

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES ALCALOIDES DE L'HOLARRHENA CONGOLENSIS STAPF.

STRUCTURE DE L'HOLARRHENINE

L. VAN HOVE

Université Libre de Bruxelles, Ave. F. D. Roosevelt, Bruxelles

(Received 31 March 1959)

Résumé—L'identité de l'hydroxy-5 α -pregnane, produit de dégradation de l'holarrhénine, avec le 12 β -hydroxy-5 α -pregnane préparé à partir de la hécogénine confirme la structure de l'holarrhénine comme étant de la 12 β -hydroxyconessine.

Lors de la quaternisation de l'apoholarrhénine en milieu méthanolique, il y a recyclisation avec formation du cycle pyrrolidinique primitif de l'holarrhénine.

Abstract—Degradation of holarrhenin by the Hofmann and Emde reactions results in an hydroxy-5 α -pregnane identical with the 12 β -hydroxy-5 α -pregnane prepared from hecogenin; this definitely establishes the structure of holarrhenin as 12 β -hydroxyconessin. The quaternization of apoholarrhenin by methyl iodide in methanol results in cyclization with reestablishment of the primitive pyrrolidin system of holarrhenin.

L'HOLARRHÉNINE, alcaloïde oxygéné signalé pour la première fois en 1919 par Pyman,¹ semble se rencontrer exclusivement dans les espèces africaines du genre Holarrhena. Depuis le travail de cet auteur, l'espèce africaine, Holarrhena Congolensis Stapf., n'avait plus fait l'objet de recherches quand, en 1953, Hans et Martin² en reprirent l'étude. De l'écorce de cette espèce, ces derniers auteurs ont isolé la conessine, alcaloïde principal, ainsi que l'holarrhénine déjà signalée par Pyman. Le but de cet article est d'établir la structure de ce dernier alcaloïde dont Hans et Martin nous ont obligeamment procuré un échantillon.

Depuis les travaux remarquables de Haworth³ sur la conessine, l'alcaloïde principal de tous les Holarrhena, la structure de ce produit est bien connue (V) et elle a été confirmée tout récemment par la synthèse⁴ de la dihydroconessine (IV). Ainsi, on établissait en même temps la structure de plusieurs autres alcaloïdes de cette plante pour lesquels S. et R. Siddiqui avaient proposé des structures relatives à celle, inconnue à l'époque, de la conessine.⁵ Haworth^{3a} a confirmé l'exactitude des hypothèses de Siddiqui et Siddiqui. Dans tous ces alcaloïdes ainsi que dans d'autres (isolés surtout des Holarrhena de provenance indienne) dont la constitution

¹ F. L. Pyman, *J. Chem. Soc.* 163 (1919).

² M. Hans et Fr. Martin, *J. Pharm. de Belg.* 1 (1954).

^{3a} R. D. Haworth, J. McKenna et N. Singh, *J. Chem. Soc.* 831 (1949); ^b R. D. Haworth, J. McKenna, et G. H. Whitfield, *J. Chem. Soc.* 3127 (1949); ^c R. D. Haworth, J. McKenna, R. G. Powell et P. Woodward, *J. Chem. Soc.* 1736 (1951); ^d R. D. Haworth, J. McKenna, et G. H. Whitfield, *J. Chem. Soc.* 1102 (1953); ^e R. D. Haworth, J. McKenna, R. G. Powell, et G. H. Whitfield, *J. Chem. Soc.* 1115 (1953).

⁴ E. Corey, et W. Hertler, *J. Amer. Chem. Soc.* 80, 2903 (1958); cfr aussi P. Buchschlacher, J. Kalvodi, D. Arigoni et O. Jeger, *J. Amer. Chem. Soc.* 80, 2905 (1958).

⁵ S. Siddiqui et R. H. Siddiqui, *J. Ind. Chem. Soc.* 11, 787 (1934).

a été établie récemment,^{6,7} on retrouve un squelette hydrocarboné du type pregna-5-ène avec un atome d'azote lié au carbone 3 et un deuxième attaché au carbone 18 ou 20.

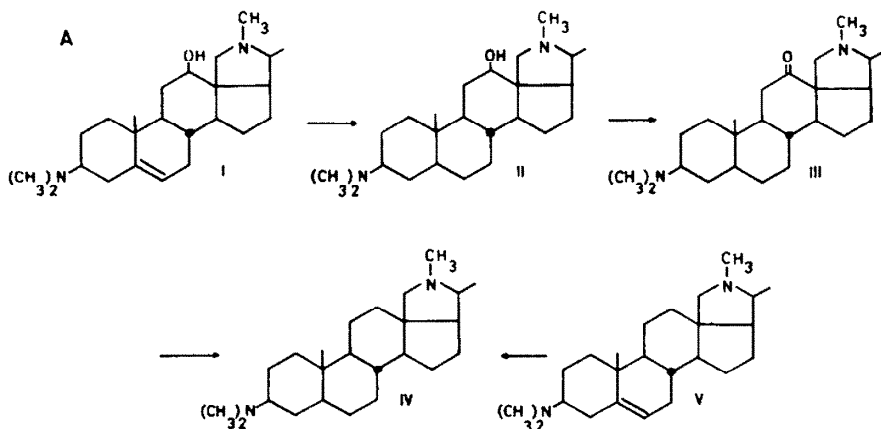
Sur l'holarrhénine elle-même, Pyman nous a laissé les indications suivantes: c'est une substance bibasique de formule brute $C_{24}H_{38}N_2O$ contenant trois liaisons N-alcoyle (très vraisemblablement $N-CH_3$) et donnant par acétylation un dérivé monoacétylé bibasique, ce qui permet d'envisager la présence d'une fonction hydroxyle.

Nous avons constaté que l'holarrhénine en solution aqueuse acide décolore instantanément le permanganate de potassium à froid; l'hydrogénation catalytique dans l'acide acétique en présence de platine dans les conditions ordinaires de température et de pression est rapide et indique la présence d'une double liaison facilement hydrogénable. La dihydroholarrhénine ainsi obtenue ne décolore plus le permanganate dans les conditions utilisées plus haut.

La quaternisation de la base primitive par l'iodure de méthyle se fait avec fixation de deux molécules d'halogénure et formation d'un sel d'ammonium biquaternaire. En se référant aux données de Pyman (signalées plus haut), ceci permet d'envisager la présence de deux fonctions d'amines tertiaires réparties en une fonction $N(CH_3)_2$ et une fonction NCH_3 faisant partie d'un hétérocycle comme dans la conessine.

Nos analyses de l'holarrhénine et de la dihydroholarrhénine correspondent respectivement à $C_{24}H_{40}N_2O$ et $C_{24}H_{42}N_2O$ (la conessine étant $C_{24}H_{40}N_2$). Pyman avait trouvé un pourcentage trop faible d'hydrogène et admettait la formule brute $C_{24}H_{38}N_2O$ pour l'holarrhénine.

De ce qui précède, il apparaît que l'holarrhénine pourrait être une hydroxy-conessine: pour vérifier cette possibilité, il suffisait d'effectuer le passage de la présumée hydroxyconessine à la conessine elle-même en remplaçant la fonction hydroxyle par un atome d'hydrogène. Nous envisagions d'abord cette transformation par réduction du dérivé bromé de l'holarrhénine, malheureusement la préparation de



^{6a} R. Tschesche, et A. C. Roy, *Ber.* **89**, 1288 (1956); ^b R. Tschesche et K. Wiensz, *Ber.* **91**, 1504 (1958).

^{7a} V. Černý et F. Šorm, *Coll. Czech. Chem. Comm.* **20**, 1473 (1955); ^b L. Labler, V. Černý et F. Šorm, *Coll. Czech. Chem. Comm.* **20**, 1484 (1955); ^c V. Černý, L. Labler et F. Šorm, *Coll. Czech. Chem. Comm.* **22**, 76 (1957); ^d L. Labler et V. Černý, *Chem. Listy* **51**, 2344 (1957); *Chem. Abstr.* **52**, 8165e (1958); ^e V. Černý, L. Labler et F. Šorm, *Chem. Listy* **51**, 2351 (1957); *Chem. Abstr.* **52**, 8166d (1958).

ce dernier par l'action du tribromure de phosphore sur l'holarrhénine donnait lieu à un produit non bromé que nous n'avons pas eu l'occasion d'étudier de plus près (constatations analogues sur d'autres 12-hydroxystéroïdes⁸).

Nous avons alors essayé l'oxydation de la fonction hydroxyle en groupe carbonyle suivie d'une réduction de Huang-Minlon;⁹ voir schéma A. Pour éviter des complications lors de l'oxydation à l'aide l'anhydride chromique en milieu acétique, nous avons effectué l'oxydation sur la dihydroholarrhénine (II). Dans la série des stéroïdes simples, ces oxydations effectuées à l'aide de d'anhydride chromique dans l'acide acétique contenant un peu d'eau se font à la température ambiante, elles sont rapides et donnent de bons rendements en cétones.¹⁰ L'utilisation de ces conditions expérimentales pour la dihydroholarrhénine donne lieu à une réaction lente et incomplète (peut-être à cause de la proximité de l'azote); ce n'est qu'en ajoutant de l'acide sulfurique au milieu réactionnel que la réaction se déroule de façon satisfaisante et fournit une cétone qui donne facilement une oxime. La réduction de cette cétone (III) suivant le procédé de Huang-Minlon donne la désoxy-dihydroholarrhénine identique à un échantillon de dihydroconessine (IV) préparé par hydrogénation catalytique de la conessine (V). La cétone (III) est donc une oxodihydroconessine et la dihydroholarrhénine est une hydroxy-dihydroconessine. Il nous restait encore à localiser la double liaison et la fonction alcool de l'holarrhénine. La position très probable de la double liaison en 5-6 ressort des arguments suivants: 1°. La contribution à la rotation moléculaire de la double liaison de l'holarrhénine est de -181° , valeur qui correspond parfaitement à celles signalées par Haworth^{3e} pour une série de produits analogues possédant une double liaison en 5-6 (conessine -169° , 3β -diméthylamino-pregna-5-ène -185° , tétraméthylholarrhimine -167° , conessiméthine -194°) et exclut pratiquement toute autre liaison nucléaire;¹¹ 2°. Le spectre I.R. présente trois bandes caractéristiques d'une double liaison trisubstituée à 800, 830 et 1656 cm^{-1} .¹² Haworth^{3d} indique les valeurs suivantes pour la conessine et pour le 3β -diméthylaminocholest-5-ène respectivement: 798, 826, 1665 et 796, 827, 1660 cm^{-1} . Les positions où la fonction hydroxyle peut se trouver sont fortement limitées si on tient compte des arguments suivants: l'oxodihydroconessine (III) présente dans son spectre I.R. une forte bande carbonyle à 1704 cm^{-1} et une bande α -méthylène à 1422 cm^{-1} : ceci caractérise cette cétone comme hexacyclique et montre qu'elle ne se trouve pas en position 4. La position 11 est exclue car la cétone subit la réduction de Huang-Minlon dans les conditions normales¹³ et l'holarrhénine se laisse acétyler dans des conditions douces (exclut 11 β). Les seules positions probables pour la fonction hydroxyle se limitent donc à 1, 2, 7 et 12. C'est à ce moment que nous avons eu connaissance du travail d'Uffer¹⁴ sur l'holarrhénine. Dans cet article, l'auteur accumule une série d'arguments très pertinents qui lui permettent d'assigner, par exclusion, la position 12 β à la fonction alcoolique de l'holarrhénine (I).

Dès lors, avec l'accord d'Uffer, nous nous sommes efforcés de vérifier de

⁸ G. P. Mueller, L. Norton, R. Slobaugh, L. Tsai et R. Winniford, *J. Amer. Chem. Soc.* **75**, 4892 (1953); C. Djerassi, H. Ringold et G. Rosenkranz, *J. Amer. Chem. Soc.* **73**, 5513 (1951).

⁹ Huang-Minlon, *J. Amer. Chem. Soc.* **68**, 2487 (1946).

¹⁰ J. Schreiber et A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **38**, 1529 (1955).

¹¹ D. H. R. Barton et W. Klyne, *Chem. & Ind.* 755 (1948).

¹² P. Bladon, J. M. Fabian, H. B. Henbest, H. P. Koch et G. W. Wood, *J. Chem. Soc.* 2402 (1951).

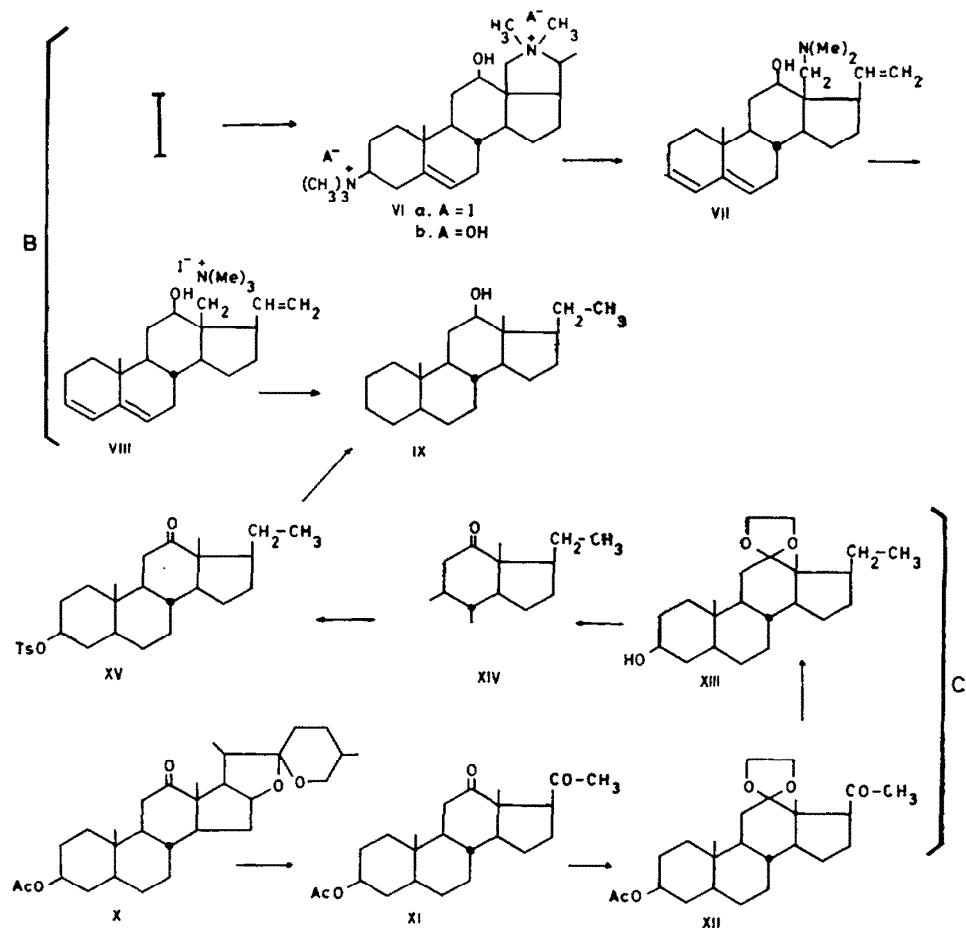
¹³ Huang-Minlon, *J. Amer. Chem. Soc.* **71**, 3301 (1949).

¹⁴ A. Uffer, *Helv. Chim. Acta* **39**, 1834 (1946).

la façon suivante la conclusion à laquelle il était arrivé: la dégradation de l'holarrhénine d'après le schéma B devrait nous donner un hydroxy-5 α -pregnane contenant la fonction hydroxyle dans la même position nucléaire que la base de départ et identique au produit (IX) que nous préparerons à partir de l'acétate d'hécogénine suivant le schéma C.

Dégradation de l'holarrhénine (schéma B)

La dégradation d'Hofmann¹⁴ de la base bisquaternaire (VIb) correspondant au dérivé diodométhylé de l'holarrhénine (VIa) conduit à l'apoholarrhénine; ce produit est transformé en sel d'ammonium quaternaire par action de l'iodure de méthyle en tube scellé et sans autre solvant. La réduction d'Emde de ce sel sous l'action du lithium dans l'ammoniac liquide a fourni un mélange de produits basiques et de produits neutres non saturés; nous avons étudié ces derniers seulement. Le mélange de substances neutres, à l'état brut présente un spectre I.R. dans lequel on retrouve une bande à 900 cm^{-1} attribuée à la double liaison méthylénique terminale de l'apoholarrhénine (VII) et deux bandes dans la région 800-850 cm^{-1} provenant de la réduction partielle du système diénique de cette même base. L'hydrogénation



catalytique s'accompagne de l'absorption de deux moles d'hydrogène et fournit un mélange de produits neutres saturés dont nous avons isolé par chromatographie l'hydroxy-5 α -pregnane identique à un échantillon de 12 β -hydroxy-5 α -pregnane (IX) préparé par le méthode suivante.

Préparation du 12 β -hydroxy-5 α -pregnane (IX) (schéma C)

Nous avons obtenu ce produit en partant du 3 β -acétoxy-12,20-dioxo-5 α -pregnane (XI), lui-même préparé par dégradation de la hécogénine (X) suivant un procédé connu.¹⁵ Dans le 3 β -acétoxy-12,20-dioxo-5 α -pregnane, on peut bloquer sélectivement^{16,17} la fonction carbonyle en C₁₂ sous forme d'éthylènedioxycétal (XII). Nous avons soumis ce cétal à la réduction d'Huang-Minlon¹³ plutôt qu'à la réaction de Wolff-Kishner utilisée par Callow *et al.*¹⁶ Contrairement à ces derniers auteurs, nous n'avons pas obtenu directement la substance XIV mais probablement le 12-éthylènedioxycétal (XIII) correspondant, étant donné que cette dernière fonction résiste bien aux conditions basiques:¹⁸ l'hydrolyse du produit en milieu acétique nous donne, avec de bons rendements, le 3 β -hydroxy-12-oxo-5 α -pregnane (XIV).

Pour réduire, dans cette dernière substance, la fonction 12-céto- en groupement hydroxyle et éliminer simultanément la fonction hydroxyle en C₃, nous avons réduit le dérivé tosylé (XV) du 3 β -hydroxy-12-oxo-5 α -pregnane par l'hydrure de lithium-aluminium.

La réduction d'une fonction cétonique en position 12 d'un système stéroïdique par ce réactif n'a pas, à notre connaissance, fait l'objet d'une étude systématique. Si on examine, comme l'a fait Dauben,¹⁹ les deux facteurs qui déterminent la proportion des deux épimères qui peuvent se former dans cette réduction, on constate que l'équilibre thermodynamique favorise la formation de l'épimère 12 β et que les conditions stériques favorisent l'attaque du côté α de la molécule²⁰ soit la formation du même épimère: il nous semble donc que, dans notre réduction, le produit prédominant sera l'épimère 12 β .* Du mélange réactionnel obtenu, nous avons, par chromatographie, réussi à isoler un 12-hydroxy-5 α -pregnane dont la contribution au pouvoir rotatoire moléculaire de la fonction hydroxyle est 35° (Barton et Klyne¹¹ signalent 50° pour Δ 12 β et 93° pour Δ 12 α ;²²) il s'agit donc très probablement de l'épimère 12 β -hydroxy (IX). Ce produit est identique (point de fusion mixte, pouvoir rotatoire spécifique, spectre I.R.) à l'hydroxy-5 α -pregnane provenant de la dégradation de l'holarrhénine. (spectres 1 et 2)

L'holarrhénine est donc bien de la 12-hydroxyconessine et probablement l'épimère β ; ceci confirme la structure proposée par Uffer (I).

La dégradation de l'holarrhénine, telle que nous l'avons décrite plus haut, a été, en réalité, précédée d'une série d'autres essais partiellement infructueux qui méritent d'être signalés.

* La réduction de l'acétate d'hécogénine par l'hydrure de lithium-aluminium²¹ montre que les deux épimères se forment mais qu'il y a prédominance de l'isomère β . Lors de la réduction de la rubijervone²² par l'hydrure de bore-sodium les auteurs isolent nettement plus de l'épimère 12 β que 12 α .

¹⁵ A. Cameron, R. Evans, J. Hamlet, J. Hurt, P. Jones et A. Long, *J. Chem. Soc.* 2807 (1955).

¹⁶ R. K. Callow et V. James, *J. Chem. Soc.* 4744 (1956).

¹⁷ W. Adams, D. Kirk, D. Patel, V. Petrow et I. Stuart-Webb, *J. Chem. Soc.* 2298 (1954).

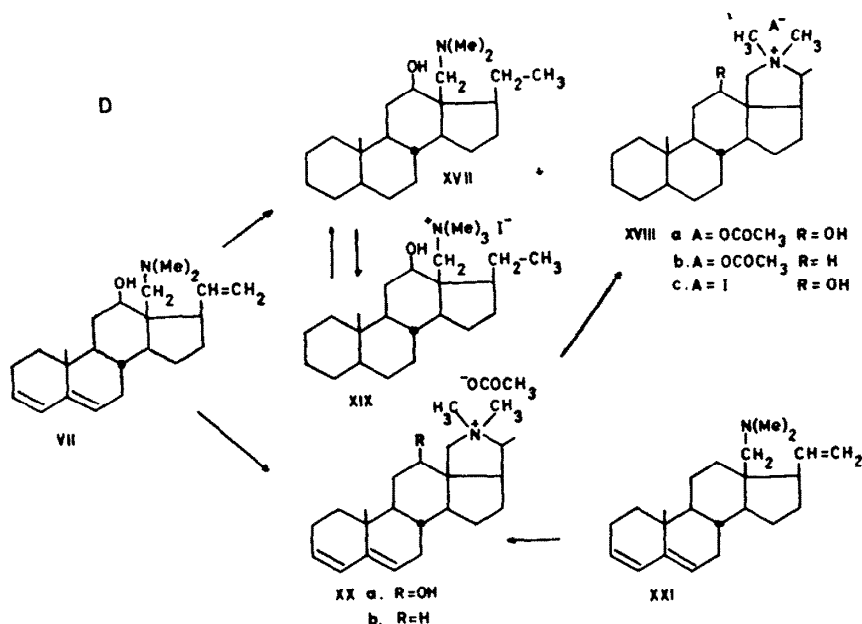
¹⁸ H. J. Dauben, B. Löken et H. Ringold, *J. Amer. Chem. Soc.* 76, 1359 (1954) note 13.

¹⁹ W. G. Dauben, E. J. Blanz, J. Jiu et Micheli, *J. Amer. Chem. Soc.* 78, 3752 (1956).

²⁰ L. F. Fieser, *Experientia* 6, 313 (1950).

²¹ R. Hirschmann, C. Stewart, C. F. Hiskey et N. L. Wendler, *J. Amer. Chem. Soc.* 76, 4013 (1954).

²² S. Pelletier et D. Locke, *J. Amer. Chem. Soc.* 79, 4531 (1957).



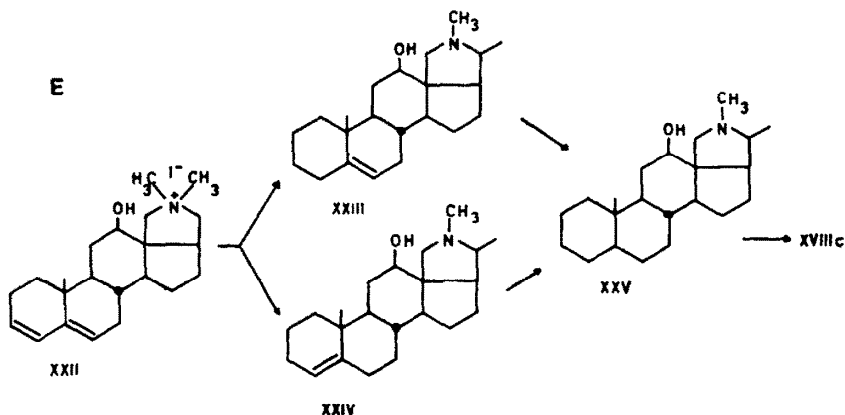
Dans notre schéma primitif (schéma D), nous envisagions la réduction d'Emde, sur l'iodométhylate de l'hexahydroapoholarrhénine. En effet, une réaction analogue effectuée par Haworth²³ sur l'iode d'ammonium bisquaternaire de la tétrahydroconessiméthine (XVI) avait donné, comme réaction principale, l'élimination de la fonction diméthylamino- en C₁₈. Pour préparer l'hexahydroapoholarrhénine, nous avons soumis l'apoholarrhénine à l'hydrogénation catalytique dans l'acide acétique en présence de platine; nous constatons que l'absorption en hydrogène est déficitaire et se limite à deux et demie molécules environ. Du milieu réactionnel, on isole l'hexahydro-apoholarrhénine (XVII) et un produit secondaire azoté non basique soluble dans l'eau et insoluble dans l'éther; ce produit précipite de la solution aqueuse par addition d'iodure de potassium et doit être le sel quaternaire (XVIIIc) formé par recyclisation de la double liaison méthylénique avec la fonction diméthylamino- en C₁₈ et réduction du système diénique. Une telle cyclisation (formation de XXb) est signalée par Haworth^{3c} dans le cas de l'apoconessine (XXI) où elle est complète par simple ébullition dans l'acide acétique. Appliqué directement à l'apoholarrhénine (VII), ce traitement nous permet d'isoler un iode d'ammonium quaternaire (XXa) par analogie avec l'apoconessine) dont le spectre I.R. montre la disparition de la double liaison terminale ($-\text{CH}=\text{CH}_2$) à 900 cm^{-1} et la subsistance des doubles liaisons conjuguées en 3-5. D'autres exemples de formation analogue du cycle pyrrolidine sont signalés par Haworth.²⁴ L'hydrogénation catalytique de l'acétate correspondant (XXa) dans l'acide acétique en présence de platine entraîne l'absorption de deux molécules d'hydrogène; le sel quaternaire résultant (XVIIIa) isolé sous forme d'iodure (XVIIIc) est identique (spectre I.R., preuve du point de fusion mixte) au produit secondaire isolé lors de l'hydrogénation de l'apoholarrhénine.

²³ R. D. Haworth, L. Lunts et J. McKenna, *J. Chem. Soc.* 3749 (1956).

²⁴ B. Barley, R. D. Haworth et J. McKenna, *J. Chem. Soc.* 967 (1954).

La quaternisation de l'hexahydroapoholarrhénine (X) par l'iodure de méthyle est beaucoup plus lente que pour les bases dont le cycle pyrrolidinique est intact (holarrhénine, conessine) et s'accompagne, comme le montrent les modèles, d'une forte augmentation d'encombrement stérique. Le sel quaternaire ainsi obtenu (XIX) est soumis à une dégradation modifiée d'Emde²³ par le lithium dans l'ammoniac liquide. Il ne se forme pratiquement pas de produit neutre et on récupère la base initiale (XVII).

La réduction d'Emde classique (à l'amalgame de sodium) appliquée au chlorométhylate de l'apoconessine (XXI.CH₃Cl) donne de bons rendements en produit neutre, tandis que la même réaction appliquée au sel correspondant de l'hexahydroapoconessine donne presque exclusivement la base de départ.³⁰ Il était donc utile de soumettre à la dégradation d'Emde (Schéma E) le sel quaternaire que nous avons préparé par action de l'iodure de méthyle sur l'apoholarrhénine dans le méthanol (et dont la structure réelle n'est pas VIII mais bien XII, comme nous le montrerons plus loin). La réduction de ce sel par le lithium dans l'ammoniac liquide nous donne très peu de produit neutre exempt d'azote, mais surtout un mélange de bases non saturées.



Le spectre I.R. du produit neutre (dans le domaine 800–850 cm⁻¹ il présente une bande importante et unique à 808 cm⁻¹) et l'analyse centésimale nous font supposer qu'il s'agit d'un 12-hydroxy-5 α -pregnane-4-ène. Par recristallisation fractionnée, on sépare difficilement et incomplètement le mélange des bases en deux constituants: le premier fond vers 160°, présente une rotation spécifique ($\alpha_D^{21} = 114^\circ$) et possède dans son spectre I.R. une bande à 808 cm⁻¹ ($\Delta 4$) et deux petites bandes à 798 et 832 cm⁻¹ à attribuer à une impureté ayant une double liaison en 5–6; le deuxième fond vers 228° présente ($\alpha_D^{21} = 10^\circ$) et présente dans son spectre I.R. deux fortes bandes à 798 et 833 cm⁻¹ dues à une double liaison en 5–6. Lors de l'hydrogénation catalytique dans l'acide acétique en présence de platine, les deux produits absorbent chacun une mole d'hydrogène en donnant naissance à une base saturée unique fondant à 216,6–217,4° (avec un rendement nettement plus élevé à partir de la base non saturée en 5–6 qu'à partir de l'autre); les deux bases de départ sont donc des isomères différant par la position d'une double liaison. Ce produit d'hydrogénation est différent de l'hexahydroapoholarrhénine (F 161–162°), son spectre I.R. présente dans la région de 1000–1050 cm⁻¹ une seule bande très importante (à 1040

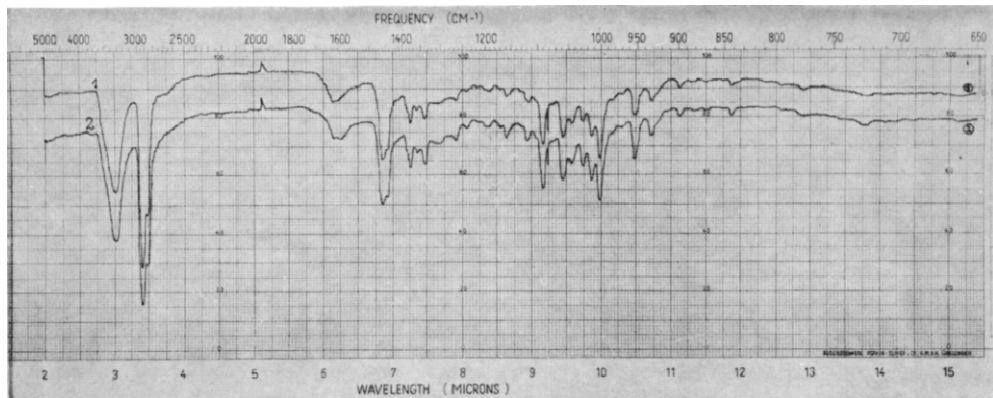


FIG. 1.

cm⁻¹) caractéristique qu'on retrouve pour les dérivés de l'holarrhénine dans lesquels le cycle pyrrolidinique subsiste (quand le cycle est ouvert nous constatons la présence de plusieurs bandes d'égale intensité). En tenant compte de la structure du produit de départ (VII), cette dernière constatation, ainsi que l'analyse du nouveau produit, nous conduit à envisager XXV comme structure de cette substance. Remarquons que, dans ce cas, son sel quaternaire (iodométhylate) correspondant doit être identique à XVIIIc préparé plus haut (schéma D): effectivement la quaternisation de XXV par l'iode de méthyle est très rapide (contrairement aux bases dont le cycle pyrrolidinique est ouvert) et donne lieu à un sel quaternaire identique (fusion mixte, spectre I.R.) à XVIIIc: ceci confirme la structure XXV et conduit aux structures XXIV (F 160°) et XXIII (F 228°) pour les deux précurseurs de cette base.

Devant ce résultat inattendu de la dégradation d'Emde, nous avons eu des soupçons en ce qui concerne l'identité de l'iodure quaternaire de départ (soi-disant VII); il s'agissait de savoir si le cycle pyrrolidinique se reformait pendant la réaction d'Emde ou au cours de la quaternisation de l'apoholarrhénine (VII). Dans la dernière éventualité, le sel quaternaire obtenu doit être identique à l'iodure de XXa préparé plus haut: la comparaison des spectres I.R. et l'épreuve de point de fusion mixte montrent qu'il en est bien ainsi. Le peu de produit neutre isolé provient donc probablement d'un peu de sel quaternaire normal (VIII) formé secondairement.

Il est curieux de constater que les auteurs qui ont effectué la dégradation d'Emde sur l'apoconessine VIIIb^{25,3a} ne semblent pas observer de cyclisation lors de la quaternisation préalable de la base; or, ces auteurs préparent le sel quaternaire par simple chauffage du produit en tube scellé avec de l'iodure de méthyle sans autre solvant.

Dans notre expérience, le méthanol, utilisé comme solvant, a donc favorisé la cyclisation de l'apoholarrhénine; en n'utilisant lors de la quaternisation que l'iodure de méthyle lui-même comme solvant, la quaternisation -comme le montre la première partie du travail a lieu normalement (schéma B). On peut rapprocher de notre expérience celle réalisée par Haworth qui cyclise l'apoconessine par chauffage pendant 4 heures et à 150°, en présence d'alcool aqueux à 90°.

PARTIE EXPERIMENTALE

Remarques

- 1° Les points de fusion sont corrigés et ont été pris en capillaire et sous vide.
- 2° Le pouvoir rotatoire est déterminé en solution chloroformique sur des solutions dont la concentration est de l'ordre de 1%.
- 3° Les spectres I.R. ont été pris avec du produit dispersé dans le bromure de potassium à des concentrations de l'ordre de 0,5%.

Holarrhénine (I) isolement:^{2,14} Purifié par recristallisation dans l'acétate d'éthyle. F 198,5–199°
 $C_{34}H_{40}N_2O$ (372,58) calc. C 77,36 H 10,82%
 trouvé C 77,23 H 10,85%

O-Acétylholarrhénine: On dissout 200 mg d'holarrhénine dans un mélange de 1 cc de pyridine anhydre et 1 cc d'anhydride acétique puis on laisse reposer la nuit. On verse le tout dans l'eau glacée, on basifie à la soude et on extrait le précipité blanc à l'éther. La solution étherée est lavée à l'eau jusqu'à neutralité. L'évaporation sous vide de cette solution, séchée sur sulfate de magnésium

²⁵ E. Späth et O. Hromatka, *Ber.* 63, 126 (1930).

anhydre donne le dérivé acétylé qui est purifié par recristallisation dans l'acétone. F 177,8–178,4°

$C_{16}H_{12}N_2O_2$ (414,61)	calc.	C 75,3	H 10,2	N 6,8%
	trouvé	C 75,4	H 10,5	N 6,9%

Di-iodométhylate d'holarrhénine: Dans un mélange de 10 cc de méthanol et 3 cc d'iodure de méthyle fraîchement distillé, on dissout 1,51 g d'holarrhénine; on chauffe à reflux pendant 2 heures. On maintient le milieu réactionnel en ébullition, on y ajoute 5 cc d'acétone et ensuite, goutte à goutte, de l'éther anhydre jusqu'à fin de précipitation: le sel quaternaire, légèrement jaune, cristallise. On filtre les cristaux et on les lave à l'éther absolu: 2,6 g F 310° déc (bain 295°)*. On recristallise le sel dans un mélange d'éther, acétone et méthanol.

$C_{24}H_{16}N_2OI_2$ (632,46):	calc.	C 47,6	H 7,1%
	trouvé	C 47,9	H 7,2%

Dihydro-holarrhénine (II): On soumet à l'hydrogénation une solution de 300 mg d'holarrhénine dans 10 cc d'acide acétique pur pour analyse en présence de 27 mg de platine d'Adams (à 20°, pression ordinaire). Après une heure, la réduction est pratiquement arrêtée. Après 5 heures, (absorption d'une mole d'hydrogène) on filtre la suspension et on lave le platine plusieurs fois avec un peu d'acide acétique. Les solutions acides sont concentrées sous vide à température ordinaire (jusqu'à environ 4 cc). On verse la solution acétique dans une solution de soude à 5% et on extrait le précipité blanc à l'éther: on lave l'extrait étheré à l'eau et on le sèche sur sulfate de magnésium. La solution étherée évaporée à sec donne 280 mg de produit brut F 178–181°. Ce produit est relativement peu soluble dans l'acétone dont il recristallise en longues aiguilles. On le purifie par recristallisation dans l'acétone, puis dans l'acétate d'éthyle (où il est nettement plus soluble). F 185,5–186°. $[\alpha]_D^{20} + 44,5^\circ \pm 3$ (C = 1,73).

$C_{24}H_{42}N_2O$ (374,59)	calc.	C 76,94	H 11,30	N 7,48%
	trouvé	C 77,25	H 11,40	N 7,43%

O-acétyldihydroholarrhénine: cf. préparation de l'acétylholarrhénine décrite plus haut. Recristallisé dans un mélange d'eau-acétone, il fond à 141–141,5°

$C_{26}H_{44}N_2O_2$ (416,63)	calc.	C 74,9	H 10,6%
	trouvé	C 74,6	H 10,5%

Di-iodométhylate de dihydroholarrhénine: On dissout à froid 40 mg de dihydroholarrhénine dans un mélange de 1 cc de chloroforme sec et de 0,5 cc d'iodure de méthyle: après quelques minutes la solution se trouble. Le lendemain, un liquide gélatineux s'est déposé au fond du récipient; en triturant ce produit avec un peu d'éther anhydre, il se solidifie. On décante le liquide surnageant et on recristallise le sel quaternaire dans un mélange d'acétone-méthanol auquel on ajoute progressivement de l'éther anhydre (au fur et à mesure de la cristallisation): 62 mg. F 315° déc (bain 305°). Après recristallisation: 315,7–316,2° déc.

$C_{28}H_{48}N_2OI_2$ (658,5)	calc.	C 47,4	H 7,4%
	trouvé	C 47,3	H 7,6%

12-Oxodihydroconessine (III): A 300 mg de dihydroholarrhénine dissous dans 15 cc d'acide acétique pur pour analyse, contenant 0,6 cc d'acide sulfurique aqueux (1/1 en volume), on ajoute, en agitant, 150 mg d'anhydride chromique dissous dans un mélange de 3 cc d'acide acétique et de 3 cc d'eau. On maintient, durant toute l'addition (15'), la température en dessous de 25°. Au début, il se forme un précipité verdâtre qui se dissout progressivement par la suite. Après l'addition d'acide chromique on maintient le mélange réactionnel pendant 30' encore à température ordinaire, puis on détruit l'excès d'acide chromique par addition de 10 ml de méthanol (30'). La solution verte est ramenée à environ 5 ml sous vide: on y ajoute de l'eau et de la glace, puis on basifie à l'aide de soude à 10%, jusqu'à dissolution des sels de chrome. On extrait la suspension à l'éther. La solution étherée lavée jusqu'à neutralité, est séchée sur sulfate de magnésium puis évaporée à sec: 250 mg

* Le chiffre entre parenthèses indique la température du bain au moment où le capillaire est introduit dans l'appareil à point de fusion.

F 188–190°. On recristallise le produit brut dans de l'éther de pétrole 60–80°: aiguilles blanches F 191–191,8°

$C_{24}H_{40}N_2O$ (372,58)	calc.	C 77,4	H 10,8%
	trouvé	C 77,2	H 11,1%
	$[\alpha]_D^{20} = +80^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,96$).		

Oxime de la 12-oxo-dihydroconessine: On mélange 110 mg de la cétone à 350 mg de chlorhydrate d'hydroxylamine et 10 ml de méthanol. On dissout le tout à l'ébullition puis on laisse reposer pendant 24 heures; on verse le tout dans de l'eau glacée et on alcalinise. Le précipité blanc est filtré et lavé à l'eau. On le recristallise dans le méthanol: petits cristaux incolores F 260,6–261,2°.

$C_{24}H_{41}N_3O$ (387,59)	calc.	C 74,3	H 10,7%
	trouvé	C 73,8	H 10,5%

Aphoholarrhénine (VII): Le diodométhylate d'holarrhénine préparé plus haut est transformé en base d'ammonium quaternaire par passage de sa solution à 15% dans un mélange éthanol-eau (5/1) sur échangeur d'ions (I.R.A. 400 chargé d' OH^-).²⁰ Pour la suite des opérations cfr Uffer.¹⁴ On recristallise le produit réactionnel dans l'éthanol: F 156,4–157,2°. $[\alpha]_D^{20} -86^\circ \pm 4^\circ$. [A. Uffer: $[\alpha]_D^{20} -87^\circ \pm 4^\circ$].

Dihydroconessine, (IV) par réduction de la 12-oxodihydroconessine (III): A un mélange de 0,5 ml d'hydrazine pure et de 0,5 g de soude caustique pulvérisé dans 5 ml de diéthylèneglycol, on ajoute 50 mg du dérivé cétonique. On chauffe pendant 1 heure au bain d'huile à 120°, puis on amène progressivement la température à 215–220° pendant qu'on distille l'eau formée et l'hydrazine en excès: on maintient cette température pendant 3 heures. Au mélange réactionnel, on ajoute de l'eau et on extrait la base organique à l'éther: on sèche la solution étherée (sulfate de magnésium), puis on évapore à sec: 39 mg d'huile qui se solidifie par addition d'un peu d'éther de pétrole: F 98–103°: chromatographie sur papier de ce produit parallèlement à de la dihydroconessine préparée par hydrogénation de la conessine, donne une tache unique dont le R_f est identique à celui de la dihydroconessine.

On recristallise le produit brut dans l'acétone: F 107–107,8° point de fusion mixte avec de la dihydroconessine (F105 – 106,5°): 105 – 106, 5°

Hexahydroapoholarrhénine (XVII): On soumet à l'hydrogénation 200 mg d'apoholarrhénine dans 5 cc d'acide acétique en présence de 16 mg de platine d'Adams (20°, pression ordinaire). Après environ 30', l'absorption s'arrête: ceci correspond à environ 2,4 moles d'hydrogène. De la façon habituelle, on isole la base: 106 mg recristallisé dans l'acétone, fond à 160–161°. La solution aqueuse (après extraction de la base) est extraite au chloroforme. La solution chloroformique est filtrée et évaporée à sec. Le solide jaune est repris par le minimum d'eau; on y ajoute une solution d'iode de potassium (10%) dans l'eau et on essore le précipité légèrement jaune de l'iodure quaternaire XVIIIc qui, séché, fond à 263–265°.

$C_{23}H_{41}NO$ (347,57) (Hexahydroapoholarrhénine)	calc.	C 79,5	H 11,9%
	trouvé	C 80,0	H 11,9%
	$[\alpha]_D^{21} +33^\circ$ ($c = 0,947$) $M_D +115^\circ$		

Le dérivé acétylé (préparé comme l'O-acétylholarrhénine) est purifié par recristallisation: F 106–106,4°.

I.R. 1738, 1238 cm^{-1} .

Iodométhylate de l'hexahydroapoholarrhénine (XIX): On fait refluer pendant 20 heures une solution de 260 mg d'hexahydroapoholarrhénine dans 6 cc d'un mélange à volumes égaux de méthanol et d'iodure de méthyle. On concentre fortement (jusqu'à environ 2 ml) le milieu réactionnel et on ajoute, goutte à goutte, de l'éther anhydre à la solution: il cristallise environ 275 mg de petits cristaux F 258–260° déc. Les eaux-mères étherées sont concentrées et recyclées dans une opération analogue: on isole encore 48 mg de cristaux F 257° déc.

²⁰ J. Weinstock et V. Boekelheide, *J. Amer. Chem. Soc.* 75, 2546 (1953).

Cyclisation de l'apoholarrhénine par l'acide acétique: Après avoir chauffé à reflux 50 mg d'apoholarrhénine dans 10 ml d'acide acétique pendant 30', on concentre la solution à environ 1/2 à 1 ml. L'addition et la basification par la soude ne produisent aucun précipité dans ce mélange. A la solution aqueuse, on ajoute une solution aqueuse d'iodure de potassium: un précipité blanc se forme immédiatement, on le filtre, on le lave à l'eau et on le sèche: 55 mg F 261–268° déc. On dissout le produit dans de l'acétone contenant un minimum de méthanol et, à la solution chaude, on ajoute progressivement de l'éther anhydre: le produit cristallise en petites aiguilles blanches: F 275–277° déc. (XXa mais I⁻ au lieu de OCOCH₃⁻). Le spectre I.R. ne présente plus la bande CH=CH₂ à 900 cm⁻¹ de l'apoholarrhénine, dans la région de 1000–1050 cm⁻¹ il ne reste plus qu'une bande forte à 1040 cm⁻¹.

Iodométhylate de la desdiméthylamino-dihydroholarrhénine (XVIIIc): On fait refluer 100 mg d'apoholarrhénine dans 5 cc d'acide acétique pour analyse. Après 30', on refroidit la solution et on y ajoute 9,2 mg de platine d'Adams. On hydrogène ce milieu réactionnel à 20° (pression ordinaire): après environ 30', deux moles équivalents d'hydrogène ont été absorbés et la réaction s'arrête pratiquement. Après une heure, on arrête l'hydrogénation, on filtre le catalyseur et on basifie le filtrat: à la solution aqueuse, on ajoute une solution d'iodure de potassium. Il se produit un abondant précipité blanc qu'on filtre, lave et sèche: 130 mg F 258° env. Ce produit est recristallisé dans un mélange d'acétone-éther et donne de petits cristaux incolores F 268–270°: pas d'abaissement de point de fusion avec le produit secondaire isolé lors de l'hydrogénation de l'apoholarrhénine: avec le produit non hydrogéné (voir préparation précédente), il y a abaissement. Ce produit-ci est d'ailleurs beaucoup plus soluble dans l'acétone que le sel quaternaire non saturé.

C ₂₃ H ₄₀ NOI (473,48)	calc.	C 58,3	H 8,5%
	trouvé	C 58,4	H 8,3%

Spectre I.R. absence de la bande méthylénique —CH=CH₂ à 900 cm⁻¹; plus de non-saturation dans la région 800–850 cm⁻¹.

Réduction d'Emde de l'iodométhylate de hexahydroapoholarrhénine (XIX): On ajoute, en une fois, 286 mg du sel quaternaire (XIX) à 200 cc d'ammoniac liquide distillé et sec auquel, tout en agitant, on a ajouté du lithium jusqu'à persistance de la coloration bleue. On maintient la coloration par addition de lithium. Après avoir agité pendant 8 heures, on laisse s'évaporer l'ammoniac. La poudre blanche qui reste est additionnée d'eau; on acidifie la suspension et on extrait la fraction neutre à l'éther. Après lavage de l'extrait étheré à l'acide chlorhydrique dilué, on lave à l'eau jusqu'à neutralité; on sèche la solution étherée (sulfate de magnésium), puis on l'évapore à sec. On isole ainsi 5 mg d'un produit fort impur que nous n'avons pas examiné plus loin.

Après l'extraction de la fraction neutre, on basifie la solution aqueuse à l'aide d'une solution de soude caustique et on extrait le produit basique à l'éther: après traitement de la solution étherée comme d'habitude, on en isole environ 190 mg de base qu'on recristallise dans l'acétone: 145 mg F 161–162° identique à l'hexahydroapoholarrhénine (XVII).

Quaternisation de l'apoholarrhénine (VII) à l'aide d'iodure de méthyle dans le méthanol: On dissout 1,4 g d'apoholarrhénine dans 16 cc d'un mélange à volumes égaux d'iodure de méthyle et de méthanol. On fait refluer cette solution pendant 24 heures. On distille 9 à 10 cc de solvant puis on ajoute, à l'ébullition, goutte à goutte, de l'éther anhydre jusqu'à trouble persistant, puis, dès que des cristaux se séparent, on continue l'addition jusqu'à fin de précipitation. Le lendemain, on filtre le solide et on le lave à l'éther anhydre: 1,49 g de petits cristaux blancs F 273° déc. (bain 250°). Les eaux-mères contiennent encore de l'apoholarrhénine; on recycle la base comme on vient de le décrire. De cette manière, on isole encore 310 mg de cristaux F 273–273° (dans les eaux-mères, on retrouve encore environ 80 mg d'apoholarrhénine impure (F 150–155°). Après recristallisation dans un mélange d'acétone-alcool méthylique (auquel on ajoute de l'éther anhydre), le sel quaternaire fond à 278–279° déc. Ce produit s'est montré identique à celui résultant de la cyclisation de l'apoholarrhénine dans l'acide acétique (voir plus haut) (XXa iodure correspondant).

Réduction d'Emde du sel quaternaire précédent: On effectue cette réduction comme décrit plus haut; on y a engagé 850 mg de sel quaternaire, et on a ajouté 0,5 ml de méthanol à l'ammoniac liquide. On isole une fraction neutre (23 mg brut) et environ 500 mg de bases brutes.

Par recristallisation du produit neutre dans l'acétone, on isole une substance qui fond à 166–166,5°. Spectre I.R. bande importante à 807 cm^{-1} : double liaison en 4–5? (pas de bande à 900 cm^{-1})

$\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}$ (302,48)	calc.	C 83,4	H 11,3 %
	trouvé	C 83,2	H 11,2 %

Par recristallisation de la fraction basique dans l'alcool méthylique suivie de cristallisation fractionnée dans l'acétone, on sépare deux produits: le moins soluble cristallise en petites aiguilles fines, fond à 226–230° et présente $(\alpha)_D^{25} + 10^\circ$ tandis que l'autre cristallise en petits cristaux trapus qui fondent à 156–158° ($\alpha)_D^{21} + 116^\circ$. Les spectres I. R. de ces deux produits indiquent pour le premier une double liaison en 5–6 (798, 833 cm^{-1}) et pour le deuxième en 4–5 (808 cm^{-1}).

Malheureusement, les analyses de ces produits ne sont pas très satisfaisantes et leurs structures probables (XXIII et XXIV) découlent plutôt de leurs produits d'hydrogénation.

$\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{NO}$ (329,51)	calc.	C 80,2	H 10,7 %
F 226–230°	trouvé	C 79,4	H 10,7 %
F 156–158°		C 78,9	H 10,9 %

Hydrogénation de la base F 226–230°: On soumet à l'hydrogénation catalytique 39,6 mg de base dans 2 ml d'acide acétique pour analyse contenant 5,3 mg de platine d'Adams (à 20° et pression ordinaire). Après 16', la réduction est terminée (1 mole H_2 absorbé) et on arrête la réduction après 3 heures. De la manière habituelle, on isole 38 mg de produit brut F 200–210°. Ce produit est recristallisé dans l'acétone et donne un échantillon analytique fondant à 216,6–217,4°; $(\alpha)_D^{20} + 49,5^\circ$ (XXV)

$\text{C}_{22}\text{H}_{37}\text{NO}$ (331,52)	calc.	C 79,7	H 11,25 %
	trouvé	C 79,4	H 11,3 %

Le spectre I.R. de ce produit ne présente plus les bandes de non-saturation du produit de départ.

Hydrogénation de la base F 156–158°: 60 mg de base sont hydrogénées dans des conditions analogues à celles de l'hydrogénation précédente. On absorbe 1 mole d'hydrogène en 11 minutes, puis la réaction s'arrête: on isole 31 mg de petites aiguilles blanches F 214–216° identiques au produit isolé dans l'hydrogénation précédente.

Quaternisation de la base hydrogénée F 216–217° (XXV): On dissout 24 mg de base dans 0,5 ml d'iodure de méthyle en tube scellé et on met le tube au bain-marie: après une minute, un produit solide se sépare. Après 12 heures, on ouvre le tube, on évapore à sec et on met le résidu en suspension dans de l'éther anhydre. Par filtration, on isole environ 38 mg de produit brut F 258–262°. On recristallise ce produit de la manière habituelle dans un mélange de méthanol, acétone, éther: petits cristaux incolores F 265–267° (Fusion mixte avec l'iodométhylate de desdiméthylaminodihydroholarrhénine (XVIIIc): 266–268°, Spectres I.R. identiques).

Quaternisation de l'apoholarrhénine par l'iodure de méthyle sans solvant: On dissout 185 mg d'apoholarrhénine dans 1,5 ml d'iodure de méthyle fraîchement distillé et on chauffe la solution en tube scellé pendant 40 heures à 85–95°. Par refroidissement, le sel quaternaire cristallise en oursins. On décante l'excès d'iodure de méthyle, on sèche les cristaux au bain-marie, puis on les lave à l'éther anhydre: 225 mg F 198–205°. Ce produit brut est utilisé tel quel dans la réduction d'Emde qui suit. Son spectre I.R. indique la même non-saturation que dans l'apoholarrhénine.

Réduction d'Emde de l'iodométhylate d'apoholarrhénine (VIII): On réduit 1,12 g de sel quaternaire comme décrit pour l'iodométhylate d'hexahydroapoholarrhénine. En tout, on a ajouté environ 160 mg de lithium. Le résidu blanc (après évaporation de l'ammoniac) est décomposé à l'eau; on extrait la suspension à l'éther, il reste environ 180 mg de produit brun pâle, non dissous, que nous n'avons pas examiné plus loin. De la solution étherée, on extrait les bases à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique 2 N (de ces solutions acides, on extrait 190 mg de bases non examinées) puis on la lave à l'eau, à la soude diluée et enfin à l'eau jusqu'à neutralité: la solution séchée (sulfate de magnésium) et évaporée donne 300 mg d'un solide pâteux exempt d'azote. Ce produit est encore fortement non-saturé.

Hydrogénation catalytique du produit neutre de la réaction précédente: L'hydrogénation est réalisée dans des conditions analogues à celles déjà décrites plus haut (ex. dihydroholarrhénine): elle s'arrête après l'absorption de 2,2 moles d'hydrogène; on isole du milieu réactionnel 286 mg de produit brut pâteux; la recristallisation dans un mélange acétone-eau, suivie de recristallisation dans un mélange méthanol-éther, donne 110 mg de produit blanc à point de fusion très peu net autour de 140°. On chromatographie ce produit sur 4 g d'alumine neutre Woelm activité I dans l'éther de pétrole. L'élution à l'aide d'éther de pétrole ne donne pratiquement pas de produit. A l'aide d'un mélange progressivement plus riche d'éther dans l'éther de pétrole, on isole environ 55 mg de produit blanc solide fondant entre 145–148°; le reste de produit, isolé en ajoutant des quantités croissantes d'éthanol à l'éther pur, donne des produits huileux. On recristallise le solide F 145–148° dans l'acétone: aiguilles blanches très fines F 152–152,6°.

Les eaux-mères provenant de la recristallisation du produit brut de l'hydrogénation sont évaporées à sec et le résidu chromatographié sur 10 g d'alumine dans des conditions analogues à la première chromatographie: on n'a pas réussi à isoler de produit bien défini de ces fractions.

3-Hydroxy-5 α -pregnan-12-one (XIV): On introduit 870 mg de 3 β -acétoxy-12,12-éthylènedioxy-5 α -pregnane dans un mélange de 10 ml de diéthylène glycol, 4 ml d'hydrazine anhydre et 1 g de potasse caustique pulvérisée. Après avoir chauffé une heure à reflux au bain d'huile, on élève la température progressivement à 230° (température du bain), tout en distillant l'excès d'hydrazine et l'eau formée. On maintient cette température pendant environ 4 heures, on refroidit la solution, on y ajoute de l'eau et on extrait le milieu réactionnel à l'éther. La solution étherée bien lavée à l'eau est séchée et évaporée à sec: 735 mg de cristaux blancs F 161–163°. On dissout ce produit dans 10 cc d'acide acétique à 90% et on chauffe pendant 1 heure au bain-marie. La solution est diluée à l'eau, on neutralise par de la soude à 10% en présence de glace et on extrait la suspension à l'éther. La solution étherée, séchée et évaporée, abandonne 650 mg de solide blanc F 185–189°. On le recristallise dans l'acétone F 194,5–196,5° [α]_D²¹ 107° (lit.¹⁶ [α]_D²⁰ + 109°).

3 β -Tosyloxy-5 α -pregnan-12-one (XV): On dissout 300 mg de 3 β -hydroxy-12-oxo-5 α -pregnane dans 4 ml de pyridine anhydre; on y ajoute, en refroidissant dans la glace, une solution de 360 mg de chlorure de paratoluènesulfonyle dans 2 cc de pyridine anhydre. Après 16 heures à 6°, on verse le tout sur de la glace pilée, on ajoute de l'eau et on extrait le dérivé tosylé à l'éther. L'évaporation à sec de la solution étherée, lavée et séchée, donne 420 mg de produit blanc F 132–138°. Par recristallisation dans le méthanol, seul ou contenant un peu d'acétate d'éthyle, on obtient de petites aiguilles F 146,5–147°.

C ₂₈ H ₄₀ SO ₄ (472,66)	calc.	C 71,1	H 8,5	S 6,8%
	trouvé	C 71,0	H 8,5	S 6,7%

12-Hydroxy-5 α -pregnane (IX): On extrait 360 mg du dérivé tosylé précédent se trouvant dans un creuset filtrant au-dessus d'une suspension de 200 mg d'hydrure de lithiualuminium dans 25 ml d'éther anhydre, en faisant refluer l'éther tout en agitant mécaniquement. On fait refluer pendant 4 heures, puis on abandonne la réaction pendant 10 heures. On décompose le milieu réactionnel avec de l'eau tout en agitant et on dissout le précipité d'hydroxyde d'aluminium par addition d'acide chlorhydrique à 10%. La couche étherée est décantée et on y ajoute l'extrait étheré de la solution aqueuse. La solution étherée est lavée successivement à la soude 0,5 M et à l'eau, séchée et évaporée à sec: 227 mg solide blanc F 108–127°. On chromatographie ce produit sur 10 g d'Alumine neutre Woelm act. II dans l'éther de pétrole (on porte le produit sur la colonne dans un mélange de 1 cc benzène et de 2 cc éther de pétrole). On commence l'élution par l'éther de pétrole 40–60 (fractions de 10 cc). Les 13 premières fractions donnent environ 40 mg de produit qui par recristallisation dans l'acétone fondent entre 120–128°. Les fractions suivantes (jusqu'à 40) ainsi que les fractions obtenues par élution à l'aide d'éther de pétrole contenant des proportions croissantes (jusqu'à 50%) de benzène, donnent 120 mg de produit blanc solide fondant sur un large intervalle de température et qui, par recristallisation dans l'acétone, donnent environ 50 mg fondant vers 150°. On continue l'élution par le benzène pur, auquel on ajoute des quantités croissantes d'éther anhydre: pratiquement plus rien ne s'élue. On ajoute alors un mélange d'éther anhydre-chlorure de méthylène contenant des quantités croissantes de chlorure de méthylène. Avec le chlorure de méthylène pur, on isole

encore 45 mg de produit F 159-164° (probablement un mélange de 3 β -, 12(α ou β)dihydroxy-5 α pregnanes.

Le produit fondant vers 150° est purifié par recristallisation dans l'acétone, suivie d'une sublimation sous 10⁻³ mm à la température de 110° (température du bain): F 153,6-154,2°. Il n'y a pas d'abaissement de point de fusion avec le produit résultant de la dégradation d'Erme de l'iodométhylate d'apoholarrhénine, suivie d'hydrogénation; spectre I.R. identique.

	$[\alpha]_D^{20} + 25,6^\circ$ ($c = 1,19$) $M_D 78^\circ \pm 5^\circ$	
C ₂₁ H ₃₆ O (304,5)	calc.	C 82,8 H 11,9 %
	trouvé	C 82,6 H 11,8 %

Les eaux-mères des recristallisations de produits des fractions éluées à l'éther de pétrole et l'éther de pétrole-benzène ont été rechromatographiées sur de l'alumine Woelm neutre d'activité. I. L'élution avec l'éther de pétrole et le benzène ne donne rien. En présence d'éther, l'élution commence et, par recristallisation des résidus dans l'acétone, on isole encore du produit à point de fusion 151-152, identique au produit isolé plus haut.

Nous remercions bien vivement Monsieur le Professeur M. Hans qui nous a guidé dans le choix du sujet et qui nous a donné l'holarrhénine de départ. Nous remercions également la Société CIBA et Monsieur A. Uffer, docteur en sciences, de la Société CIBA qui nous ont si aimablement donné de l'holarrhénine et de l'acétate d'hérogine.

Que Monsieur A. Uffer veuille bien trouver ici l'expression de notre gratitude pour l'intérêt constant et amical qu'il a porté à notre travail et pour les intéressantes discussions que nous avons eues ensemble.

Les analyses et les spectres I.R. ont été faits respectivement par Madame S. Franck et Monsieur G. van Binst dans le service de Monsieur le Professeur R. H. Martin, nous les en remercions bien sincèrement.