

Première Hémissynthèse d'un Composé de Type Taxane Porteur d'un Groupement Oxétane en 4(20),5.

Laurent ETTOUATI, Alain AHOND*, Christiane POUPAT* et Pierre POTIER

Institut de Chimie des Substances Naturelles, C.N.R.S., 91198 GIF-SUR-YVETTE Cedex, FRANCE

(Received in Belgium 23 September 1991)

Key Words: Taxane hemisynthesis - Oxetane - Taxine B - Stereoselective reduction

Résumé : Le 1,2,9,10-diO-isopropylidène de la 2,4,9,10,13-pentadésacétyl-7-désacétoxybaccatine IV a été préparé en neuf étapes à partir de la taxine B préalablement transformée en 2 α ,9 α ,10 β -triacétyl-5 α -cinnamoyltaxicine I. En réduisant stéréosélectivement le groupement cétonique en 13, on aboutit à une molécule qui possède deux éléments considérés comme indispensables à l'activité antitumorale du taxol, à savoir le groupement oxétane en 4(20),5 et l'hydroxyle estérifiable en 13 α .

Abstract : The 1,2,9,10-diO-isopropylidene derivative of 2,4,9,10,13-pentadecacetyl-7-deacetoxybaccatin IV has been prepared in nine steps from taxine B, previously transformed in 2 α ,9 α ,10 β -triacetyl-5 α -cinnamoyltaxicine I. The stereoselective reduction of the ketonic group in position 13 provides finally a molecule with an oxetane ring at positions 4(20),5 and the esterifiable hydroxyle in 13 α position, both being proved to be necessary to the antitumoral activity of the taxol.

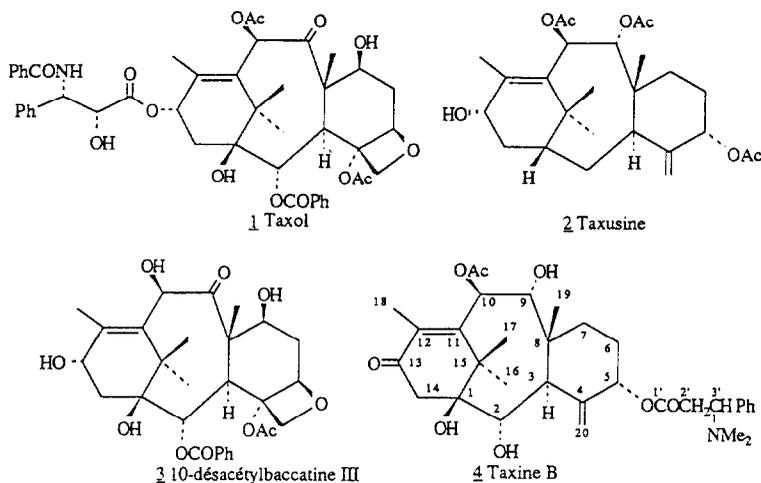
La découverte des propriétés antitumorales originales du taxol 1 en 1971¹ a suscité de nombreux travaux phytochimiques aussi bien que hémissynthétiques et synthétiques²⁻⁴.

L'obtention de quantités importantes de taxol nécessaires à son développement clinique est longtemps resté un problème qui est maintenant en passe d'être résolu. On l'a d'abord difficilement extrait des écorces de différentes espèces de *Taxus* avec des rendements médiocres (50 à 150 mg/kg) même si, tout récemment, deux équipes américaines ont décrit son isolement à partir des feuilles^{5,6} : l'utilisation des feuilles aurait l'avantage de ménager les arbres. Pour résoudre le problème crucial de l'approvisionnement, plusieurs solutions ont été envisagées :

- la première est la synthèse totale du taxol 1 : elle représente un défi important qui n'a pas encore été relevé. Parmi les nombreuses approches de synthèse, celle de Holton et coll.⁷ a conduit à la molécule de type taxane la plus élaborée, l'énantiomère non naturel de la taxusine 2.

- la deuxième solution est l'hémissynthèse à partir d'un composé naturel plus abondant et plus facile d'accès que le taxol lui-même. Ce fut la voie fructueuse adoptée par Guénard et coll.^{8,9} en utilisant la 10 β -désacétylbaccatine III, 3, extraite des feuilles de *Taxus baccata* L. La structure du composé 3 ne diffère de celle du taxol que par l'absence de l'acétyle en 10 et celle de l'ester en 13. La transformation de la 10 β -désacétylbaccatine III, 3, en taxol 1 fut l'occasion d'évaluer l'activité biologique des intermédiaires préparés et d'en découvrir un plus actif que le taxol, le Taxotère^R 10.

Après avoir isolé, d'un Conifère endémique de Nouvelle-Calédonie, *Austrotaxus spicata*^{11,12}, de nombreux dérivés de type taxane, alcaloïdiques pour la plupart, et porteurs d'un méthylène exocyclique ou d'un époxyde en 4(20), nous avons entrepris d'utiliser ces composés pour réaliser l'hémisynthèse de dérivés oxétaniques 4(20),5, sachant que le groupement oxétane est un élément structural important pour l'activité du taxol.



Mais il nous fut plus aisé de nous procurer des feuilles de l'if d'Europe, *Taxus baccata* L., que celles d'*Austrotaxus spicata*. Nous en avons isolé les alcaloïdes totaux (A.T., 6,9 g/kg) sachant que le constituant majoritaire (20%) est la taxine B, **4**¹³. Celle-ci, dont la structure vient d'être révisée¹⁴, est facilement transformée, par désamination et acétylation¹⁵, en 2 α ,9 α ,10 β -triacétyl 5 α -cinnamoyltaxine I **5**, qui nous est apparue comme un substrat intéressant pour obtenir un composé porteur d'un oxétane en 4(20),5 et de deux hydroxyles estérifiables en 4 α et 13 α (éléments structuraux importants pour l'activité biologique du taxol).

Les alcaloïdes totaux ont été extraits des feuilles d'if par une méthode plus douce¹⁴ que celle habituellement décrite² : macération chlorométhylénique, après alcalinisation, puis passage acide-base pour éliminer les produits neutres.

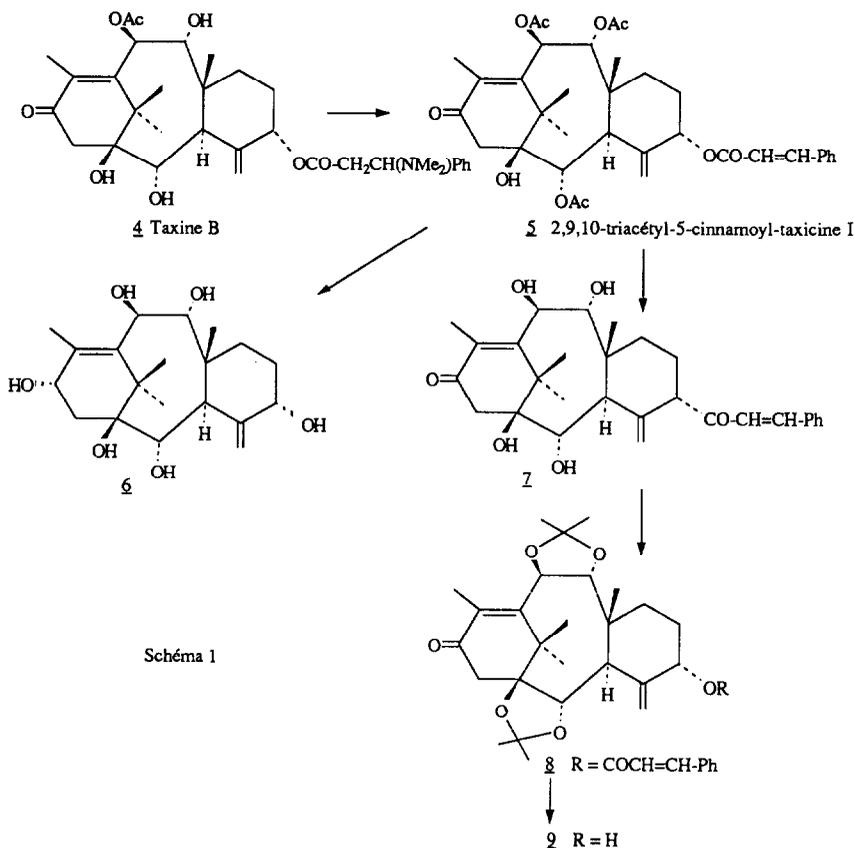
Selon la méthode décrite par Baxter et coll.¹⁶, les A.T. sont quaternarisés avec l'iode de méthyle, désaminés par une solution aqueuse de K₂CO₃ avant d'être acétylés (anhydride acétique/pyridine pendant 3 jours). Après séparation par chromatographie, on obtient la 2 α ,9 α ,10 β -triacétyl 5 α -cinnamoyltaxine I, **5**, avec un rendement de 3,3 g/kg à partir des feuilles sèches d'if.

Deux voies ont été successivement envisagées pour obtenir un intermédiaire susceptible d'être transformé sur les positions 4, 5 et 13 : réduction ou solvolysé des esters, avec ou non réduction régio- et stéréosélective de la cétone allylique en 13 puis protection des hydroxyles en 1, 2, 9 et 10. (Schéma 1).

. La première voie consistait à tenter de réduire esters et cétone en 13 ; parmi les réducteurs décrits pour privilégier l'attaque en 1, 2 des cétones allyliques, l'hydrure d'aluminium-lithium (LiAlH₄) et de diisobutyl-aluminium (DIBAH) ont été utilisés : c'est le DIBAH, dans le toluène à 0°C, qui a permis d'obtenir l'hexaol désiré, **6**, mais avec seulement 26% de rendement.

. Au vu de ce résultat médiocre, la deuxième voie a été suivie, qui consistait à solvolysé les esters, en conservant la cétone en 13.

Baxter et coll. ont décrit la transformation de 5 en 5 α -cinnamoyl-taxicine I, 7, par méthanolyse selon Zemplén¹⁷ : en optimisant les conditions opératoires (MeONa 0,1 N/MeOH-CH₂Cl₂/0°/50 h), le dérivé 7 est obtenu avec un rendement de 62%.



Les quatre hydroxyles du tétrol 7 ont été "protégés" sous forme de diacétonide 8 par action de l'acétone en présence d'acide sulfurique concentré (rendement 69%). Notons que Harrison et coll.¹⁸ n'ont obtenu que le monoacétonide-9,10 en opérant dans l'acétone en présence du CuSO₄ anhydre.

Finalement, la solvolèse de l'ester cinnamique en position 5 a été réalisée par chauffage à reflux du diacétonide, 8, dans le THF, en présence de soude 20 N : le rendement en alcool 9 est de 98%.

Le double objectif était alors de préparer un composé hydroxylé en 4 α , porteur d'un oxétane en 4(20),5 et d'un hydroxyle estérifiable en 13 α .

* Si de nombreux travaux ont été publiés sur la synthèse du squelette taxane, seules trois études décrivent la synthèse du groupement oxétane, dans des séries plus simples, deux, réussies, sur des cyclohexanes substitués^{19,20} et une, infructueuse, en série méthyltransdécaldine²¹.

Plusieurs approches ont été envisagées et éprouvées pour créer l'oxétane en 4, 5 de l'alcool 9 ; une seule a permis d'aboutir : le dérivé diacétonide, 9, est dihydroxylé en 4, 20 selon Van Rheen et coll.²² ; des modifications apportées aux conditions opératoires décrites par ces auteurs ont permis

d'obtenir le triol, **10**, avec un rendement de 81%. (Schéma 2). La présence du méthyle angulaire **19**, qui encombre la face β du cycle C, permet de proposer la configuration α pour l'hydroxyle en 4.

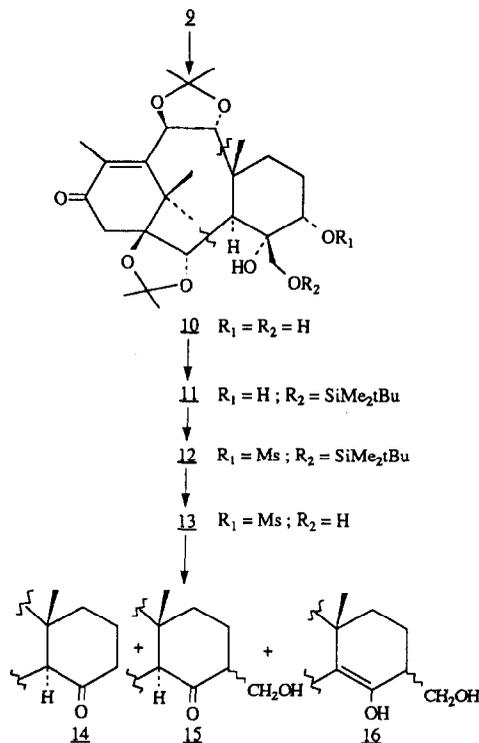


Schéma 2

L'alcool primaire du triol, **10**, est silylé par le chlorure de *t*-butyldiméthylsilyle : ce groupement protecteur aura l'avantage d'être facilement enlevé plus tard par les ions fluorures en présence des acétonides.

L'hydroxyle secondaire en 5 du O-silyldiol **11** ainsi obtenu est alors activé sous forme de mésylate **12** (rendement global $10 \rightarrow 12 = 88\%$).

Après déprotection de l'hydroxyle primaire par les ions fluorures, différents essais de cyclisation, en milieu basique, du diol formé, **13**, ont été tentés pour obtenir l'oxétane recherché :

- Par action de l'hydrure de sodium dans le THF, au lieu du composé attendu, on obtient les dérivés **14**, **15** et **16** (rendements respectifs : 21 ; 3,5 ; 26%). La formation de **14** peut s'expliquer par une élimination concertée de formaldéhyde et de l'anion mésyle, l'énol intermédiaire donnant ensuite le dérivé **14**. Les dérivés **15** et **16** résulteraient d'une transposition en 5 de l'hydroxyméthylène avec départ concerté de l'anion mésyle. Des expériences "N.O.E."-différence n'ont pas permis d'établir la configuration du carbone C_5 qui, en milieu alcalin, pourrait être engagé dans un équilibre céto-énolique $15 \rightarrow 16$. La remarquable stabilité de l'énol **16** peut s'expliquer par la tétrasubstitution de la double liaison 3, 4 et par l'encombrement stérique²³.

- Par action du t-butylate de potassium dans le THF, le composé 13 donne les mêmes dérivés 14 et 16 (rendements = 19 et 47%).

N'ayant pu obtenir la formation de l'oxétane par cyclisation directe en milieu basique, une voie alternative fut tentée : inversion de la configuration de l'hydroxyle en 5 pour obtenir un dérivé qui, après transformation, pourrait conduire à un composé oxétanique *via* une réaction de Mitsunobu. (Schéma 3). L'inversion du mésyle en 5 α en acétoxy en 5 β fut tentée par l'acétate du N-tétrabutylammonium, déjà utilisé comme nucléophile²⁴. De façon heureuse, le produit majoritaire de la réaction fut le dérivé oxétanique recherché 17 (rendement 80%) ; il se forme également 10% du dérivé acétylé 18.

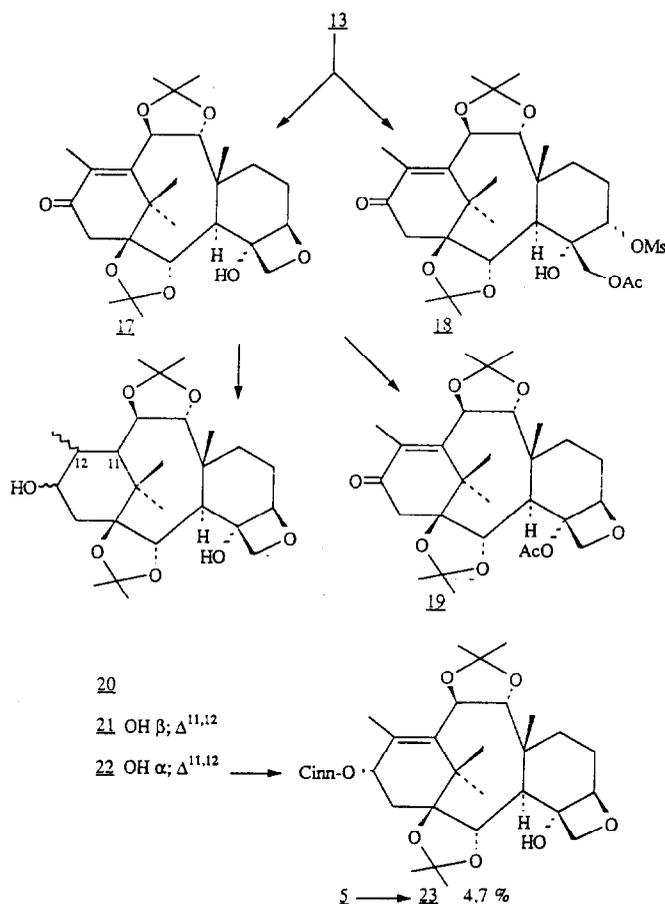


Schéma 3

La formation du composé oxétanique 17 peut s'expliquer sans doute, par le caractère moins basique de l'acétate du N-tétrabutylammonium comparé à celui de l'hydruire de sodium ou du t-butylate de potassium utilisés précédemment : le proton de l'hydroxyle primaire peut être arraché et la cyclisation se faire.

Après ce résultat, suivant les travaux de Lin et coll.²⁰, nous avons essayé de cycliser directement le composé 12 en oxétane 17 en utilisant le fluorure de N-tétrabutylammonium dans le THF à reflux : nous n'avons obtenu 17 qu'avec un rendement de 22%.

Le composé oxétanique 17 s'acétyle difficilement en 4 α (Ac₂O, diméthylaminopyridine, CH₂Cl₂ à reflux) en dérivé 19 qui possède donc l'oxétane 4 α acétylé comme le taxol 1 et ses dérivés.

* La première partie de notre objectif était atteinte ; mais il fallait encore réussir la réduction régio et stéréosélective de la cétone allylique en 13 du composé 17. Différents essais de réduction ont été tentés :

- par le borohydruire de sodium en présence de chlorure de cérium²⁵, on obtient la dégradation du produit de départ.

- sans addition de sels de cérium, deux composés sont isolés, le dérivé tétrahydrogéné 11,12,13, 20, et le dérivé 13 β -hydroxylé, 21 (rendements respectifs 45 et 25%). Les expériences de double irradiation en RMN du proton et l'étude des modèles Dreiding n'ont pas permis d'établir la stéréochimie des carbones 11, 12, 13.

- par action de LiAlH₄ dans l'éther éthylique à 0°, on obtient majoritairement le composé 13 β hydroxylé, 21 (rendement 39%).

- finalement, et malgré le faible rendement obtenu dans la transformation de 5 en 6 (*vide supra*), nous avons tenté la réduction de 17 par le DIBAH à 0° : à côté de l'alcool 13 β , 21, déjà obtenu (ici rendement 13%), on obtient majoritairement (39%) l'alcool 13 α désiré, 22. Un spectre de NOESY du composé 22 a permis de confirmer la stéréochimie de l'hydroxyle en 13 α ainsi que celle de l'oxétane en 4 β (20),5 β .

L'estérification de l'hydroxyle en 13 α du composé 22 a été effectuée par action de l'acide cinnamique en présence de dicyclohexylcarbodiimide et de 4-diméthylaminopyridine [on sait que l'acide cinnamique peut être utilisé pour préparer la chaîne du taxol²⁶] : l'estérification se fait, dans ce cas, aisément et avec un bon rendement (57%).

CONCLUSION

Nous avons réalisé, à partir de la taxine B, matière première assez facile d'accès puisqu'extrait des feuilles d'if, l'hémisynthèse, avec un rendement satisfaisant, d'un composé de type taxane possédant un cycle oxétane en positions 4(20),5 et un hydroxyle acylable en position 13 α , ce qui constitue une approche intéressante sur la voie d'une nouvelle hémisynthèse du taxol et l'obtention de dérivés utiles pour les études de relations entre structures et activité pharmacologique.

Remerciements

Nous remercions vivement le Dr. A. Almourabit et M. P. Mayer pour la réalisation de nombreux spectres de RMN.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Généralités

Les chromatographies sur colonne ont été réalisées selon la technique de la "chromatographie-éclair"²⁷ sur silice Chromagel SDS 60 Å (40-60 µm). Les chromatographies préparatives sur couche épaisse (cce) ont été réalisées sur gel de silice Merck 60 PF 254 (Art. 7747) et les chromatographies analytiques, sur couche mince (ccm), sur gel de silice Merck 60 F 254 (Art. 5715). Les points de fusion (F) ont été mesurés sur banc Kofler ou au microscope chauffant Reichert-Thermovar sauf indication contraire. Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés dans le CHCl₃, les spectres ultra-violet (UV) enregistrés dans l'éthanol à 95° et les spectres infra-rouge (IR) dans le CHCl₃. Les spectres de masse (SM) ont été réalisés : sur appareil Kratos MS 50 à 70 eV, sous 8 kV de tension, pour l'impact électronique (SMIE), sur appareil AEI MS 9, avec l'isobutane comme gaz vecteur, pour l'ionisation chimique (SMIC), et, sur appareil Kratos MS 80 en mode positif pour le bombardement atomique rapide (FAB), en présence de NaCl. Sauf indication contraire, les spectres de RMN du ¹H ont été enregistrés dans CDCl₃ sur appareil Bruker WP 200, AC 200 (à 200, 13 MHz), WP 400 ou AC 400 (à 400, 13 MHz) et ceux de RMN du ¹³C (à 50, 32 MHz) sur appareil Bruker WP 200 ou AC 200, avec découplage à large bande des protons, puis J-modulation de l'écho de spin.

Extraction

Les tiges feuillées d'if, récoltées en avril (28 kg de poudre), sont humidifiées avec de l'ammoniac au quart (13,5 l), puis placées dans deux macérateurs. On ajoute ensuite du CH₂Cl₂. Chaque jour (10 j), on vide les macérateurs que l'on recharge avec du CH₂Cl₂. L'extraction est suivie avec le réactif de Valsler-Mayer sur une aliquote d'éluat. Le CH₂Cl₂ est concentré au fur et à mesure jusqu'à un volume final de 80 l. Les alcaloïdes totaux (AT) sont extraits par HCl à 2% (175 l). L'eau acide est lavée par de l'heptane (75 l) puis réextraite par CH₂Cl₂ (80 l) après alcalinisation par NH₄OH concentrée (3,6 l). On sèche les phases CH₂Cl₂ par Na₂SO₄ (200 g), puis, après filtration, on évapore à siccité : on obtient 192 g d'une poudre amorphe jaunâtre (rdt 6,86 g/kg de plante sèche).

Quaternarisation des AT

Dans un ballon de 250 ml, on met en solution dans 80 ml de THF anhydre, 26 g d'alcaloïdes totaux (AT), sous forte agitation. On ajoute goutte à goutte 15 ml d'ICH₃. Après 5 heures de réaction à température ambiante, il n'y a plus de produit de départ (contrôle par ccm) : le solvant est évaporé sous pression réduite. On obtient 32,5 g d'une poudre jaune.

Désamination des AT quaternarisés

Dans une solution de K₂CO₃ à 2% (350 ml) à température ambiante, on ajoute goutte à goutte une solution dans l'éthanol absolu (250 ml) des AT quaternarisés (32 g). Il se forme un précipité jaunâtre qui se solubilise ensuite. Après 3 h de réaction, on concentre le milieu réactionnel pour enlever l'éthanol, puis on extrait la solution aqueuse par CH₂Cl₂ (6 x 100 ml). On sèche la phase organique sur MgSO₄ : on récupère, après évaporation, 23 g d'une poudre jaune.

Acétylation et purification des diterpènes ---> 2 α ,9 α ,10 β -triacétyl 5 α -cinnamoyl taxicine I, 5

L'extrait brut obtenu ci-dessus est acétylé dans le mélange pyridine (50 ml)/anhydride acétique (30 ml) à température ambiante. Trois jours plus tard, on arrête la réaction en ajoutant de l'EtOH absolu (40 ml) à 0° puis on évapore à sec. Le résidu est extrait par AcOEt (150 ml) ; la solution organique est lavée 3 fois par HCl 0,25 N (100 ml), puis par H₂O (100 ml). Après évaporation de la solution organique séchée (MgSO₄), on obtient 24 g de mélange diterpénique. Ce mélange est déposé sous forme d'une pâte (100 g de silice 60-200 μ m) sur une colonne de silice (O 100 ; h 170 mm) puis chromatographié avec le mélange éluant Heptane/AcOEt 6/4. On obtient cinq fractions : F1 = 1 g ; F2 = 2 g ; F3 = 11,5 g du composé 5 (52% du mélange) ; F4 = 4 g ; F5 = 3,5 g.

2 α ,9 α ,10 β -triacétyl-5 α -cinnamoyl taxicine I 5

C₃₅H₄₂O₁₀ - Microanalyse % Tr (Calc) : C 67,7 (67,5) ; H 6,9 (6,8) ; O 25,5 (25,7). F = 235-237° C (EtOH) [Litt. 237-239, EtOH¹⁶]. [α]_D + 154° (c = 0,6) [Litt. + 218°, CHCl₃¹⁶]. UV : 281 nm (24000). IR : 3550, 1720, 1665, 1635, 1365, 1220, 1020 cm⁻¹. SMIC (m/z) : 623 (MH⁺), 605, 563, 545, 503, 475, 457, 415, 397, 355, 337, 295, 149. RMN ¹H (200 MHz) : 7,77 (m, 2H, Ph), 7,70 [d, J = 16 Hz, 1H, H(3')], 7,45 (m, 3H, Ph), 6,45 [d, J = 16 Hz, 1H, H(2')], 6,13 [d, J = 10 Hz, 1H, H(10)], 5,95 [d, J = 10 Hz, 1H, H(9)], 5,63 [d, J = 7 Hz, 1H, H(2)], 5,37 [m, 2H, H(5) et H(20)], 4,70 [s, 1H, H(20)], 3,55 [d, J = 7 Hz, 1H, H(3)], 2,93 [d, J = 20 Hz, 1H, H(14 α)], 2,68 [d, J = 20 Hz, 1H, H(14 β)], 2,33 [s, 3H, H₃(18)], 2,20 (s, 3H, Me-CO), 2,17 (s, 3H, Me-CO), 2,13 (s, 3H, Me-CO), 1,75 [s, 3H, H₃(16)], 1,27 [s, 3H, H₃(17)], 0,98 [s, 3H, H₃(19)]. E.O.N. irradiation à 1,27 [H₃(17)] ---> réponse à 2,88 [H(14 β)]. RMN ¹³C: 199,2 (C-13), 171,6 - 169,9 - 169,6 (3 CH₃-C=O), 166,2 (C-1'), 152,4 (C-11), 145,8 (C-3'), 142,2 (C-4), 139,9 (C-12), 134,6 (C-1"), 130,4 (C-4"), 129,0 (C-3", C-5"), 128,5 (C-2", C-6"), 117,9 (C-2'), 116,9 (C-20), 78,6 (C-1), 78,3 (C-5), 75,5 (C-9), 73,2 (C-10), 72,0 (C-2), 46,0 (C-3), 44,7 (C-14), 44,0 (C-8), 42,9 (C-15), 34,3 (C-17), 28,6 (C-6), 27,6 (C-7), 21,1 - 20,9 - 20,7 (3 CH₃-COO), 19,8 (C-16), 17,5 (C-19), 13,9 (C-18).

Réduction de 5 ---> 6

A 21,2 mg de 5 en solution dans 1 ml de toluène, on ajoute, à la température du bain de glace, 0,24 ml d'une solution de DIBAH (1 M, toluène). Après 6,5 h, on ajoute quelques gouttes de MeOH, on laisse agiter 15 minutes à température ambiante et on filtre. Le résidu est purifié sur ccc (AcOEt/MeOH : 97/3) : on obtient 3,3 mg de 6 (rdt 26%).

C₂₀H₃₂O₆. Amorphe. [α]_D + 362° (c = 0,33 ; MeOH). IR : 3388, 1637, 1448, 1061, 1012 cm⁻¹. SM(FAB) (thioglycérol, m/z) : 391 (MNa⁺), 373. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD à 3,33 ppm) : 5,45 [t, J = 1,5 Hz, 1H, H(20)], 5,17 [d, J = 2 Hz, 1H, H(20)], 4,77 [d, J = 10 Hz, 1H, H(10)], 4,50 (dd ép., J = 10 et 5 Hz, 1H, H(13)), 4,13 [s ép., w_{1/2} = 5 Hz, 1H, H(5)], 3,92 [d, J = 10 Hz, 1H, H(9)], 3,88 [d, J = 5 Hz, 1H, H(2)], 3,50 [d ép., J = 5 Hz, 1H, H(3)], 2,35 [dd, J = 16 et 10 Hz, 1H, H(14)], 2,03 [d, J = 1 Hz, 3H, H₃(18)], 2,0 [dd, J = 16 et 4 Hz, 1H, H(14)], 1,65 [m, 4H, H₂(6) et H₂(7)], 1,47 [s, 3H, H₃(16)], 1,12 [s, 3H, H₃(17)], 1,08 [s, 3H, H₃(19)].

Méthanolyse de 5 ---> 7

A une solution de CH₂Cl₂ (17,5 ml)/MeOH (25 ml) de 8 g de 5, on ajoute, à température du bain de glace, 229 mg de MeONa (solution à 0,1 N). Après 50 h de réaction, on neutralise la solution par HCl

0,1 N et on concentre sous pression réduite. Après extraction par AcOEt, la phase organique est lavée par l'eau distillée, séchée par MgSO₄ et évaporée à sec. Le résidu est déposé sur de la silice (70 g) puis chromatographié sur une colonne de silice (Ø 100 mm ; h 170 mm) dans l'éluant Heptane/AcOEt : 6/4. On récupère 4 g de 7 (rdt = 62%).

5 α -cinnamoyl taxicine I 7

C₂₉H₃₆O₇. F = 228-230°C, AcOEt-éther de pétrole. [Litt. 233-234, AcOEt-éther de pétrole¹⁶]. [α]_D + 217° (c = 1,54). [Litt. [α]_D + 285°, CHCl₃¹⁶]. IR : 3575, 3350, 1710, 1670, 1640, 1190 cm⁻¹. SMIC (m/z) : 497 (MH⁺), 479, 461, 443, 349, 331, 313, 295, 149. RMN ¹H (200 MHz) : 7,73 (m, 2H, Ph), 7,63 [d, J = 16 Hz, 1H, H(3')], 7,43 (m, 3H, Ph), 6,38 [d, J = 16 Hz, 1H, H(2')], 5,47 [s, 1H, H(20)], 5,40 [s, 1H, H(20)], 5,32 [s ép., 1H, H(5)], 4,92 [d, J = 9 Hz, 1H, H(10)], 4,17 [d, J = 9 Hz, 1H, H(9)], 4,05 [d, J = 6,5 Hz, 1H, H(2)], 3,35 [d, J = 9 Hz, 1H, H(3)], 2,68 [pseudo s, 2H, H₂(14)], 2,43 [m, 3H échangeables D₂O, 3 OH], 2,10 [s, 3H, H₃(18)], 1,60 [s, 3H, H₃(16)], 1,33 [s, 3H, H₃(17)], 1,15 [s, 3H, H₃(19)]. RMN ¹³C : 200,3 (C-13), 166,6 (C-1'), 158 (C-11), 145,9 (C-3'), 144,0 (C-4), 137,0 (C-12), 134,4 (C-1''), 130,5 (C-4''), 129,0 (C-3'', C-5''), 128,5 (C-2'', C-6''), 117,8 (C-20, C-2'), 78,5 (C-5), 78,2 (C-1), 77,1 (C-10), 73,2 (C-9), 71,5 (C-2), 46,7 (C-3), 45,1 (C-8), 44,4 (C-14), 42,6 (C-15), 34,6 (C-17), 29,0 (C-6), 26,5 (C-7), 20,3 (C-16), 17,8 (C-19), 13,9 (C-18).

Préparations du diacétonide 8

1) A une solution de 42 mg de 7 dans 1 ml de 2,2-diméthoxypropane, on ajoute une quantité catalytique d'APTS. Après 8 jours, on neutralise le milieu réactionnel par une solution de HNaCO₃ à 5% et on extrait par AcOEt. La phase organique est lavée et séchée (MgSO₄). Le résidu est chromatographié sur une cce (éluant CH₂Cl₂). On obtient 29 mg de 8 (rdt 59%).

2) A une solution de 4 g de 7 dans 12 ml d'acétone, on ajoute, à la température du bain de glace, 12 gouttes de H₂SO₄ concentré. Après 48 h de réaction, on ajoute au milieu réactionnel 25 ml d'une solution saturée de HNaCO₃. On extrait l'ensemble par CH₂Cl₂ ; les phases organiques sont lavées par de l'eau distillée puis séchées. On chromatographie le résidu sur une colonne de silice (Ø 80 mm ; h 160 mm) avec le mélange éluant Heptane/AcOEt : 9/1. On obtient 3,2 g du composé tétraprotégé 8 (rdt 69%).

Diacétonide 8

C₃₅H₄₄O₇. F 148-150°C (EtOH). [α]_D + 204° (c = 0,84). IR : 1710, 1675, 1640, 1380, 1175, 1050 cm⁻¹. SMIC (m/z) : 577 (MH⁺), 519, 429, 371, 353, 313, 149. RMN ¹H (200 MHz) : 7,73 (m, 2H, Ph), 7,63 [d, J = 16 Hz, 1H, H(3')], 7,45 (m, 3H, Ph), 6,33 [d, J = 16 Hz, 1H, H(2')], 5,58 [t, J = 1 Hz, 1H, H(20)], 5,33 [t ép., J = 2 Hz, 1H, H(5)], 5,28 [s ép., w_{1/2} = 8 Hz, 1H, H(20)], 4,90 [d, J = 9 Hz, 1H, H(10)], 4,28 [d, J = 9 Hz, 1H, H(9)], 4,23 [d, J = 6 Hz, 1H, H(2)], 3,03 [d, J = 6 Hz, 1H, H(3)], 2,81 [d, J = 20 Hz, 1H, H(14)], 2,67 [d, J = 20 Hz, 1H, H(14)], 2,13 [s, 3H, H₃(18)], 1,58 - 1,50 - 1,43 - 1,38 - 1,37 - 1,33 [6s, 6 x 3H, 4 Me acétonide + H₃(17) + H₃(16)], 1,08 [s, 3H, H₃(19)].

Hydrolyse de 8 ---> 9

A 751 mg de diacétonide 8 dans 12 ml de THF, on ajoute 4 ml d'une solution aqueuse de soude 20 N et on chauffe à reflux pendant 4 jours. Le milieu réactionnel est dilué avec de l'eau distillée et

extrait par CH_2Cl_2 . La phase organique est lavée avec une solution saturée de NaCl puis séchée. Après évaporation du solvant, on obtient 568 mg de **9** (rdt 98%).

Alcool **9**

$\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_6$. F = 254-256 °C (EtOH). $[\alpha]_{\text{D}} + 241^\circ$ (c = 1,42). UV : 272 nm (3300). IR : 3550, 1675, 1380, 1220, 1045 cm^{-1} . SMIC (m/z) : 447 (MH^+), 429, 389, 371, 331, 313. RMN ^1H (400 MHz) : 5,47 [t, J = 1,5 Hz, 1H, H(20)], 5,08 [s ép., w1/2 = 4 Hz, 1H, H(20)], 4,91 [d, J = 9 Hz, 1H, H(10)], 4,20 [d, J = 9 Hz, 1H, H(9)], 4,19 [d, J = 6 Hz, 1H, H(2)], 4,16 [s, 1H, H(5)], 3,19 [d ép., J = 6Hz, 1H, H(3)], 2,70 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 2,63 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 2,06 [s, 3H, H₃(18)], 1,76 à 1,58 [m, 4H, H₂(6) et H₂(7)], 1,57 - 1,50 - 1,45 - 1,39 - 1,37 - 1,31 [6s, 6 x 3H, 4 Me acétonide + H₃(16) + H₃(17)], 1,04 [s, 3H, H(19)]. RMN ^{13}C : 200,5 (C-13), 152,4 (C-11), 146,3 (C-4), 141,4 (C-12), 114,7 (C-20), 107,9-105,7 (2 Me₂-C-O), 85,0 (C-1), 82,4 (C-5), 76,2 - 75,9 - 75,6 (C-10, C-9, C-2), 45,1 (C-14), 41,4 - 41,1 (C-15, C-8), 40,0 (C-3), 33,7 (C-17), 30,1 (C-6), 28,0 - 27,2 - 26,9 - 26,1 (2 Me₂-C-O), 25,5 (C-7), 19,9 (C-16), 17,3 (C-19), 14,4 (C-18).

Préparation du triol **10**

On dissout 608 mg de l'alcool **9** dans un mélange THF/H₂O : 8 ml/4 ml. Sous agitation, on ajoute 2,39 g de N-oxyde de N-méthyl morpholine et 1,15 ml d'une solution de OsO₄ à 2,5% partie/partie dans le t-BuOH : rapidement le milieu réactionnel devient rougeâtre. Après 19 h, on ajoute à ce milieu réactionnel, 400 mg de Florisil, 5 ml d'H₂O distillée et 50 mg de Na₂O₄S₂ ; on laisse en contact 10 mn et on filtre sur un verre fritté : la solution est neutralisée par HCl 0,1 N. La solution est concentrée sous vide, extraite à pH 4 par AcOEt ; la solution organique est lavée par une solution aqueuse saturée de NaCl. Après traitements habituels, le résidu recueilli par évaporation est chromatographié sur colonne (Ø 30 mm ; h 180 mm) avec l'éluant Heptane/AcOEt = 6/4. On obtient 530 mg du triol **10** (rdt 81%).

Triol **10**

$\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{O}_8$. F = 102-104 °C (Et₂O/Heptane). $[\alpha]_{\text{D}} + 8,5^\circ$ (c = 1,62). IR : 3400, 1650, 1360, 1200, 1040, 1010 cm^{-1} . SMIC (m/z) : 481 (MH^+), 463, 445, 423, 405, 387, 369, 365, 347, 329, 311. RMN ^1H (400 MHz) : 4,83 [d, J = 9 Hz, 1H, H(10)], 4,21 [d, J = 5 Hz, 1H, H(2)], 4,17 [d, J = 9 Hz, 1H, H(9)], 3,99 [d, J = 11 Hz, 1H, H(20)], 3,85 [s ép., w1/2 = 7 Hz, 1H, H(5)], 3,61 [d, J = 11 Hz, 1H, H(20)], 3,22 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 2,69 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 2,66 [d, J = 5 Hz, 1H, H(3)], 2,05 [s, 3H, H₃(18)], 1,57 - 1,51 - 1,50 - 1,46 - 1,44 - 1,35 [6s, 6 x 3H, 4 Me acétonide + H₃(16) + H₃(17)], 1,11 [s, 3H, H₃(19)].

Protection de l'alcool primaire **10** ---> **11**

On prépare une solution de 644 mg d'imidazole et de 586 mg de chlorure de t-butylidiméthylsilyle dans 5 ml de DMF. Après 15 mn, on ajoute 336 mg de **10**. Après 16 h, le milieu réactionnel est versé sur de la glace pilée ; le précipité formé est lavé par H₂O distillée. On reprend le précipité par AcOEt, on sèche la solution avec MgSO₄ et on évapore à sec. On obtient 422 mg de **11** (rdt quantitatif).

Dérivé silylé 11

$C_{32}H_{54}O_8Si$. F = 178-180°C (EtOH). $[\alpha]_D + 188^\circ$ (c = 0,47). IR : 3450, 1660, 1370, 1220, 1160, 1060 cm^{-1} . SMIE (m/z, %) : 594 (21), 576 (7), 536 (1), 518 (1), 479 (3), 462 (1), 444 (5), 421 (3), 403 (5), 386 (6), 207 (32), 75 (77), 73 (100). RMN 1H (400 MHz) : 4,82 [d, J = 9 Hz, 1H, H(10)], 4,21 [d, J = 9Hz, 1H, H(9)], 4,16 [d, J = 9 Hz, 1H, H(20)], 4,11 [d, J = 4 Hz, 1H, H(2)], 3,70 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 3,61 [s ép., w_{1/2} = 6 Hz, 1H, H(5)], 3,57 [m, 1H, HO], 3,48 [d, J = 9 Hz, 1H, H(20)], 2,57 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 2,52 [d, J = 4 Hz, 1H, H(3)], 2,02 [s, 3H, H₃(18)], 1,55 - 1,48 - 1,45 - 1,42 - 1,37 - 1,32 [6s, 6 x 3H, 4 Me-acétonide + H₃(16) + H₃(17)], 1,02 [s, 3H, H₃(19)], 0,90 [s, 9H, t-But-Si], 0,07 - 0,065 (2s, 2 x 3H, Me₂Si).

Mésylation de 11 ---> 12

Dans une solution pyridinique (10 ml) de 422 mg de 11, on ajoute, à température du bain de glace, 0,25 ml de ClSO₂CH₃ goutte à goutte et on laisse revenir à la température ambiante. Après 17 h, on ajoute 70 ml de CH₂Cl₂ ; après lavage par HCl 0,01 N, puis par une solution saturée de HNaCO₃, on sèche la phase organique sur MgSO₄. L'évaporation du solvant fournit 421 mg de 12 (rdt = 88%).

Dérivé 12

$C_{33}H_{56}O_{10}SSi$. Amorphe. $[\alpha] + 186^\circ$ (c = 1,48). IR : 1660, 1380, 1350, 1160 cm^{-1} . SMIC (m/z) : 673 (MH⁺), 655, 633, 615, 583, 557, 517, 509, 501. RMN 1H (400 MHz) : 4,86 [s ép., 1H, H(5)], 4,82 [d, J = 9 Hz, 1H, H(10)], 4,20 [d, J = 9 Hz, 1H, H(9)], 4,12 [d, J = 10 Hz, 1H, H(2) et d, J = 4 Hz, 1H, H(20)], 3,66 [d, J = 10 Hz, 1H, H(20)], 3,57 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 3,39 [s, 1H, HO(4)], 2,97 (s, 3H, MeSO₂), 2,61 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 2,50 [d, J = 4 Hz, 1H, H(3)], 2,08 [s, 3H, H₃(18)], 1,54 - 1,47 - 1,43 - 1,37 - 1,32 [5s, 2 x 3H, 1 x 6H, 2 x 3H, 4 Me-acétonide + H₃(16) + H₃(17)], 1,07 [s, 3H, H₃(19)], 0,90 (s, 9H, t-But), 0,07 - 0,065 (2s, 2 x 3H, Me₂Si).

Déprotection de l'alcool primaire 12 ---> 13

On traite une solution de 421 mg de 12 dans 5 ml de THF, par 237 mg de fluorure de N-tétrabutylammonium à température ambiante. Après 1 h de réaction, on ajoute au milieu réactionnel de l'AcOEt et on lave la phase organique par une solution saturée de HNaCO₃. La phase organique est séchée et évaporée. Le résidu est chromatographié sur colonne de silice (Ø 30 mm ; h 150 mm) avec le mélange éluant Heptane/AcOEt : 5/5. On obtient 308 mg de 13 (rdt 88%).

Dérivé 13

$C_{27}H_{42}O_{10}S$. Amorphe. $[\alpha]_D + 243^\circ$ (c = 1,08). IR : 3450, 1665, 1375, 1340, 1220, 1170, 1050 cm^{-1} . SMIC (m/z) : 559 (MH⁺), 541, 501, 483, 463, 443, 405, 387, 369, 347, 329, 311. RMN 1H (400 MHz) : 4,98 [s ép., w_{1/2} = 6 Hz, 1H, H(5)], 4,82 [d, J = 10 Hz, 1H, H(10)], 4,19 [d, J = 5 Hz, 1H, H(2)], 4,16 [d, J = 10 Hz, 1H, H(9)], 3,98 [d, J = 11 Hz, 1H, H(20)], 3,90 (s, 1H, HO), 3,70 [d, J = 11 Hz, 1H, H(20)], 3,17 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 2,97 (s, 3H, Me-SO₂), 2,72 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 2,55 [d, J = 5 Hz, 1H, H(3)], 2,10 [s, 3H, H₃(18)], 1,55 - 1,50 - 1,48 - 1,43 - 1,42 - 1,33 [6s, 6 x 3H, 4 Me-acétonide + H₃(16) + H₃(17)], 1,12 [s, 3H, H₃(19)].

Transformation de **13** par l'hydrure de sodium ---> **14**, **15** et **16**

On dissout 31 mg de **13** dans 0,5 ml de THF sous argon, puis on ajoute 2,9 mg de NaH (60% huile). Après 50 mn, on ajoute 1,7 mg de NaH. Trois heures après, on extrait par AcOEt, on lave par de l'eau, puis on sèche la phase organique. Le résidu d'évaporation est purifié sur cce avec le mélange CH₂Cl₂/MeOH : 98/2. On obtient 5 mg de **14** (rdt 21%), 0,9 mg de **15** (rdt 3,5%), 6,9 mg de **16** (rdt 26%) et 1,7 mg de **13** n'ayant pas réagi.

Transformation de **13** par le terbutylate de potassium ---> **14** et **16**

On dissout 9 mg de **13** dans 0,5 ml de THF sous argon ; puis on ajoute 2 mg de tBuOK à température ambiante. Après 30 mn, on extrait par AcOEt, on lave par de l'eau, puis on sèche la phase organique. Le résidu d'évaporation est chromatographié sur cce avec le mélange Hexane/AcOEt: 7/3. On obtient 1,3 mg de **14** (rdt 19%) et 3,5 mg de **16** (rdt 47%).

Dérivé **14**

C₂₅H₃₆O₆. Amorphe. [α]_D + 246° (c = 0,32). IR : 1725, 1675, 1381, 1375, 1225, 1056 cm⁻¹. SMIC (m/z) : 433 (MH⁺), 375, 317. SM(FAB) (thioglycérol, m/z) : 455 (MNa⁺), 433 (MH⁺), 375, 317. RMN¹H (400 MHz) : 4,90 [d, J = 9 Hz, 1H, H(10)], 4,20 [d, J = 9 Hz, 1H, H(9)], 4,10 [d, J = 6 Hz, 1H, H(2)], 2,83 [d, J = 6 Hz, 1H, H(3)], 2,70 [s, 2H, H₂(14)], 2,27 [dd ép., J = 13 et 5 Hz, 1H, H(5)], 2,17 [dd, J = 13 et 6,5 Hz, 1H, H(5)], 2,07 [s, 3H, H₃(18)], 1,55 - 1,50, 1,47 - 1,45 - 1,42 - 1,32 [6s, 6 x 3H, 4 Me-acétonide + H₃(16) + H₃(17)], 1,07 [s, 3H, H₃(19)].

Dérivé **15**

C₂₆H₃₈O₇. Amorphe. [α]_D + 206° (c = 0,14). IR : 3522, 1722, 1676, 1384, 1377, 1224 cm⁻¹. SMIC (m/z) : 463 (MH⁺), 405, 387, 347. RMN¹H (400 MHz) : 4,90 [d, J = 9 Hz, 1H, H(10)], 4,20 [d, J = 9 Hz, 1H, H(9)], 4,12 [d, J = 6 Hz, 1H, H(2)], 3,72 [dd, J = 12 et 3 Hz, 1H, H(20)], 3,55 [dd, J = 12 et 6 Hz, 1H, H(20)], 2,78 [d, J = 6 Hz, 1H, H(3)], 2,73 [d, J = 20 Hz, 1H, H(14)], 2,65 [d, J = 20 Hz, 1H, H(14)], 2,32 [m, 1H, H(5)], 2,07 [s, 3H, 1H, H₃(18)], 1,56 - 1,50 - 1,46 - 1,45 - 1,42 - 1,32 - 1,07 [7s, 7 x 3H, 4 Me-acétonide, H₃(16), H₃(17), H₃(19)].

Dérivé **16**

C₂₆H₃₈O₇. Amorphe. [α]_D + 288° (c = 0,57). IR : 3344, 1669, 1381, 1375, 1231, 1056 cm⁻¹. SMIC (m/z) : 405 (MH⁺-CH₃COCH₃), 387, 347. SM(FAB) (thioglycérol, m/z) : 485 (NNa⁺), 469, 405, 347. RMN¹H (400 MHz) : 8,33 [s, 1H échangeable, HO(4)], 4,77 [d, J = 9 Hz, 1H, H(10)], 4,62 [s, 1H, H(2)], 4,30 [d, J = 9 Hz, 1H, H(9)], 3,55 [dd, J = 10 et 6 Hz, 1H, H(20)], 3,43 [dd, J = 10 et 6 Hz, 1H, H(20)], 3,23 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 2,72 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 2,23 [q ép., J = 6 Hz, 1H, H(5)], 1,95 [s, 3H, H₃(18)], 1,75 ~ 1,65 [m, 3H, H₂(6) + H(7)], 1,57 - 1,50 - 1,45 [3s, 6H, 3H, 6H, 4 Me-acétonide + H₃(16) ou H₃(17)], 1,38 [dd, J = 10 et 4 Hz, 1H, H(7)], 1,32 - 1,23 [2s, 2 x 3H, H₃(17) ou H₃(16) + H₃(19)].

Transformation de 13 ---> 17 + 18

On dissout 29 mg de 13 dans 1 ml de butanone ; puis on ajoute, sous argon et à reflux, 158 mg d'acétate de N-tétrabutylammonium. Après 19 h de réaction, on extrait le milieu réactionnel par AcOEt et on lave la phase organique par HCl 0,1 N puis par une solution saturée en NaCl. Après séchage sur MgSO₄, la solution est évaporée. Le résidu est chromatographié sur cce avec le mélange Heptane/AcOEt : 6/4. On obtient 19,3 mg de 17 (rdt 80%) et 3 mg de 18 (rdt 10%).

Transformation de 12 ---> 17

On dissout 10,6 mg de 12 dans 1 ml de THF puis on ajoute, sous argon et à reflux, 20 mg de fluorure de N-tétrabutylammonium. Après 15 h de réaction, on extrait le milieu réactionnel par AcOEt. Après traitement habituel, et chromatographie du résidu solide sur cce (Heptane/AcOEt : 6/4), on isole 1,6 mg de dérivé 17 (rdt 22%).

Acétylation de 13 ---> 18

Dans les conditions classiques d'acétylation (Ac₂O/Pyridine/DMAP), 4,1 mg de 13 donnent 4,3 mg de 18 (rdt quantitatif).

Dérivé oxétanique 17

C₂₆H₃₈O₇. Amorphe. [α]_D + 213° (c = 0,76). IR : 3544, 1681, 1381, 1375, 1235, 1169, 1050 cm⁻¹. SMIC (m/z) : 405 (MH⁺-CH₃COCH₃), 387, 347, 329. SMIC (NH₃, m/z) : 480 (MNH₄⁺), 422, 405. SM(FAB) (thioglycérol, m/z) : 485 (MNa⁺), 463, 405. RMN ¹H (400 MHz) : 4,77 [dd, J = 8 et 2 Hz, 1H, H(5)], 4,67 [d, J = 9 Hz, 1H, H(10)], 4,55 [d, J = 8 Hz, 1H, H(20)], 4,33 [d, J = 8 Hz, 1H, H(20)], 4,27 [d, J = 9 Hz, 1H, H(9)], 4,23 [d, J = 5,5 Hz, 1H, H(2)], 3,05 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 2,88 [s ép., 1H, HO(4)], 2,63 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 2,08 [m, 2H, H₂(6)], 1,93 [s, 3H, H₃(18)], 1,78 [d, J = 5,5 Hz, 1H, H(3)], 1,58 - 1,57 - 1,50 - 1,45 - 1,42 - 1,38 - 1,32 [7s, 7 x 3H, 4 Me-acétonide + H₃(16) + H₃(17) + H₃(19)]. RMN ¹³C : 199,8 (C-13), 152,8 (C-11), 141,5 (C-12), 107,8 - 107,0 (2 x Me₂-C-O), 86,0 (C-5), 84,5 (C-1), 80,6 (C-20), 77,2 - 76,2 - 75,5 (C-10, C-9, C-2), 75,4 (C-4), 46,4 (C-3), 44,8 (C-14), 41,8 (C-8), 38,5 (C-15), 33,6 (C-17), 28,1 - 27,2 - 26,7 - 26,3 (2 x Me₂-C-O), 27,0 - 26,7 (C-7, C-6), 20,0 (C-16), 17,6 (C-19), 14,3 (C-18).

Dérivé acétylé 18

C₂₉H₄₄O₁₁S. Amorphe. [α]_D + 197° (c = 0,51). IR : 3531, 1731, 1681, 1381, 1375, 1231, 1056, 1037 cm⁻¹. SMIC (m/z) : 601 (MH⁺), 583, 543. RMN ¹H (200 MHz) : 4,97 [d, J = 11 Hz, 1H, H(20)], 4,90 [t, J = 2 Hz, 1H, H(5)], 4,80 [d, J = 9 Hz, 1H, H(10)], 4,18 [m, 3H, H(9) + H(20) + H(2)], 3,50 [m, 1H, HO(4)], 3,23 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 2,93 [s, 3H, MeSO₂], 2,67 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 2,53 [d, J = 3 Hz, 1H, H(3)], 2,10 - 2,08 [2s, 2 x 3H, H₃(18) + MeCO], 1,98 [m, 2H, H₂(6)], 1,67 [m, 1H, H(7)], 1,55 - 1,48 - 1,47 - 1,42 - 1,33 - 1,15 [6s, 3 x 3H, 1 x 6H, 2 x 3H, 4 Me-acétonide + H₃(16) + H₃(17) + H₃(19)].

Acétylation du dérivé oxétanique **17** ---> **19**

Sous argon, à 4,5 mg de **17** en solution dans 0,5 ml de CH₂Cl₂ sont ajoutés 5 µl d'Ac₂O et 6 mg de 4-DMAP. Après 18 h, on ajoute de nouveau 5 µl d'Ac₂O et 6 mg de 4-DMAP et on chauffe à 40°. Au bout de 5 jours, on extrait le milieu réactionnel par CH₂Cl₂. La phase organique est lavée par une solution saturée de NaCl, séchée sur MgSO₄ et évaporée à siccité. On obtient 2,8 mg de **18** (rdt 58%).

Dérivé **19**

C₂₈H₄₀O₈. Amorphe. [α]_D + 229° (c = 0,38). IR : 1725, 1675, 1381, 1375, 1225, 1050 cm⁻¹. SMIC (m/z) : 505 (MH⁺), 447. RMN ¹H (400 MHz) : 4,92 [d ép., J = 9 Hz, 1H, H(5)], 4,72 [d, J = 9 Hz, 1H, H(10)], 4,50 [pseudo t, J = 9 Hz, 2H, H₂(20)], 4,30 [d, J = 9 Hz, 1H, H(9)], 4,20 [d, J = 4,5 Hz, 1H, H(2)], 2,70 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 2,62 [d, J = 19 Hz, 1H, H(14)], 2,50 [d, J = 4,5 Hz, 1H, H(3)], 2,27 [m, 1H, H(6)], 2,02 - 1,88 [2s, 2 x 3H, H₃(18) + MeCO], 1,57 - 1,50 - 1,47 - 1,40 - 1,37 - 1,30 [6s, 1 x 6H, 5 x 3H, 4 Me-acétonide + H₃(16) + H₃(17) + H₃(19)].

Réduction par NaBH₄ de **17** ---> **20** + **21**

On dissout 10,1 mg de **17** dans 1 ml d'EtOH absolu. Puis on ajoute à température ambiante, 6,4 mg de NaBH₄. Après 3 h, on ajoute HCl 0,01 N au milieu réactionnel jusqu'à neutralisation. On extrait avec AcOEt et après traitement habituel, le résidu est chromatographié sur cce avec le mélange Heptane/AcOEt : 4/6. On obtient 4,6 mg de **20** (rdt 45%) et 2,5 mg de **21** (rdt 25%).

Réduction par LiAlH₄ de **17** ---> **21**

On dissout 19 mg de **17** dans 1 ml d'éther éthylique. Puis on ajoute, à température d'un bain de glace et sous argon, 4,1 mg de LiAlH₄. Après 25 mn, on ajoute, goutte à goutte, de l'AcOEt. On lave la phase organique avec une solution saturée de NaCl. Après traitement habituel, le résidu est chromatographié sur cce avec le mélange Heptane/AcOEt : 3/7. On obtient 7,4 mg de **21** (rdt 39%).

Réduction par le DIBAH de **17** ---> **21** + **22**

On dissout 36,5 mg de **17** dans 1 ml de toluène. Puis on ajoute, à température d'un bain de glace et sous argon, 0,4 ml d'une solution 1M de DIBAH dans le toluène. Après 1 h, on ajoute, goutte à goutte, du MeOH, puis on laisse sous agitation 15 mn. On filtre puis on évapore le solvant. Le résidu est chromatographié sur cce avec le mélange Heptane/AcOEt : 6/4. On obtient 4,7 mg de **21** (rdt 13%) et 14,3 mg de **22** (rdt 39%).

Dérivé oxétanique 13β-hydroxylé **21**

C₂₆H₄₀O₇. Amorphe. [α]_D + 131° (c = 0,65). IR : 3537, 1375, 1231, 1175, 1044 cm⁻¹. SM(FAB) (thioglycérol, m/z) : 487 (MNa⁺), 447. RMN ¹H (400 MHz) : 4,80 [dd, J = 8 et 2 Hz, 1H, H(5)], 4,57 [2d, J = 8 Hz et 10 Hz, 2H, H(10) et H(20)], 4,37 [d, J = 8 Hz, 1H, H(20)], 4,13 [2d, J = 4 Hz et 10 Hz, 2H, H(9) et H(2)], 3,93 [dd, J = 10 et 4 Hz, 1H, H(13)], 3,15 (m, 1H, HO), 2,50 [dd, J = 15 et 10 Hz, 1H, H(14)], 2,10 [m, 1H, H(6)], 1,97 [m, 3H, H(3) + H(6) + H(7)], 1,95 [m, 1H, H(14)], 1,90 [s, 3H, H₃(18)], 1,51 - 1,49 - 1,47 - 1,43 - 1,42 - 1,38 - 1,33 [7s, 7 x 3H, 4 Me-acétonide + H₃(16) + H₃(17) + H₃(19)].

Dérivé oxétanique 11,12-dihydro 13-hydroxylé 20

$C_{26}H_{42}O_7$. Amorphe. $[\alpha]_D^{20}$ (c = 0,41). IR : 3519, 3462, 1381, 1244, 1037 cm^{-1} . SMIC (m/z) : 449 ($MH^+ - H_2O$), 409, 391, 373, 351, 333, 315. SM(FAB) (thioglycérol, m/z) : 489 (MNa^+), 391. RMN 1H (400 MHz) : 4,78 [dd, J = 9 et 3 Hz, 1H, H(5)], 4,63 [d, J = 8 Hz, 1H, H(20)], 4,55 [d, J = 9 Hz, 1H, H(9)], 4,33 [d, J = 8 Hz, 1H, H(20) et dd, J = 9 et 4 Hz, 1H, H(10)], 4,23 [d, J = 6 Hz, 1H, H(2)], 4,07 [t, J = 6 Hz, 1H, H(13)], 3,23 [d, J = 6 Hz, 1H, H(3)], 2,38 [m, 1H, H(12)], 2,23 [d, J = 16 Hz, 1H, H(14)], 2,17 [m, 1H, H(6)], 2,03 [d, J = 16 et 6 Hz, 1H, H(14)], 1,93 [m, 2H, H(6) et H(7)], 1,85 [t, J = 4 Hz, 1H, H(11)], 1,50 - 1,43 - 1,37, 1,31 - 1,28 - 1,20 [6s, 2 x 3H, 1 x 6H, 3 x 3H, 4 Me-acétonide + $H_3(16)$ + $H_3(17)$ + $H_3(19)$], 1,12 [d, J = 7 Hz, 3H, $H_3(18)$].

Dérivé oxétanique 13 α -hydroxylé 22

$C_{26}H_{40}O_7$. Amorphe. $[\alpha]_D^{20} + 88^\circ$ (c = 0,1). IR : 3444, 1381, 1375, 1237, 1050 cm^{-1} . SMIC (m/z) : 447 ($MH^+ - H_2O$), 407, 389, 371, 331, 313. SM(FAB) (thioglycérol, m/z) : 487 (MNa^+ , m/z), 447. RMN 1H (400 MHz) : 4,80 [dd, J = 8 et 4 Hz, 1H, H(5)], 4,63 [d, J = 9 Hz, 1H, H(10)], 4,60 [d, J = 8 Hz, 1H, H(20)], 4,47 [d ép., J = 10 Hz, 1H, H(13)], 4,35 [d, J = 8 Hz, 1H, H(20)], 4,12 [d, J = 9 Hz, 1H, H(9)], 4,10 [d, J = 5 Hz, 1H, H(2)], 2,50 [dd, J = 16 et 10 Hz, 1H, H(14 β)], 2,17 [dd, J = 16 et 3 Hz, 1H, H(14 α)], 2,12 [d, J = 5 Hz, 1H, H(3)], 2,0 [m, 2H, H(6) + H(7)], 1,9 [d, J = 1 Hz, 3H, $H_3(18)$], 1,50 (s, 6H, 2 Me-acétonide), 1,47 [s, 3H, $H_3(19)$], 1,42 (s, 6H, 2 Me-acétonide), 1,35 [s, 3H, $H_3(16)$], 1,30 [m, 1H, H(7)], 1,13 [s, 3H, $H_3(17)$]. Sur le spectre de corrélation NOESY, on a pu observer des relations entre le $CH_3(19)$ et H(2 β), H(9 β), H(20), le $CH_3(18)$ et H(10 α), le $CH_3(17)$ et H(13 β), H(14 β), le $CH_3(16)$ et H(2 β), H(9 β).

Cinnamoylation de 22 ---> 23

A 7,1 mg de 22 dissous dans 0,5 ml de CH_2Cl_2 , on ajoute 9 mg d'acide cinnamique, 12,6 mg de DCC et 2 mg de 4-DMAP. Après 2 h, la solution est filtrée, diluée par CH_2Cl_2 puis lavée successivement par HCl 0,1 N, NaOH 0,5 N et H_2O distillée. Après séchage et évaporation, le résidu est chromatographié sur cce avec le mélange Heptane/AcOEt : 7/3. On obtient 5,2 mg de 23 (rdt 57%).

Dérivé oxétanique 13 α -cinnamoylé 23

$C_{35}H_{46}O_8$. Amorphe. $[\alpha]_D^{20} + 342^\circ$ (c = 0,45). UV (ϵ) : 217 (19300), 278 (21900) nm. IR : 3550, 1708, 1637, 1385, 1374, 1226, 1171, 1046 cm^{-1} . SMIC (m/z) : 595 (MH^+), 537, 479, 447, 389, 371, 331, 313, 149. RMN 1H (400 MHz) : 7,82 [d, J = 16 Hz, 1H, H(2')], 7,57 et 7,42 (2m, 2H et 3H, Ph), 6,47 [d, J = 16 Hz, 1H, H(3')], 6,02 [dd ép., J = 10 et 4 Hz, 1H, H(13 β)], 4,90 [d ép., J = 7 Hz, 1H, H(5)], 4,65 [d, J = 9 Hz, 1H, H(10)], 4,58 [d, J = 8 Hz, 1H, H(20)], 4,38 [d, J = 8 Hz, 1H, H(20)], 4,18 [d, J = 9 Hz, 1H, H(9)], 4,15 [d, J = 5 Hz, 1H, H(2)], 2,47 [dd, J = 15 et 10 Hz, 1H, H(14)], 2,27 [dd, J = 15 et 4 Hz, 1H, H(14)], 2,18 [dt, J = 13 et 8 Hz, 1H, H(6)], 2,07 [d, J = 5 Hz, 1H, H(3)], 2,03 [m, 2H, H(6) + H(7)], 1,85 [d, J = 1 Hz, 3H, $H_3(18)$], 1,60 - 1,48 - 1,43 - 1,40 - 1,35, 1,27 [6s, 1 x 6H et 5 x 3H, 4 Me-acétonide et $H_3(16)$ + $H_3(17)$ + $H_3(19)$].

RÉFÉRENCES

1. Wani, M. C.; Taylor, H. L.; Wall, M. E.; Coggon, P.; Mac Phail, A. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 2325-2327.
2. Miller, R. W. *J. Nat. Prod.* **1980**, *43*, 425-437.
3. Suffness, M.; Cordell, G. A. dans *The Alkaloids*, Brossi, A. Ed.; Vol. 25, Academic Press, Orlando, 1985; pp. 6-18 et pp. 280-288.
4. Bleichert, S.; Guénard, D. dans *The Alkaloids*, Brossi, A. Ed.; Vol. 39, Academic Press, San Diego, 1991; pp. 195-238.
5. Whiterup, K. M.; Look, S. A.; Stasko, M. W.; Ghiorzi, T. J.; Muschik, G. M.; Cragg, G. M. *J. Nat. Prod.* **1990**, *53*, 1249-1255.
6. Vidensek, N.; Lim, P.; Campbell, A.; Carlson, C. *J. Nat. Prod.* **1990**, *53*, 1609-1610.
7. Holton, R. A.; Juo, R. R.; Kim, H. B.; Williams, A. D.; Harusawa, S.; Lowenthal, R. E.; Yogai, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 6558-6560.
8. Denis, J. N.; Greene, A. E.; Guénard, D.; Guéritte-Voegelein, F.; Mangatal, L.; Potier, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5917-5919.
9. Mangatal, L.; Adeline, M.-T.; Guénard, D.; Guéritte-Voegelein, F.; Potier, P. *Tetrahedron*, **1989**, *45*, 4177-4190.
10. Guéritte-Voegelein, F.; Guénard, D.; Lavelle, F.; Le Goff, M.-T.; Mangatal, L.; Potier, P. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 992-998.
11. Ettouati, L.; Ahond, A.; Convert, O.; Laurent, D.; Poupat, C.; Potier, P. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1988**, *II*, 749-755.
12. Ettouati, L.; Ahond, A.; Convert, O.; Poupat, C.; Potier, P. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1989**, *II*, 687-693.
13. Graf, E.; Weinandy, S.; Koch, B.; Breitmaier, E. *Liebigs Ann. Chem.* **1986**, 1147-1151.
14. Ettouati, L.; Ahond, A.; Poupat, C.; Potier, P. *J. Nat. Prod.* à paraître.
15. Eyre, D. H.; Harrison, J. W.; Scrowston, R. H.; Lythgoe, B. *Proc. Chem. Soc.* **1963**, 271-272.
16. Baxter, J. N.; Lythgoe, B.; Scales, B.; Scrowston, R. H.; Tripett, S. *J. Chem. Soc.* **1962**, 2964-2971.
17. Zemplén, G.; Gerecs, A.; Hadácsy, I. *Ber.* **1936**, *39*, 1827-1829.
18. Harrison, J. W.; Scrowston, R. M.; Lythgoe, B. *J. Chem. Soc. série C*, **1966**, 1933-1945.
19. Berkowitz, W. F.; Amarasekara, A. S.; Perumattam, J. J. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 1119-1124.
20. Lin, J.; Nikaido, M. M.; Clark, G. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 3745-3752.
21. Swindell, C. S.; Britcher, S. F. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 793-797.
22. Van Rheenen, V.; Kelly, R. C.; Cha, D. Y. *Tetrahedron Lett.* **1976**, 1973-1976.
23. Hart, H. *Chem. Rev.* **1979**, *79*, 515-528.
24. Henbest, H. B.; Jackson, W. R. *J. Chem. Soc.* **1962**, 954-959.
25. Gemal, A. L.; Luche, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 5454-5459.
26. Mangatal, L. Thèse de Doctorat en Sciences, Université Paris-Sud, Centre d'Orsay, 1989.
27. Still, W. C.; Kahn, M.; Mitra, A. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.