduit à un mélange en équilibre des deux méthyl-glycosides **14** et **15** qui ont été séparés par c c m préparative.



Il est tout à fait remarquable que les *Holarrhena* asiatiques, appartenant à la famille des Apocynacées, sous-familles des Plumierioïdees, renferment des amino-désoxyglyco-stéroïdes, dont les différents amino-sucres, la D-holocosamine (4-amino-4-désoxy-D-cymarose), la L-holantosamine (4-amino-4-désoxy-L-oléandrose) et la D-holacosamine (4-amino-4-désoxy-D-sarmentose) s'apparentent aux principaux sucres non aminés faisant partie des glycosides cardiotoniques rencontrés fréquemment chez d'autres Apocynacées.

#### PARTIE EXPÉRIMENTALE

*Méthodes générales* — Les points de fusion, pris en tubes capillaires, ne sont pas corrigés. Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés, à l'aide du polarimètre Perkin-Elmer 141 dans le chloroforme RP contenant 0,5% d'éthanol. Les spectres i r ont été obtenus, sauf exception, dans le Nujol à l'aide du spectrophotomètre Perkin-Elmer 257. Les spectres de r m n ont été mesurés en solution dans différents solvants à 60 MHz et 100 MHz à l'aide des spectromètres Varian A-60 et HA-100, les déplacements chimiques  $\delta$  étant exprimés en p p m (avec la raie du tétraméthylsilane

comme référence zéro et les constantes de couplage en hertz) Les spectres de masse ont été mesurés à l'aide d'un spectrographe de masse AEI, MS-9, les intensités relatives des ions étant exprimées en % de  $\Sigma_{40}$ . Les analyses ont été effectuées par le service central de microanalyse du C N R S

*Extraction des N-acétylholantosine E et F et de la N-acétylholarosine B* — Les feuilles d'*Holarrhena antidysenterica* (25 kg) ont été traitées selon les techniques déjà décrites pour l'extraction des *N*-acétylholantosines A, B<sup>4</sup>, C et D<sup>5</sup>. Le résidu d'alcaloïdes qui pesait 260 g était immédiatement acétylé et donnait 250 g de dérivés acétylés neutres

Une première chromatographie sur « Florisil », (60–100 mesh, 2 kg, fractions de 2,5 l) permet d'obtenir, après élution par des mélanges éther-méthanol 49 1 à 1.1 (v/v) (Fractions 38 à 48), 25 g de produits qui ont été chromatographiés à nouveau sur 750 g d'alumine standardisée selon Brockmann, activité II–III, réhydratée à 6 % d'eau, les fractions sont de 1000 ml. Les résultats de cette chromatographie sont rapportés dans le Tableau III

TABLEAU III

CHROMATOGRAPHIE D'UN EXTRAIT DE FEUILLES D'*Holarrhena antidysenterica* SUR ALUMINE<sup>a</sup>

Fractions	Éluant	Poids (g)	Produits
1–8	Benzène	5,8	<i>N</i> -acétylholantosine F et B (9 et 5)
9–12	Benzène	1,3	<i>N</i> -acétylholantosine B et D (5 et 7)
13–30	Benzène-éther (49 1 a 9 1)	2,8	<i>N</i> -acétylholantosine D (7)
31–35	Benzène-éther (4 1)	1,3	<i>N</i> -acétylholantosine D et E (7 et 8)
36–41	Benzène-éther (4 1 a 3 2)	1,4	<i>N</i> -acétylholantosine E (8) et <i>N</i> -acétylholarosine B (11)
42–48	Benzène-éther (3 2)	1,7	<i>N</i> -acétylholarosine B (11)
49–61	Éther	1,8	<i>N</i> -acétylholarosine B (11) et <i>N</i> -acétylholantosine A (4)
62	Éther-éthanol (19 1)	1,3	<i>N</i> -acétylholantosine A (4)
63	Éther-éthanol (19.1)	1,3	<i>N</i> -acétylholantosine A et C (4 et 6)
64	Éther-éthanol (19 1)	1,7	<i>N</i> -acétylholantosine C (6)

<sup>a</sup>Voir détails dans la Partie Expérimentale

Les fractions 1–8 sont rechromatographiées sur alumine (30 fois le poids, soit 17,5 g). L'élution par le benzène donne la *N*-acétylholantosine F impure, dans les deux premières fractions ( $\approx 1$  g). Celles-ci, rechromatographiées sur 40 g d'alumine, donnent la *N*-acétylholantosine F (9) pure par élution par du dichlorométhane. La *N*-acétylholantosine E (8) est obtenue en rechromatographiant les fractions 30–41 sur alumine réhydratée à 6 % d'eau (40 fois le poids) et élution par de l'éther pur. La *N*-acétylholarosine B (11) provient des fractions 42–48.

*N*-Acétylholantosine E (8) — Le produit brut est recristallisé dans l'acétone-hexane, p.f. 152°,  $[\alpha]_D^{20} -47^\circ$  (c 1, chloroforme), spectre i.r. :  $\nu_{\max}$  3290 (amide secondaire et alcool), 1650, 1540  $\text{cm}^{-1}$  (amide secondaire), spectre de masse ( $\text{C}_{30}\text{H}_{49}\text{NO}_7 = 535$ )  $\text{M}^+$  absent, le reste du spectre est identique à celui de la *N*-acétylholantosine F

*N*-Acétylholantosine **F** (9) — La laque, homogène en c c m, est sublimée à 180° sous 0,02 mm de Hg pour donner des cristaux, p f 134°;  $[\alpha]_D^{20} -43^\circ$  (c 1, chloroforme), spectre i r  $\nu_{\max}$  3360, 1680 et 1560  $\text{cm}^{-1}$  (amide secondaire); spectre de masse *m/e* 517 ( $M^+$ , traces), 359 (1%), 315 (1,5%), 297 (0,5%), 255 (1%), 186 (4%), 172 (1%), 143 (1,5%), 126 (5%), 115 (36%), 96 (7%)

*Anal Calc* pour  $C_{30}H_{47}NO_6$ . C, 69,60, H, 9,15, N, 3,31, O, 18,54 Trouve C, 69,47; H, 9,23, N, 3,43, O, 18,47

*N*-Acétylholarosine **B** (11) — Ce composé n'a pu être cristallisé dans les solvants usuels;  $[\alpha]_D^{20} +4^\circ$  (c 1, chloroforme), spectre i r.  $\nu_{\max}$  ca 3350 (hydroxyle), 1750  $\text{cm}^{-1}$  (lactone insaturée), spectre u v  $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$  217 nm (log  $\epsilon$  4), spectre de masse ( $C_{32}H_{49}NO_7=559$ ) *m/e* 559 ( $M^+$ , traces), 357 (0,5%), 339 (0,5%), 154 (2,5%), 126 (1%), 115 (30%), identique à celui de la *N*-acétylholarosine **A** (10)

*Méthanolyse chlorhydrique des N-acétylholantosine E (8) et F (9)* — Une solution de **8** (200 mg) dans 10 ml de méthanol aqueux chlorhydrique 50mm est chauffée à l'ébullition à reflux durant 15 min. Après refroidissement, la solution est diluée par 5 ml d'eau et extraite par de l'éther. L'extrait étheré est alcalinisé par de l'eau ammoniacale puis lavé par de petites quantités d'eau (6  $\times$  5 ml). L'extrait, séché puis évaporé sous pression réduite, donne 170 mg de dérivé non azoté constitué par de l'holantogénine (**21**) et un peu d'anhydroholantogénine (**22**). Une sublimation à 200° sous 0,02 mm de Hg permet d'obtenir 150 mg d'anhydroholantogénine (**22**) pure, p f 125° (bloc Kofler),  $[\alpha]_D^{20} -31^\circ$  (c 1, chloroforme), spectres i r et de r m n identiques à ceux d'un échantillon déjà décrit<sup>4</sup>. Les phases aqueuses résiduelles sont alcalinisées par de l'ammoniaque puis évaporées à sec. Le résidu est épuisé par du benzène bouillant (3  $\times$  10 ml). On obtient 43 mg de produit constituant la fraction azotée.

Le composé **9** (460 mg) est traité de la même façon et l'extraction donne 240 mg de dérivé non azoté (anhydroholantogénine **22**) et 94 mg de dérivé azoté.

*Isolement des méthyl-4-acétamido-2,4,6-tridésoxy-3-O-méthyl- $\alpha$ - et  $\beta$ -D-xylohexopyranosides (méthyl-N-acétyl- $\alpha$ - et  $\beta$ -D-holacosamines, 14 et 15)* — Les deux fractions azotées, précédemment obtenues, semblables en c c m (2 taches principales) sont réunies (137 mg) et il est possible de séparer par chromatographie préparative sur Kieselgel G (solvant de migration dichlorométhane-méthanol 19/1, deux développements), les deux méthyl-glycosides **14** et **15**, le moins polaire étant le méthyl- $\beta$ -D-glycoside (**15**, 48 mg). Ces deux anomères sont recristallisés de l'éther. Le composé **15** présente p f 119°;  $[\alpha]_D^{20} -57^\circ$  et  $[M]_D^{20} -123^\circ$  (c 1, chloroforme), spectre de r m n (HA-100) d 1,15 (*J* 6) (Me-6), m 1,64 (H-2a), m 1,90 (H-2e), s 1,96 (NAc), s 3,36 (OMe-3), s 3,44 (OMe-1), m 3,47 (H-3), qd 4,00 (H-5), dd 4,53 (*J* 9, *J'* 2,5, H-1), m 5,60-6,00 (NH) (Fig 2)

Le composé **14** présente p f 94°,  $[\alpha]_D^{20} +103^\circ$  et  $[M]_D^{20} +223^\circ$  (c 1, chloroforme); spectre de r m n (HA-100) d 1,11 (*J* 6) (Me-6), m 1,92 (H-2e), s 2,00 (NHAc), s 3,30 (OMe-1), s 3,38 (OMe-3), m 3,92 (H-4), qd 4,35 (H-5), dd 4,59 (*J* 2,5, *J'* 2,5), m 5,65-6,05 (NH) (Fig 1), spectre de masse ( $C_{10}H_{19}NO_4 = 217,26$ ). *m/e* (217  $M^+$ , traces); 186 (*M*-31, traces), 158 (4%), 126 (5%), 115 (pic de base 15%), 73 (14%), 43 (7%)

*Interconversions entre la N-acétylholantosine E (8) et la N-acétylholantosine F (9)* — (a) Le composé **8** (122 mg) sublimé à 180° sous 0,02 mm de Hg donne **9** (110 mg), p f. 132°;  $[\alpha]_D^{20} -42^\circ$  (c 1, chloroforme), spectre de r m n identique à celui de **9**

(b) Une solution de **9** (50 mg) dans 5 ml d'éthanol et 2 ml d'eau est chauffée à reflux durant 2 h, puis agitée à la température du laboratoire durant 36 h. Une seconde tache, plus polaire, correspondant à la N-acétylholantosine E (**8**) apparaît en c c m. On obtient ainsi un mélange de **8** et **9**, ce qui est confirmé par spectrométrie de r m n.

*Methanolysé chlorhydrique de la N-acétylholantosine B (11)* — Une solution de **11** (1,6 g) dans 15 ml de méthanol chlorhydrique M est agitée à la température du laboratoire pendant 2 h. On dilue par 15 ml d'eau et extrait par du chloroforme (4 × 40 ml). Les extraits chloroformiques réunis sont alcalinisés par de l'eau ammoniacale, lavés par de l'eau (3 × 10 ml) et le solvant est évaporé sous pression réduite. La fraction non azotée ainsi obtenue pèse 1,28 g. Les eaux résiduelles sont traitées comme dans le cas des methanolyses des N-acétylholantosines E et F et donnent 317 mg de dérivés azotés.

La fraction non azotée est filtrée sur 14 g de Florisil. L'élution par du dichlorométhane donne 1 g d'allo-uzarigénine (**23**) cristallisant dans le benzène, p f. 227–230°,  $[\alpha]_D^{20} +16^\circ$  (c 0,5, méthanol), spectre de r m n identique à celui d'un échantillon naturel.

La fraction azotée présente 3 taches en c c m. Le composant le moins polaire est purifiée par c p p (dichlorométhane–méthanol 19/1) et le produit obtenu cristallise dans l'hexane, p f. 160–163°,  $[\alpha]_D^{20} +35^\circ$  (c 1, chloroforme), les spectres de r m n et i r sont superposables à ceux du méthyl- $\beta$ -glycoside de la N-acétyl-D-holosamine (**13**).

*Synthèse du méthyl- $\alpha$ -glycoside de la N-acétyl-D-holacosamine (14)* — Méthyl-4-azido-2,4,6-tridésoxy-3-O-méthyl- $\alpha$ -D-xylo-hexopyranoside (**19**) À une solution d'azoture de sodium (0,5 g) dans l'hexaméthylphosphorotriamide (15 ml), on ajoute goutte à goutte à la température ambiante 1 g de monoester<sup>5</sup> **18** en solution dans 5 ml d'hexaméthylphosphorotriamide. Le mélange est ensuite chauffé à reflux à 140°, sous azote, durant 1,5 h. La solution est refroidie, diluée par 50 ml d'eau et extraite par un mélange benzène-éther (1/1). La phase organique est lavée par l'eau, puis séchée et concentrée sous pression réduite à une température inférieure à 40°. On obtient une huile jaune pesant 327 mg, qui est purifiée par filtration sur 20 fois son poids de Florisil (60–100 mesh). L'élution par du benzène donne dans les fractions 1 à 6 (25 ml chacune) 245 mg d'azide **19** sous forme d'une huile incolore, pure en c c m,  $[\alpha]_D^{20} +95^\circ$  (c 1,6, chloroforme), spectre i r  $\nu_{\max} 2100 \text{ cm}^{-1}$  (azide), spectre de r m n d 1,28 (J 6,5) (Me-6), s 3,36 (OMe-1), s 3,41 (OMe-3), m 3,56 (H-3), qd 4,30 (J 6,5, J' 2) (H-5), dd 4,68 (J 4, J' 3,5, H-1), spectre de masse ( $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3 = 201,22$ ) m/e 201 ( $\text{M}^+$ , traces), 170 ( $\text{M}-31$ , 0,5%), 102 (6%), 71 ( $\text{C}_3\text{H}_5\text{ON}^+$ , pic de base, 15%), 58 (12%), 43 (6%).

*Méthyl-4-amino-2,4,6-tridésoxy-3-O-méthyl- $\alpha$ -D-xylo-hexopyranoside (20)* — L'azide **19**, en solution dans 10 ml de méthanol, est agité sous atmosphère d'hydro-

gène durant 4 h en présence de 200 mg d'oxyde de platine. Le catalyseur est éliminé par filtration et la solution méthanolique est concentrée sous pression réduite à une température inférieure à 30°. Le produit brut ainsi obtenu (250 mg) est filtré sur 3,5 g de Florisil (60–100 mesh). L'élution est faite par fractions de 100 ml et les fractions 2 et 3 (benzène-dichlorométhane, puis dichlorométhane pur) donnent 220 mg de **20**  $[\alpha]_D^{20} + 130^\circ$  (*c* 1,97, chloroforme), spectre de r m n . *d* 1,28 (*J* 6,5) (Me-6), *s* 3,36 (OMe a C-1), *s* 3,41 (OMe à C-3), *m* 3,08 (H-4), *m* 3,70 (H-3); *qd* 4,36 (*J* 6,5; *J'* 2) (H-5), *dd* 4,70 (*J* 4, *J'* 3,5, H-1), spectre de masse ( $C_8H_{17}NO_3 = 175,22$ )  $M^+$  (traces), *m/e* 144 (M-31, 1%), 143 (M-32, 1%), 73 (pic de base,  $H_2N=CH-\dot{C}H-OMe$ , 30%)

*Méthyl-4-acétamido-2,4,6-tridésoxy-3-O-méthyl- $\alpha$ -D-xylo-hexopyranoside (14)* —

L'amine **20** (100 mg) est acétylée par agitation magnétique à la température du laboratoire durant une nuit dans 1 ml de pyridine et 1 ml d'anhydride acétique. Le mélange est versé dans 50 ml d'eau distillée et extrait par 50 ml de chloroforme. On obtient 79 mg de produit brut, filtré sur 7 g de Florisil. Les deux premières fractions éluées par le chloroforme donnent 60 mg de produit cristallisé brut, *p f* 78–81°. Après plusieurs recristallisations dans l'éther, le produit présente *p f* 94°,  $[\alpha]_D^{20} + 103^\circ$ , (*c* 1, chloroforme), spectres de r m n et i r superposables à ceux du méthyl- $\alpha$ -D-glycoside de la *N*-acetyl-D-holacosamine (**14**)

*Équilibration du méthyl- $\alpha$ -D-glycoside de synthèse 14* — Une solution de **14** (300 mg) dans le méthanol chlorhydrique à 6% (2 ml) est agitée à la température ambiante durant 5 h. Elle est ensuite neutralisée par filtration sur 5 g de résine Amberlite IRC-50, puis concentrée sous pression réduite. On obtient 300 mg de produit brut qui présente en c c m 2 taches d'égale intensité, le nouveau produit moins polaire correspondant au méthyl- $\beta$ -D-glycoside **15**. Ce mélange est purifié par c p p (Kieselgel G alcalin, solvant de migration dichlorométhane-méthanol 19/1). La fraction moins polaire donne 92 mg de produit. Après plusieurs cristallisations dans l'éther, *p f* 117–118°,  $[\alpha]_D^{20} - 56^\circ$ , spectres i r et de r m n superposables à ceux du méthyl- $\beta$ -glycoside de la *N*-acetyl-D-holacosamine **15**. La fraction plus polaire est identique au produit de départ **14**.

#### REMERCIEMENTS

Nous remercions le Professeur M.-M. Janot pour l'intérêt qu'il a porté à ces recherches, M. Pierre Longevialle pour une communication particulière concernant l'ionisation chimique en spectrométrie de masse et M. Gabor Lukacs pour son aide précieuse en spectrométrie de r m n à 100 MHz.

#### RÉFÉRENCES

- 1 G. ROBLLOT, G. LUKACS ET X. LUSINCHI, *Tetrahedron Lett*, sous presse
- 2 M.-M. JANOT, PH. DEVISSAGUET, Q. KHUONG-HUU, J. PARELLO, N. G. BISSET ET R. GOUTAREL, *Compt. Rend., Ser. C*, 266 (1968) 328.
- 3 M.-M. JANOT, M. LEBOEUF, A. CAVE, R. O. B. WJESKERA ET R. GOUTAREL, *Compt. Rend., Ser. C*, 267 (1968) 1050.

- 4 M-M JANOT, Q KHUONG-HUU, C MONNERET, I KABORÉ, J HILDESHEIM, S D. GÉRO ET R GOUTAREL, *Tetrahedron*, 26 (1970) 1695.
- 5 Q KHUONG-HUU, C MONNERET, I KABORÉ, P. CHOAY, J M TEKAM ET R GOUTAREL, *Bull Soc Chim Fr*, (1971) 864
- 6 J HILDESHEIM, S D. GÉRO, Q KHUONG-HUU ET C MONNERET, *Tetrahedron Lett*, (1969) 2849.
- 7 C L STEVENS, G. W. RANSFORD, G E GUTOWSKI, *Abstr Pap Amer. Chem Soc*, 156 (1968) MEDI-9.
- 8 K MAYER, *Planta Medica* (1971) Suppl 4, p 1
- 9 W MEYER ZU RECKENDORF, N WASSILIADOU-MICHELI ET H MACHLEIDT, *Arch. Pharm (Weinheim)*, 303 (1970) 17.
- 10 T. REICHSTEIN ET E WEISS, *Advan Carbohyd Chem*, 17 (1962) 65
- 11 P CHOAY, C MONNERET ET Q KHUONG-HUU, *Compt Rend, Ser C*, 272 (1971) 782
- 12 B P. SCHAFFNER, L BERNER-FENZ ET H WEHRLI, *Helv Chim Acta*, 53 (1970) 2266
- 13 P LONGEVIALLE, P DEVISSAGUET, Q KHUONG-HUU ET H M FALES, *Compt Rend, Ser C*, 273 (1971) 1533