

ALCALOÏDES PEPTIDIQUES—VII^{1j}
LES LASIODINES A ET B, ALCALOÏDES DU *LASIODISCUS*
MARMORATUS C. H. WRIGHT (RHAMNACÉES)

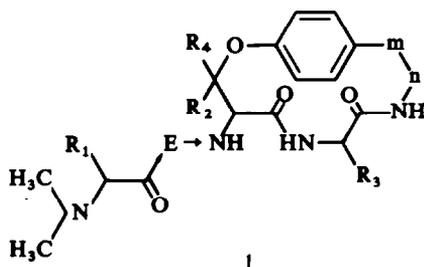
J. MARCHAND, M. PAÏS, X. MONSEUR* et F.-XAVIER JARREAU
Institut de Chimie des Substances Naturelles du C.N.R.S., 91, Gif s/Yvette

(Received in France 3 July 1968; Received in the UK for publication 17 July 1968)

Résumé—Deux nouveaux alcaloïdes peptidiques ont été d'une Rhamnacée africaine, le *Lasiodiscus marmoratus*. La lasiodine B répond au schéma cyclique de la plupart des alcaloïdes peptidiques et correspond à la formule 2. Dans la lasiodine A, le cycle à 14 éléments est ouvert et la formule 3a est proposée pour cet alcaloïde.

Abstract—Two new peptide alkaloids have been isolated from an African Rhamnaceae, *Lasiodiscus marmoratus*. Lasiodine B is, like most peptide alkaloids, a cyclic peptide. Lasiodine A is not cyclic; it has formula 3a.

DEPUIS quelques années, de nombreux alcaloïdes peptidiques, caractérisés par la présence dans leur molécule de plusieurs acides aminés et d'un aminophénol, ont été isolés de plantes d'origine diverse.¹ Sauf un seul, la zizyphine,^{1c} ils répondent à une formule générale cyclique, 1, où E est un acide aminé facultatif, m-n équivaut à



CH=CH, CHOH—CH₂ ou CO—CH₂, R₁, R₂, R₃ sont des restes d'acides aminés aliphatiques ou aromatiques et R₄ = H sauf pour l'hyménocardine^{1e,j} où il représente un CH₃.

La structure du premier alcaloïde cyclique de ce type qui ait été isolé, la pandamine,^{1a,b} a été établie par dégradation chimique. La structure de tous les autres alcaloïdes a été essentiellement démontrée par spectrométrie de masse, sauf celle de l'hyménocardine^{1e,j} pour laquelle la spectrométrie de masse s'est révélée insuffisante et a été complétée par une étude chimique.

Deux nouveaux alcaloïdes peptidiques, les lasiodines A et B ont été isolés du *Lasiodiscus marmoratus* C. H. Wright (Rhamnacées) et séparés par chromatographie

* Laboratoire de Recherche Chimique Ministère de l'Agriculture Tervuren (Belgique).

sur Florisil. La lasiodine B répond à la formule générale 1 et sa structure a été aisément démontrée par l'étude de son spectre de masse. Par contre, la lasiodine A correspond à une formule non cyclique d'un type nouveau (différent de celui de la zizyphine) et sa structure a été établie par dégradation chimique.

Structure de la lasiodine B

La lasiodine B est obtenue cristallisée dans l'acétone, $F = 221^\circ$, $[\alpha]_D = -301^\circ$ (CHCl_3 , CH_3OH 1:1, $c = 1$) et répond à la formule brute $\text{C}_{35}\text{H}_{47}\text{O}_5\text{N}_5$.

Son spectre UV présente une forte absorption terminale du type aromatique à laquelle se surajoute une absorption vers 250 nm. Ce spectre est identique à celui de tous les autres alcaloïdes précédemment étudiés, qui comportent une unité *p*-hydroxy-styrylamine comprise dans un cycle à 14 chaînons.^{1d, f, g, i}

Le spectre IR (nujol) montre les bandes caractéristiques d'un ou de plusieurs groupes —CONH— à 3260, 1665, 1630 et 1505 cm^{-1} et à 1240 cm^{-1} une bande forte attribuable à une vibration C—O—C du type éther de phénol.

Le spectre de RMN (dans le deutériochloroforme additionné d'une trace de méthanol deutérié) est caractérisé par le signal d'un groupe N—CH_3 à 2.29 ppm et la présence de signaux mal différenciés entre 0.6 et 1.4 ppm attribuables aux 12 protons de quatre méthyles aliphatiques. On observe également, entre 6.5 et 7.6 ppm, les signaux de 13 protons pouvant correspondre à des cycles benzéniques et à des groupes —CONH— .

Le spectre de masse présente un pic moléculaire $M^+ = 617$. On trouve sur ce spectre six ions pouvant correspondre à cinq fragments A, B, C, D et E, tels qu'ils ont été précédemment définis¹ⁱ pour tous les alcaloïdes cycliques étudiés (Tableau 1).

TABLEAU I

Fragment	Formule de l'ion	valeur (<i>m/e</i>)
A	ion a $\text{C}_6\text{H}_5\text{—CH}_2\text{—CH=}\overset{+}{\text{N}}\text{HCH}_3$	134
	ion b M-91	526
B	$(\text{CH}_3)_2\text{CH—CH=CH—C}\equiv\overset{+}{\text{O}}$	97
C ou E		70
C ou E	$\text{C}_4\text{H}_9\text{—CH=}\overset{+}{\text{N}}\text{H}_2$	86
D	$[\text{HO—C}_6\text{H}_4\text{—CH=CH—NH}_2]^+$	135

On aboutit alors, par analogie avec les alcaloïdes précédents, en particulier la scutianine^{1d} et l'adouétine Z^{1i} qui comportent le fragment E, à l'hypothèse de structure 2, en accord avec la formule brute. Cette hypothèse est confirmée par un

examen plus poussé du spectre de masse, tous les ions habituels, qui permettent de relier les différents fragments entre eux, étant présents sur le spectre (Tableau 2).

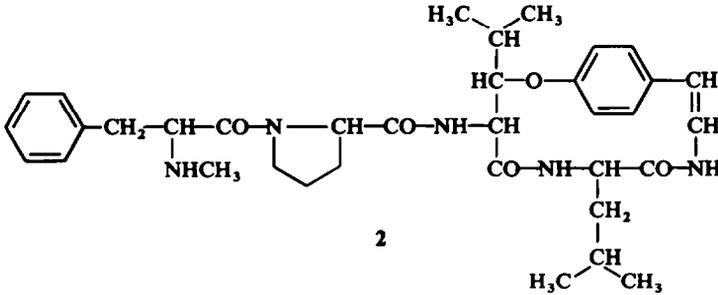


TABLEAU 2

Fragment commun à	Formule de l'ion	Valeur (m/e)
B et D		189
C et D		274
A, E et B		278
		252

TABLEAU 2—continued

Fragment commun à	Formule de l'ion	Valeur (m/e)
B, C et D		344
		385

Comme précédemment, la spectrométrie de masse ne permet pas de différencier la leucine de l'isoleucine, mais l'analyse d'un hydrolysate acide de l'alcaloïde par chromatographie en couche mince (CCM) permet d'identifier avec certitude la leucine. Par la même méthode, la proline et la *N*-méthyl-phénylalanine sont également mises en évidence.

Structure de la lasiodine A

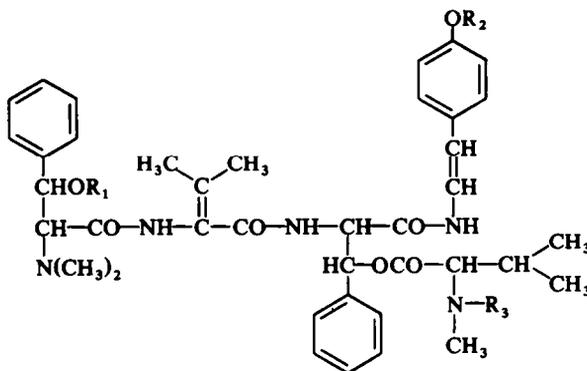
La lasiodine A est obtenue cristallisée dans l'acétone, $F = 195^\circ$, $[\alpha]_D = +38^\circ$ (CHCl_3 , $c = 1$) et répond à la formule brute $\text{C}_{39}\text{H}_{49}\text{O}_7\text{N}_5$.

I—*Etude spectrale*. Le spectre UV présente une forte absorption terminale de type aromatique et un maximum accentué à 281 nm ($\log \epsilon 4.49$).

Le spectre IR (nujol) montre une bande à 1750 cm^{-1} pouvant correspondre à la vibration C=O d'un groupe ester et des bandes à 3220, 1700, 1650 et 1515 cm^{-1} attribuables à des fonctions amides de type —CONH—. Une deuxième bande d'hydrogènes mobiles à 3300 cm^{-1} indique, en outre, la présence possible d'une ou plusieurs fonctions hydroxylées.

Le spectre de RMN (deutériochloroforme) présente à 0.69 et 0.82 ppm, deux doublets ($J = 6.7\text{ Hz}$) pouvant correspondre aux deux méthyles d'un groupe isopropyle. On trouve, d'autre part, trois singulets à 1.80 ppm (6 protons), 1.93 ppm (3 protons)

et 2.73 ppm (6 protons). Sur un spectre réalisé dans le deutériochloroforme additionné d'acide trifluoroacétique, on observe seulement deux singulets à 1.52 ppm (3 protons) et à 1.88 ppm (3 protons) et dans la région des 3.0 ppm apparaît un pic large correspondant environ 9 protons. On en déduit que le méthyle résonnant initialement à



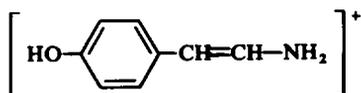
3a: $R_1 = R_2 = R_3 = H$

b: $R_1 = R_3 = H; R_2 = CH_3$

c: $R_1 = R_3 = COCH_3; R_2 = CH_3$

1.93 ppm et 3 protons correspondant à un méthyle résonnant initialement à 1.80 ppm n'ont été que peu déplacés par l'acide trifluoroacétique, tandis que les 3 protons correspondant au singulet d'un autre méthyle, également situé à 1.80 ppm sur le spectre réalisé dans le deutériochloroforme, ainsi que le singulet à 2.73 ppm (6 protons) ont été déplacés par l'acide trifluoroacétique vers 3.0 ppm. Ces deux derniers signaux appartiennent donc respectivement à des groupes NCH_3 et $N(CH_3)_2$ et les deux singulets, peu déplacés par l'acide trifluoroacétique, peuvent être interprétés comme les signaux de méthyles portés par un carbone entièrement substitué. En ce qui concerne les autres signaux du spectre (deutériochloroforme), deux doublets à 2.90 et 3.37 ppm (1 proton chacun, $J = 6$ et $J = 6.5$ Hz) peuvent correspondre à des protons situés en α des groupes NCH_3 , un doublet à 5.83 ppm ($J = 9.5$ Hz) à un proton vinylique et deux massifs peu différenciés à 5.17 ppm (2 protons) et entre 6.6 et 7.5 ppm (18 protons) respectivement à des protons en α d'hétéroatomes et à des protons aromatiques et amidiques.

Le spectre de masse ne montre pas de pic moléculaire correspondant à la formule brute, mais seulement un pic $M-106$ à m/e 593. De plus, alors que le spectre de masse des alcaloïdes peptidiques est caractérisé par un seul pic intense, correspondant à la fragmentation en α de l'azote basique (ion a), on observe ici quatre pics de grande intensité, m/e 58, 77, 86 et 105–106. Cependant, la présence d'un pic m/e 135 qui correspond habituellement à un ion

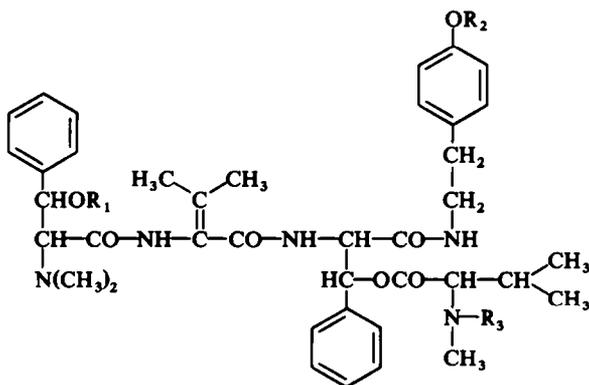


indique la présence probable d'une unité p-hydroxy-styrylamine.

Ces résultats, fournis par l'étude spectrale, ont donc montré que la structure de la lasiodine A était différente de celle des alcaloïdes précédemment étudiés (fonction ester, spectre UV, particularités des spectres de RMN et de masse), mais n'ont pas permis de poser une première hypothèse de structure, le seul élément net étant la présence probable d'une unité *p*-hydroxy-styrylamine. La structure de la lasiodine A a été établie par étude fonctionnelle et par dégradation, l'interprétation des spectres se confirmant et se complétant au fur et à mesure de l'établissement de cette structure.

II—*Etude fonctionnelle*. La lasiodine A, **3a**, présente une fonction phénol libre; elle donne en CCM une coloration jaune brun avec l'acide sulfanilique diazoté et, par action du diazométhane, elle conduit à une O-méthyl-lasiodine A, **3b**, $F = 188^\circ$, $[\alpha]_D = +53^\circ$ (CHCl_3 , $c = 1$), de formule brute $\text{C}_{40}\text{H}_{51}\text{O}_7\text{N}_5$. Le spectre de RMN de **3b** montre, à 3.72 ppm, le singulet du groupe OCH_3 et le spectre de masse présente un pic M-106 à m/e 607. Sur ce dernier spectre, le pic à m/e 135 disparaît, remplacé par un pic m/e 149; on peut donc admettre que c'est l'hydroxyle de la *p*-hydroxy-styrylamine, initialement libre, qui a été méthylé.

La lasiodine A présente, d'autre part, une fonction alcool et une fonction amine secondaire, mises en évidence par acétylation du dérivé **3b**. On obtient une N-acétyl-O-acétyl-O-méthyl-lasiodine A, **3c**, non cristallisée, mais dont le spectre de masse montre un pic moléculaire $M^+ = 797$. Le spectre de RMN de **3c** présente bien, comme celui de la lasiodine A, les doublets du groupe isopropyle ($J = 6.7$ Hz) à 0.79 et 0.89 ppm, les singulets des méthyles portés par un carbone quaternaire à



4: $R_1 = R_2 = \text{H}$; $R_3 = \text{CH}_3$

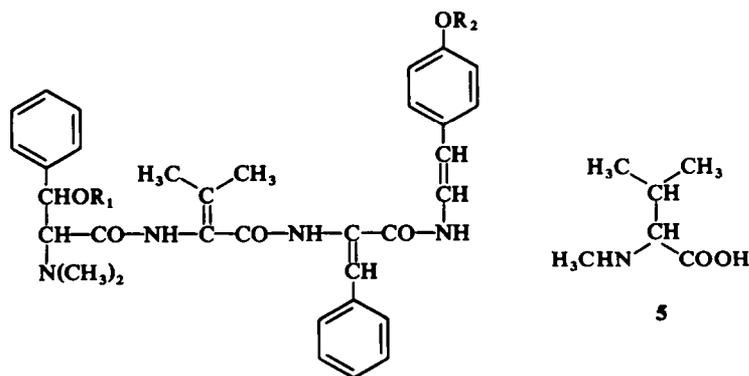
1.61 et 1.74 ppm et le singulet du $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ à 2.22 ppm. Les signaux des groupes $\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_3$ et $\text{N}-\text{CO}-\text{CH}_3$ apparaissent à 1.99 et 2.11 ppm et le signal du OCH_3 à 3.77 ppm. Enfin, un singulet à 2.88 ppm (3 protons) doit correspondre au NCH_3 d'un groupe $\text{N}(\text{CH}_3)\text{CO}-\text{CH}_3$. La fonction amine secondaire de la lasiodine A est donc une fonction NHCH_3 . Pour confirmer, de façon définitive, que cette fonction est bien présente dans la lasiodine A et ne résulte pas d'une ouverture éventuelle dans les conditions de l'acétylation, l'alcaloïde a été méthylé au moyen du formol et de l'hydrogène en présence de charbon palladié. Au cours de cette réaction, une double liaison est, de plus, hydrogénée, ce qui donne un dihydro-N-méthyl-lasiodine A, **4**, $F = 144^\circ$, $[\alpha]_D = +39^\circ$ (CHCl_3 , $c = 1$), de formule brute $\text{C}_{40}\text{H}_{53}\text{O}_7\text{N}_5$,

$\frac{1}{2}$ H₂O (M-106 à *m/e* 609). La spectrométrie de masse permet de dire que c'est la double liaison d'une *p*-hydroxy-styrylamine qui a été hydrogénée; en effet, le spectre de masse ne présente plus de pic à *m/e* 135, mais les pics *m/e* 120 et *m/e* 107, caractéristiques d'une unité tyramine.^{1e} Sur le spectre de RMN, le doublet à 5.83 ppm a disparu. On peut attribuer, par conséquent, ce signal à l'un des protons vinyliques de la *p*-hydroxy-styrylamine. D'autre part, le spectre UV ne montre plus le maximum intense à 281 nm présent sur le spectre de la lasiodine A, mais un épaulement à 225 nm (log ϵ 4.62) et deux maximums à 278 et 286 nm (log ϵ 3.64 et 3.55). Ce spectre devient ainsi tout-à-fait comparable à celui de l'acétyltyramine (max λ 226, log ϵ 4.21; λ 280, log ϵ 3.40; λ 286, log ϵ 3.33). Le maximum à 281 nm de la lasiodine A peut être attribué à un système *p*-hydroxy-styrylamine non inclus dans un cycle comme dans le cas des alcaloïdes précédents. Pour ceux-ci, en effet, la présence du cycle empêche la double liaison de venir dans le plan du noyau benzénique et on observe seulement un maximum d'intensité beaucoup plus faible à 250 nm.^{1d, f}

L'étude fonctionnelle et spectrale précédente indique donc la présence probable dans la molécule de la lasiodine A de: un groupe isopropyle; deux méthyles portés par un carbone entièrement substitué; une fonction amine secondaire —NHCH₃; une fonction amine tertiaire —N(CH₃)₂; une fonction alcool acétylable; une fonction ester; une unité *p*-hydroxy-styrylamine, liée au reste de la molécule par une fonction amide.

III. *Etude par dégradation.* La fonction ester de la lasiodine A est très facilement saponifiée (soude 0.5 n à froid). On obtient un acide aminé, la N-méthyl-L-valine, 5, et un produit principal, 6a, $F = 217^\circ$, $[\alpha]_D = +123^\circ$ (CHCl₃, CH₃OH 1:1, $c = 1$) de formule brute C₃₃H₃₈O₅N₄ (pic M-106 à *m/e* 462). Cette formule brute indique que le dérivé 6a correspond à une déshydratation de l'alcool formé par hydrolyse de l'ester. Sa structure n'a pas été établie directement, car sa dégradation n'a permis d'isoler aucun produit net et il en sera discuté ultérieurement.

Par contre, l'hydrogénation catalytique de la lasiodine A, en présence de charbon palladié, conduit, d'une façon inattendue, à l'isolement de la N-méthyl-L-valine et d'un nouveau dérivé 7a, $F = 186^\circ$, $[\alpha]_D = +25^\circ$ (CHCl₃, CH₃OH 1:1, $c = 1$), de formule brute C₃₃H₄₂O₅N₄ (pic M-106 à *m/e* 468), dont la structure s'est révélée

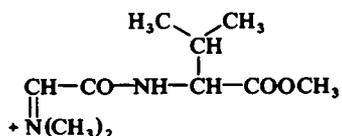


- 6a: R₁ = R₂ = H
 b: R₁ = H; R₂ = CH₃
 c: R₁ = COCH₃; R₂ = CH₃

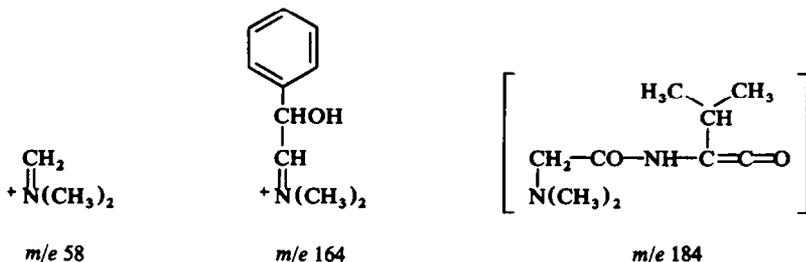
plus facile à déterminer. On déduit de la formule brute qu'il n'y a pas eu simple hydrolyse de la fonction ester, mais une hydrogénolyse réductrice et que, de plus, deux doubles liaisons ont été hydrogénées, dont l'une est évidemment celle de la *p*-hydroxy-styrylamine; en effet, on observe un spectre UV caractéristique d'un dérivé de la tyramine, et le spectre de masse ne montre plus de pic *m/e* 135, mais les pics *m/e* 120 et *m/e* 107 de cet amino-phénol. Le spectre de RMN montre, à 0.73 et 0.78 ppm, deux doublets ($J = 6.5$ Hz), attribuables à un nouveau groupe isopropyle et qui remplacent les deux singulets des méthyles portés par un carbone quaternaire, présents sur le spectre de la lasiodine A, ce qui conduit à envisager, soit l'hydrogénolyse d'un groupe $(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{OR})\text{R}$, soit l'hydrogénation d'un groupe $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CR}_2$ de l'alkaloïde initial avec apparition d'un groupe isopropyle.

Si ces hypothèses sont exactes, le dérivé **7a** doit comporter, comme la lasiodine A, une fonction phénol et une fonction alcool libres. Effectivement, il conduit par action du diazométhane à un dérivé méthylé, **7b**, $F = 167^\circ$, $[\alpha]_D = +31^\circ$ (CHCl_3 , $c = 1$) de formule brute $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{O}_5\text{N}_4$. C'est bien l'hydroxyle de l'unité tyramine qui a été méthylé, ce qui est démontré par la présence d'un pic *m/e* 134 ($120 + 14$) sur le spectre de masse. Par acétylation pyridinée, le dérivé **7b** donne un produit O-acétylé **7c**, $F = 159^\circ$, $[\alpha]_D = +26^\circ$ (CHCl_3 , $c = 1$) de formule brute $\text{C}_{36}\text{H}_{46}\text{O}_6\text{N}_4$ ($M^+ = 630$).

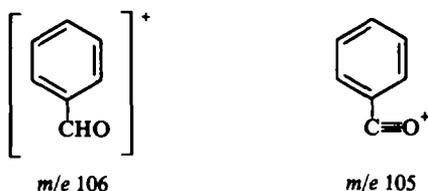
La structure de **7a** est démontrée par son hydrolyse acide, qui conduit à la tyramine et à la D-phénylalanine, isolées à l'état pur et au dipeptide **8a**, obtenu sous forme de son ester méthylique **8b**, dont la structure est elle-même démontrée par spectrométrie de RMN (se reporter à la partie expérimentale) et de masse. Le spectre de masse ne présente pas de pic moléculaire, mais un pic *m/e* 215 ($M-107$) attribuable à l'ion :



dont la formation s'interprète par une rupture facile entre le carbone portant la fonction alcool benzylique et le carbone en α du groupe $\text{N}(\text{CH}_3)_2$. Trois autres pics importants sont situés à *m/e* 58, *m/e* 164 et *m/e* 184 et peuvent être attribués aux ions :

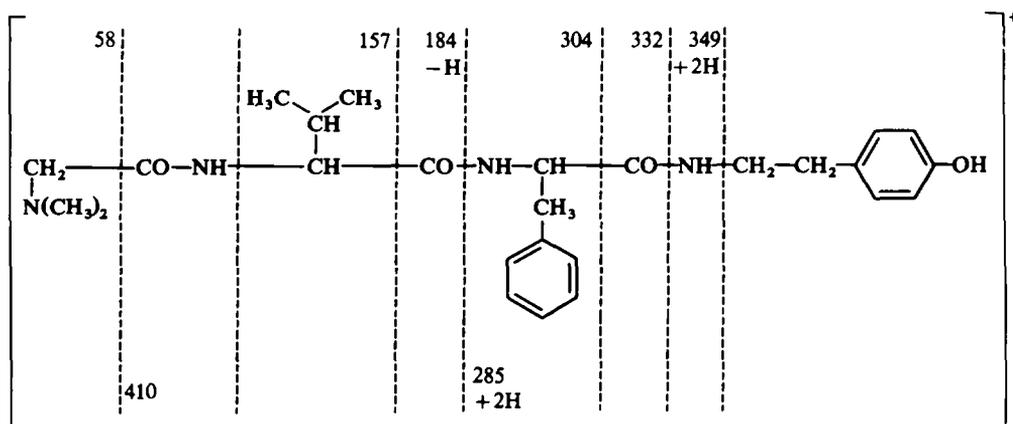


Enfin, les ions *m/e* 105 et 106, l'ion tropylium *m/e* 91 et le cation phényle *m/e* 77 sont caractéristiques de l'alcool benzylique.²



La structure de **8b** est confirmée par l'obtention d'un dérivé acétylé, $F = 115-118^\circ$, $[\alpha]_D = +28^\circ$ (CHCl_3 , $c = 1$) de formule brute $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{O}_5\text{N}_2$ ($M^+ = 364$).

La spectrométrie de masse est également en accord avec la structure proposée pour le dérivé **7a**: en dehors du pic m/e 468 ($M-106$), attribuable à un ion :

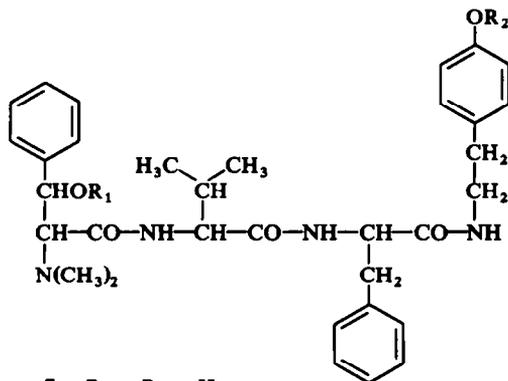


des pics caractéristiques de la tyramine (m/e 120 et m/e 107) et de l'alcool benzylique, on trouve les ions m/e 410, 368, 332, 304, 285, 184, 157 et 58, que l'on peut faire dériver de l'ion m/e 468.

L'examen comparé des formules brutes et des spectres de la lasiodine A et de ses dérivés fonctionnels (**3b**, **3c** et **4**) d'une part, et du produit **7a** d'autre part, montre que la structure de l'alcaloïde dérive de celle de **7a** en y remplaçant la tyramine par une *p*-hydroxy-styrylamine et en y ajoutant une double liaison et une fonction alcool estérifiée par une N-méthyl-valine. Les positions de la double liaison et de la fonction ester, qui ont été respectivement hydrogénées et hydrogénéolysées lors de la réaction qui a conduit à **7a** à partir de la lasiodine A, restent à déterminer. Trois positions sont possibles pour la fonction ester, soit ester d'une β -hydroxyvaline, la double liaison étant alors celle d'une déhydro-phénylalanine, soit ester d'une α ou d'une β -hydroxy-phénylalanine, la double liaison se trouvant alors être celle d'une déhydro-valine.

L'étude de la structure du dérivé **6a**, obtenu par action de la soude diluée sur la lasiodine A, confirme ces données: l'examen de sa formule brute et de ses spectres UV, de RMN et de masse, ainsi que des spectres de ses dérivés **6b** et **6c**, indique, en effet, qu'il diffère de **7a** par la présence de trois doubles liaisons qui sont celles de la *p*-hydroxy-styrylamine, de la déhydro-valine et de la déhydro-phénylalanine, l'une des deux dernières devant dériver de la déshydratation de l'alcool formé par hydrolyse de l'ester. Le spectre UV de **6a** montre entre 270 et 295 nm ($\log \epsilon$ 4.61) un plateau

qui peut s'interpréter par la présence des deux systèmes styryles. Le spectre de RMN montre les deux singulets des CH_3 portés par un carbone quaternaire de la déhydrovaline à 1.76 et 2.02 ppm, le singulet du groupe $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ à 2.23 ppm, les doublets de



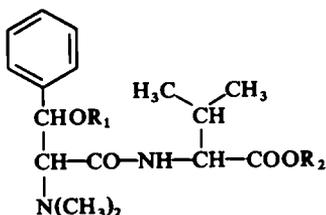
- 7a: $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}$
 b: $\text{R}_1 = \text{H}; \text{R}_2 = \text{CH}_3$
 c: $\text{R}_1 = \text{COCH}_3; \text{R}_2 = \text{CH}_3$

l'hydrogène en α du $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ et de l'hydrogène en α de la fonction alcool respectivement à 3.16 et 4.87 ppm ($J = 6.5$ Hz), le doublet de l'un des protons vinyliques de la *p*-hydroxy-styrylamine à 5.71 ppm ($J = 9.5$ Hz) et entre 6.6 et 7.4 ppm les signaux des protons benzéniques et amidiques. Le spectre de masse présente, en dehors du pic *m/e* 462 ($M-106$), le pic *m/e* 135 caractéristique de la *p*-hydroxy-styrylamine, les pics *m/e* 58, 77, 91, 105–106 de l'unité *N*-diméthyl- β -phénylsérine identiques à ceux de 7a et des pics *m/e* 328, 300, 280, 182, 155 qui se déduisent des pics correspondants de 7a par perte de 2 ou de 4. Comme le produit 7a, le dérivé 6a conduit, par méthylation au moyen du diazométhane, à un dérivé *O*-méthylé 6b, puis par acétylation à un dérivé *O*-méthylé et *O*-acétylé 6c ($M^+ = 624$).

La formule définitive de la lasiodine A a été déduite de la structure du dérivé 9a. Ce produit (non cristallisé) est obtenu, en faible quantité, à côté de 6a dans l'action de la soude diluée sur la lasiodine A, mais il peut être préparé facilement par action de l'hydrure d'aluminium et de lithium sur l'alcaloïde. Le spectre UV de 9a est identique à celui de la lasiodine A (forte absorption terminale, maximum accentué à 283 nm, $\log \epsilon$ 4.39). Son spectre de masse présente un pic $M-106$ à *m/e* 480, accompagné d'un pic *m/e* 462 (480 – 18). Il correspond donc à une simple hydrolyse de la fonction ester sans déshydratation. La fonction alcool, libérée, est secondaire; elle est facilement acétylable et, si l'on compare les spectres de RMN du dérivé méthylé 9b et du dérivé méthylé et diacétylé 9c ($M^+ = 684$), on observe deux doublets attribuables aux protons en α des groupes OH situés dans 9b à 4.83 et 5.38 ppm ($J = 6.5$ et 4 Hz) et déplacés dans 9c, respectivement, à 6.08 et 6.26 ppm ($J = 5.5$ et 6 Hz). Les différences de couplage observées (1 et 2 Hz) sont dues, sans doute, à une différence de conformation attribuable à l'encombrement stérique supplémentaire apporté par les groupes acétyles. La fonction alcool secondaire libérée ne peut être que celle d'une β -hydroxy-phénylalanine, ce qui est confirmé par hydrolyse acide de 9a. Une faible quantité de β -phénylsérine, 10, a pu être mise en évidence dans l'hydrolysats par CCM,

puis isolée à l'état pur et identifiée à la D-thréo-phénylsérine (spectre de RMN, spectre IR, pouvoir rotatoire).

La lasiodine A répond donc à la structure 3a. Il faut remarquer que le spectre de masse n'apporte aucun élément permettant de localiser la fonction ester. On observe,



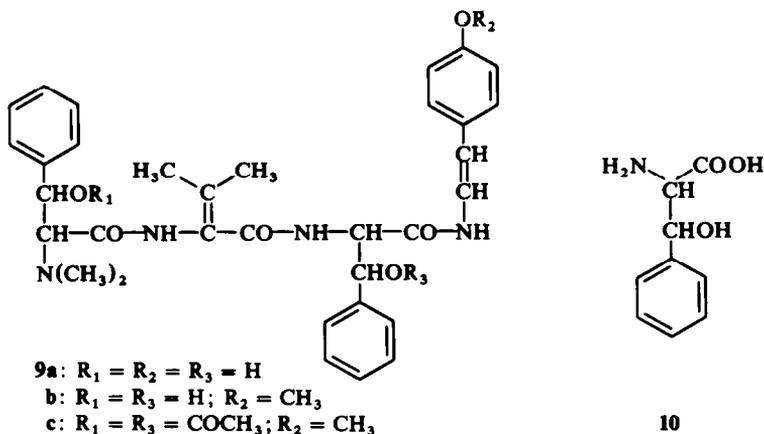
- 3a: $R_1 = R_2 = H$
 b: $R_1 = H; R_2 = CH_3$
 c: $R_1 = COCH_3; R_2 = CH_3$

en effet, en dehors du pic m/e 593 ($M-106$), un pic m/e 462 ($593 - 131$) correspondant à la perte à partir de l'ion 593 d'une molécule de N-méthyl-valine ($M = 131$). La plupart des autres pics sont les mêmes que ceux du dérivé 6a, sauf, évidemment, un pic m/e 86 qui correspond à un ion



issu de la partie N-méthyl-valine de la molécule.

La lasiodine A constitue le premier exemple d'un alcaloïde peptidique non cyclique, comportant une unité aminophénol dont la fonction phénol est libre et non engagée



dans une fonction éther avec un β -hydroxy-amino-acide. Il reste à déterminer la stéréochimie de la partie N-diméthyl- β -phénylsérine. Les autres carbones asymétriques appartiennent à la N-méthyl-L-valine estérifiant la D-thréo- β -phénylsérine, ce type

d'ester particulier ne semblant pas avoir été jusqu'ici mis en évidence dans un produit naturel.

PARTIE EXPERIMENTALE

Les points de fusion, pris en tube capillaire, sont corrigés. Les pouvoirs rotatoires ont été déterminés avec le polarimètre électronique Jouan-Roussel à une température voisine de 20° et à une concentration de 1%. Les spectres UV ont été exécutés en solution dans l'éthanol à l'aide du spectrophotomètre Unicam. Les spectres I.R. ont été déterminés sur un spectrographe Perkin-Elmer modèle 257. Les spectres de RMN ont été effectués avec un spectromètre Varian A-60; les déplacements chimiques sont exprimés en ppm, le signal du tétraméthylsilane étant pris comme zéro de référence. Les spectres de masse ont été mesurés sur un spectrographe MS-9 (sauf indication contraire). Les analyses ont été effectuées dans le laboratoire de Microanalyse du C.N.R.S. à Gif s/Yvette.

Les chromatographies en couche mince (CCM) ont été exécutées sur Kieselgel-G neutre (sauf pour l'analyse de l'hydrolysate acide de la lasiodine B), le solvant de migration utilisé pour les acides aminés, les aminophénols et les peptides étant un mélange ammoniacque, ethanol absolu, chlorure de méthylène (15-40-60). Les acides aminés et les aminophénols sont révélés par une solution alcoolique de ninhydrine à 0.2%. Dans tous les autres cas, la révélation est obtenue par pulvérisation successive de la plaque avec le réactif de Dragendorff et une solution d'acide sulfurique à 50%.

La silice utilisée dans les chromatographies est dite "4 minutes" et spécialement préparée à cet effet.³

Extraction et separation des alcaloïdes du *Lasiodiscus marmoratus*

23 kg de feuilles pulvérisées sont alcalinisées par une solution d'ammoniaque à 40% et extraites dans un appareil de Soxhlet par 120 l d'éther sulfurique. La phase organique est soumise sans concentration à une extraction par une solution saturée d'acide sulfamique jusqu'à réaction de Mayer négative (environ 351). La solution aqueuse est additionnée d'un excès d'ammoniaque et les bases libérées sont extraites au chlorure de méthylène. On obtient ainsi 41 g d'alcaloïdes bruts qui sont chromatographiés sur 850 g de Florisil 100/200 mesh. L'éluat est recueilli par fractions de 500 cm³.

Solvant	fractions	poids g.	(CCM) tache principale
CH ₂ Cl ₂	1	3.10	
—	2-18	8.35	lasiodine A
CH ₂ Cl ₂ , CH ₃ OH 0.5%	19-21	7.42	lasiodine A + B
—	22-24	9.10	lasiodine B (pure en CCM)
—	25	6.51	lasiodine B
CH ₂ Cl ₂ , CH ₃ OH 1%	26	2.38	

Les fractions 2-18 sont reprises par l'éther et donnent 3.10 g de lasiodine A blanche, cristallisée, F = 192°, pure en CCM. Les fractions 19-21 sont chromatographiées à nouveau sur 150 g de Florisil, l'éluat étant recueilli par fractions de 200 cm³.

Solvant	fractions	poids g.	(CCM) tache principale
CH ₂ Cl ₂	1	0.200	
—	2-7	2.55	lasiodine A (pure en CCM)
—	8-15	0.30	lasiodine A
CH ₂ Cl ₂ 0.5%	16-21	1.07	lasiodine A + B
—	22-25	3.410	lasiodine B

Lasiodine B. Le produit, pur en CCM, provenant de la chromatographie des alcaloïdes bruts, est cristallisé dans l'acétone, F = 221°, [α]_D -301° (CHCl₃, CH₃OH, 1:1). Analyse pour C₃₃H₄₇O₃N₅, 1/2 H₂O. Calc: C, 67.04; H, 7.72; O, 14.03; N, 11.16. Tr: C, 67.30; H, 7.69; O, 13.72; N, 11.05%; Spectre UV: forte

absorption terminale de type aromatique; à 250 nm $\log \epsilon$ 3-90; Spectre IR (nujol): CO—NH à 3260, 1665, 1630 et 1505 cm^{-1} ; C—O—C à 1240 cm^{-1} ; Spectre de RMN (CDCl_3 + traces de CD_4O): 12 protons, 4 CH_3 aliphatiques, entre 0-6 et 1-4 ppm; 6 protons, singulet de $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, à 2-29 ppm; 13 protons, cycles benzéniques et CO—NH entre 6-5 et 7-6 ppm; Spectre de masse: M^+ 617.

Hydrolyse acide de la lasiodine B. 10 mg d'alcaloïde sont dissous dans un mélange acide acétique/acide chlorhydrique/eau (1/2/1). On chauffe à reflux pendant 16 heures, puis on évapore à sec. Le résidu est repris par du méthanol et analysé sur plaque de cellulose (4) dans un système de solvants de migration méthyl-éthylcétone/eau/pyridine/acide acétique (70/15/15/2). On observe, après révélation par la ninhydrine 3 taches de même R_f que celles d'échantillons témoin de leucine, de *N*-méthylphénylalanine et de proline.

Lasiodine A, 3a. Un échantillon cristallisé pour analyse dans l'acétone présente les constantes suivantes: $F = 195^\circ$, $[\alpha]_D + 38^\circ$ (CHCl_3). Analyse pour $\text{C}_{39}\text{H}_{49}\text{O}_7\text{N}_5$. Calc: C, 66-93; H, 7-06; O, 16-00; N, 10-01. Tr: C, 66-90; H, 6-97; O, 16-27; N, 9-77%; Spectre UV: forte absorption terminale de type aromatique; λ_{max} 281 nm, $\log \epsilon$ 4-49; Spectre IR (nujol): H mobiles à 3300 et 3220 cm^{-1} ; amides à 1700, 1650 et 1515 cm^{-1} ; ester à 1750 cm^{-1} ; Spectre de RMN: (1) CDCl_3 : 6 protons, deux doublets ($J = 6-7$ Hz) des méthyles du groupe isopropyle à 0-69 et 0-82 ppm; 6 protons, singulet correspondant à un N—CH_3 , et à un des méthyles du groupe $(\text{CH}_3)_2\text{C=}$, à 1-80 ppm; 3 protons, singulet du deuxième méthyle du groupe $(\text{CH}_3)_2\text{C=}$ à 1-93 ppm; 6 protons, singulet de $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, à 2-73 ppm; 1 proton, doublet ($J = 6$ Hz) de l'hydrogène en α d'un groupe N—CH_3 , à 2-90 ppm; 1 proton, doublet ($J = 6-5$ Hz) de l'hydrogène en α du deuxième groupe N—CH_3 , à 3-37 ppm; 2 protons, hydrogènes en α d'hétéroatomes, à 5-17 ppm; 1 proton, doublet ($J = 9-5$ Hz) d'un H vinylique, à 5-83 ppm; 18 protons, cycles benzéniques et CO—NH, entre 6-6 et 7-5 ppm; (2) CDCl_3 additionné d'une goutte de CF_3COOH : 6 protons, 2 doublets ($J = 6-7$ Hz) des méthyles du groupe isopropyle, à 0-84 et 1-03 ppm; 6 protons, 2 singulets des méthyles du groupe $(\text{CH}_3)_2\text{C=}$, à 1-52 et 1-88 ppm; 9 protons, pic large des groupes N—CH_3 , à 3-0 ppm.

O-Méthyl-O-acétyl-N-acétyl-lasiodine A, 3c: 0, 130 g de *O*-méthyl-lasiodine A sont dissous dans 0-5 cm^3 de pyridine et additionnés de 0,5 cm^3 d'anhydride acétique. Après une nuit à la température ambiante, on dilue à l'eau glacée, alcalinise par l'ammoniaque et extrait au chloroforme. La solution chloroformique, lavée et séchée, est évaporée à sec. Le résidu (0.140 g) est chromatographié sur 5.6 g de silice. On élue, en tête, au chloroforme 0-090 g de produit pur en CCM, mais qui ne cristallise pas. Spectre U.V.: forte absorption terminale de type aromatique; λ_{max} 284 nm; $\log \epsilon$ 4-27. Spectre IR (CHCl_3): CO—NH à 3410, 3300, 1680, 1650 et 1515 cm^{-1} ; ester à 1745 cm^{-1} ; Spectre de RMN (CDCl_3): 6 protons, 2 doublets ($J = 6-7$ Hz) des méthyles du groupe isopropyle, à 0-79 et 0-89 ppm; 6 protons, 2 singulets des méthyles du groupe $(\text{CH}_3)_2\text{C=}$, à 1-61 et 1-74 ppm; 3 protons, singulet du O—CO—CH_3 , à 1-99 ppm; 3 protons, singulet du N—CO—CH_3 , à 2-11 ppm; 6 protons, singulet du $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, à 2-22 ppm; 3 protons, singulet du N—CH_3 , à 2-88 ppm; 1 proton, doublet ($J = 7-5$ Hz) de l'hydrogène en α du $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, à 3-30 ppm; 3 protons, singulet du OCH_3 , à 3-77 ppm; 1 proton, doublet ($J = 9-5$ Hz) d'un H vinylique, à 5-94 ppm; 18 protons, cycles benzéniques et CO—NH, entre 6-5 et 7-4 Hz; Spectre de masse: pic $M^+ = 797$; pic m/e 737 (*M*-60).

Dihydro-N-méthyl lasiodine A, 4. 0-20 g de lasiodine A sont dissous dans 10 cm^3 d'alcool absolu et hydrogénés en présence de 0-200 g de charbon palladié et de 2 cm^3 de formol à 30%, pendant 48 heures, à la température ambiante et à la pression atmosphérique. Le charbon est éliminé par filtration et le filtrat est évaporé à sec. Le résidu est dissous dans du chloroforme. La solution chloroformique est lavée à l'eau ammoniacale, puis à l'eau, séchée sur SO_4Na_2 et évaporée à sec. On obtient 0-167 g de produit qui sont chromatographiés sur 7 g de silice. On élue, par du chloroforme contenant 1% de méthanol, 0-126 g de dihydro-*N*-méthyl lasiodine A, pure en CCM, qui sont cristallisés dans l'alcool absolu, $F = 144^\circ$, $[\alpha]_D + 39^\circ$ (CHCl_3). Analyse pour $\text{C}_{40}\text{H}_{53}\text{O}_7\text{N}_5$, 1/2 H_2O . Calc: C, 66-28; H, 7-51; O, 16-55; N, 9-66. Tr: C, 66-09; H, 7-64; O, 16-71; N, 9-27%; Spectre UV: épaulement λ 227 nm, $\log \epsilon$ 4-62; λ_{max} 278 nm, $\log \epsilon$ 3-64; λ_{max} 286 nm, $\log \epsilon$ 3-55; Spectre IR (CHCl_3): CO—NH à 3310, 1670, 1510 cm^{-1} ; ester à 1740 cm^{-1} ; Spectre de RMN (CDCl_3): 6 protons, deux doublets ($J = 7$ Hz) des méthyles du groupe isopropyle, à 0-75 et 0-97 ppm; 6 protons, singulet d'un $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ à 1-75 ppm; 6 protons, 2 singulets des méthyles du groupe $(\text{CH}_3)_2\text{C=}$, à 1-80 et 1-92 ppm; 3 protons, singulet d'un $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, à 2-41 ppm; 1 proton doublet ($J = 5-5$ Hz) de l'H en α d'un $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ à 3-15 ppm; 1 proton, doublet ($J = 5-5$ Hz) de l'hydrogène en α de l'OH, à 5-12 ppm; 17 protons, cycles benzéniques et CONH, entre 6-6 et 7-6 ppm; Spectre de masse: pas de pic moléculaire; pic *M*-106 à m/e 593.

O-Méthyl-lasiodine A, 3b. 0-400 g de lasiodine A sont dissous dans 1 cm^3 de méthanol et additionnés de 10 cm^3 de solution étherée de diazométhane. Après 1 heure 30 de contact à la température ambiante, on évapore à sec. Le résidu est chromatographié sur 16 g de silice. On élue, en tête, au chloroforme 0-334 g de produit pur en CCM, qui sont cristallisés dans l'acétone, $F = 188^\circ$, $[\alpha]_D + 53^\circ$ (CHCl_3). Analyse

pour $C_{40}H_{51}O_7N_5$. Calc: C, 67.30; H, 7.20; O, 15.70; N, 9.81. Tr: C, 67-11; H, 7.24; O, 15.67; N, 9.75%; Spectre UV: forte absorption terminale de type aromatique; λ_{\max} 283 nm, $\log \epsilon$ 4.45; Spectre IR ($CHCl_3$): H mobiles à 3380, 3420 et 3270 cm^{-1} ; amides à 1690, 1650 et 1515 cm^{-1} ; ester à 1745 cm^{-1} ; Spectre de RMN ($CDCl_3$): 6 protons, 2 doublets ($J = 6.7$ Hz) des méthyles du groupe isopropyle, à 0.70 et 0.85 ppm; 6 protons, 2 singulets du groupe $(CH_3)_2C=$, à 1.80 et 1.92 ppm; 3 protons, singulet du $N-CH_3$, à 1.88 ppm; 6 protons, singulet du $N-CH_3$, à 2.45 ppm; 1 proton, doublet ($J = 6$ Hz) de l'hydrogène en α du $N-CH_3$, à 2.63 ppm; 1 proton, doublet ($J = 7$ Hz) de l'H en α du groupe $N(CH_3)_2$, à 2.81 ppm; 3 protons, singulet du OCH_3 , à 3.72 ppm; 2 protons en α d'hétéroatomes, à 5.07 ppm; 1 proton, doublet ($J = 9.5$ Hz) d'un hydrogène vinylique, à 5.82 ppm; 18 protons, cycles benzéniques et $CO-NH$, entre 6.60 et 7.50 ppm; Spectre de masse: pas de pic moléculaire; pic M-106 à m/e 607; pics à m/e 476, 417, 328, 300, 294, 182; m/e 149; m/e 106-105, 91, 86, 77, 58.

O-Méthyl O-acétyl N-acétyl lasiodine A, 3c. 0.130 g de O-méthyl lasiodine A sont dissous dans 0.5 cm^3 de pyridine et additionnés de 0.5 cm^3 d'anhydride acétique. Après une nuit à la température ambiante, on dilue à l'eau glacée, alcalinise par l'ammoniaque et extrait au chloroforme. La solution chloroformique, lavée et séchée est évaporée à sec. Le résidu (0.140 g) est chromatographié sur 5.6 g de silice. On élue, en tête, au chloroforme, 0.09 g de produit pur en CCM, mais qui ne cristallise pas; Spectre UV: forte absorption terminale de type aromatique; λ_{\max} 284 nm, $\log \epsilon$ 4.27; Spectre de masse: pas de pic moléculaire; pic M-106 à m/e 609; pics à m/e 464, 406, 346, 328, 300, 282, 182, 155; m/e 120, 107; m/e 106-105, 100 (86 + 15), 91, 77, 58.

N-Acétyl tyramine. 0.200 g de tyramine sont dissous dans 5 cm^3 de méthanol et additionnés de 0.75 cm^3 d'anhydride acétique. Après une heure de contact à la température ambiante, on évapore à sec; on dissout plusieurs fois le résidu dans un mélange chloroforme-méthanol en évaporant à sec à chaque fois, pour éliminer l'excès d'anhydride acétique. Finalement, on cristallise dans l'acétone, $F = 133^\circ$. Comin *et al.*⁵ donnent 134-135°. Analyse pour $C_{10}H_{13}O_2N$. Calc: C, 67.02; H, 7.31; N, 7.82. Tr: C, 66.89; H, 7.08; N, 7.95%; Spectre UV: λ_{\max} 226 nm, $\log \epsilon$ 4.21; λ_{\max} 280 nm, $\log \epsilon$ 3.40; λ_{\max} 286 nm, $\log \epsilon$ 3.33; Spectre IR (nujol): $CO-NH$ à 3340, 1635 et 1520 cm^{-1} .

Hydrogénation catalytique de la lasiodine A

N-Diméthyl- β -phénylséryl-valyl-phénylalanyl-tyramine, 7a. 0.250 g de lasiodine A sont dissous dans 20 cm^3 d'alcool absolu et hydrogénés, en présence de 0.125 g de charbon palladié, à la température ambiante et à la pression atmosphérique pendant 60 heures. Le charbon est éliminé par filtration et le filtrat est évaporé à sec. Le résidu est repris par un mélange de chloroforme et d'une solution très diluée d'ammoniaque. La phase chloroformique est séparée, lavée, séchée et évaporée à sec, elle fournit 0.198 g de produit qui sont chromatographiés sur 7.6 g de silice. Par du chloroforme contenant 2% de méthanol, on élue 0.133 g du dérivé 7a, purs en CCM, qui sont cristallisés dans l'acétone, $F = 186^\circ$, $[\alpha]_D + 25^\circ$ ($CHCl_3$, CH_3OH , 1:1). Analyse pour $C_{33}H_{44}O_5N_4$. Calc: C, 68.96; H, 7.32; O, 13.92; N, 9.75. Tr: C, 68.93; H, 7.35; O, 13.93; N, 9.64%; Spectre UV: épaulement λ 225 nm, $\log \epsilon$ 4; λ_{\max} 278 nm, $\log \epsilon$ 3.20; λ_{\max} 286 nm, $\log \epsilon$ 3.11; Spectre IR (nujol): H mobiles à 3180 cm^{-1} ; amides à 1640, 1550 et 1520 cm^{-1} ; Spectre de RMN ($CDCl_3$): 6 protons, 2 doublets ($J = 6.5$ Hz) des méthyles du groupe isopropyle, à 0.73 et 0.78 ppm; 6 protons, singulet du $N(CH_3)_2$, à 2.38 ppm; 1 proton, doublet ($J = 6.5$ Hz) de l'hydrogène en α du $N(CH_3)_2$, à 4.03 ppm; 1 proton, doublet ($J = 6.5$ Hz) de l'hydrogène en α de l'OH, à 5.07 ppm; 16 protons, cycles benzéniques et $CO-NH$, entre 6.6 et 7.5 ppm. Spectre de masse: pas de pic moléculaire; pic M-106 à m/e 468.

N-Méthyl-L-valine, 5. La solution aqueuse ammoniacale, séparée par décantation de la phase chloroformique, selon le mode opératoire décrit pour le produit 7a, est évaporée à sec. On obtient 0.038 g de N-méthyl-L-valine qui sont sublimés à 160°, $F > 300^\circ$, $[\alpha]_D + 33.5^\circ$ (HCl 6N). P. Quitt *et al.*⁶ donnent +33.1. Analyse pour $C_6H_{13}O_2N$. Calc: C, 54.94; H, 9.99; N, 10.68. Tr: C, 55.10; H, 9.75; N, 10.84%; Spectre de RMN du chlorhydrate dans D_2O : 6 protons, 2 doublets ($J = 7$ Hz) du groupe isopropyle à 0.91 et 0.94 ppm; 3 protons, singulet du NCH_3 , à 2.61 ppm; 1 proton, doublet ($J = 4.5$ Hz) de l'hydrogène en α du NCH_3 , à 3.30 ppm.

N-Diméthyl- β -phénylséryl-valyl-phénylalanyl-O-méthyl-tyramine, 7b. 0.190 g de produit 7a sont dissous dans 3 cm^3 de méthanol et additionnés de 10 cm^3 de solution étherée de diazométhane. Après 5 heures de contact à la température ambiante, on évapore à sec. Le résidu est chromatographié sur 7.6 g de silice. On élue en tête au chloroforme, 0.129 g de produit 7b, pur en CCM, qui sont cristallisés dans l'acétone, $F = 167^\circ$, $[\alpha]_D + 31^\circ$ ($CHCl_3$). Analyse pour $C_{34}H_{44}O_5N_4$. Calc: C, 69.36; H, 7.53; O, 13.59; N, 9.52. Tr: C, 69.30; H, 7.38; O, 13.77; N, 9.64%. Spectre UV: épaulement λ 225 nm, $\log \epsilon$ 4.60; λ_{\max} 279 nm, $\log \epsilon$ 3.54; λ_{\max} 286 nm, $\log \epsilon$ 3.48. Spectre IR ($CHCl_3$): H mobiles à 3420 et 3340 cm^{-1} ; amides à 1660 et

1510 cm^{-1} . Spectre de RMN (CDCl_3): 6 protons, 2 doublets ($J = 6.5$ Hz) des méthyles du groupe isopropyle, à 0.77 et 0.82 ppm; 6 protons, singulet du $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, à 2.26 ppm; 3 protons, singulet du OCH_3 , à 3.76 ppm; 1 proton, doublet ($J = 7$ Hz) de l'hydrogène en α de l'OH, à 4.99 ppm; 15 protons, cycles benzéniques et CO-NH , entre 6.6 et 7.5 ppm. Spectre de masse: pas de pic moléculaire; pic M-106 à m/e 482; pics à m/e 424, 347, 332, 304, 184, 157; m/e 134; m/e 106-105, 91, 77, 58.

N-Diméthyl-O-acétyl- β -phénylséryl-valyl-phénylalaninyl-O-méthyl-tyramine, 7c. 0.060 g de dérivé 7b sont dissous dans 0.5 cm^3 de pyridine et additionnés de 0.5 cm^3 d'anhydride acétique. On laisse reposer une nuit à la température ambiante, puis dilue à l'eau glacée, alcalinise par de l'ammoniaque et extrait au chloroforme. La solution chloroformique, lavée, séchée et évaporée à sec, fournit 0.061 g de produit brut, qui sont cristallisés dans l'acétone-éther, $F = 159^\circ$, $[\alpha]_D + 26^\circ$ (CHCl_3). Analyse pour $\text{C}_{36}\text{H}_{46}\text{O}_6\text{N}_4$. Calc: C, 68.55; H, 7.35; O, 15.22; N, 8.88. Tr: C, 68.81; H, 7.08; O, 15.26; N, 8.90%. Spectre UV: épaulement λ 225 nm, $\log \epsilon$ 4.73; λ_{max} 278 nm; $\log \epsilon$ 3.56; λ_{max} 286 nm, $\log \epsilon$ 3.50. Spectre IR (CHCl_3): CO-NH à 3410, 3330, 1660 et 1510 cm^{-1} ; ester à 1740 cm^{-1} . Spectre de RMN (CDCl_3): 6 protons, 2 doublets ($J = 6.5$ Hz) des méthyles du groupe isopropyle, à 0.76 et 0.92 ppm; 3 protons, singulet du O-CO-CH_3 , à 2.03 ppm; 6 protons, singulet du $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, à 2.30 ppm; 3 protons, singulet du OCH_3 , à 3.78 ppm; 1 proton, doublet de l'hydrogène en α du groupe OCOCH_3 , à 6.13 ppm; 16 protons, cycles benzéniques et CO-NH , entre 6.6 et 7.4 ppm. Spectre de masse: pic $M^+ = 630$; pic à m/e 570 ($M-60$).

Hydrolyse acide de la N-diméthyl- β -phénylséryl-valyl-phenylalaninyl-tyramine, 7a. A 0.385 g de dérivé 7a, dissous dans 10 cm^3 d'acide acétique, on ajoute 20 cm^3 d'acide chlorhydrique concentré et 10 cm^3 d'eau. On porte à ébullition à reflux pendant 5 heures, puis on évapore à sec. On reprend plusieurs fois avec de l'alcool absolu, en évaporant à chaque fois la solution obtenue à sec, pour éliminer l'excès d'acide chlorhydrique. Finalement, on reprend par 15 cm^3 d'eau et cette solution aqueuse est alcalinisée par l'ammoniaque, extraite au chloroforme pour éliminer les produits basiques, puis mise à sec. Le résidu est dissous, à nouveau, dans 15 cm^3 d'eau et la solution obtenue est passée sur une colonne de 20 cm^3 d'amberlite CG 120 en phase acide. La résine est ensuite lavée avec 100 cm^3 d'eau. Les produits fixés par la résine sont élués par 700 cm^3 d'ammoniaque à 3%. La solution alcaline, évaporée à sec, fournit 0.26 g de produits qui sont repris par de l'alcool absolu. On obtient ainsi 0.016 g de D-phénylalanine, insolubles dans ce solvant, $[\alpha]_D + 32^\circ$, spectre IR et R_f en CCM identiques à ceux d'un échantillon de référence. Le filtrat est évaporé à sec et le résidu, dissous dans 15 cm^3 d'eau est passé sur une colonne de 12 cm^3 d'amberlite IRC 50 en phase acide. La colonne est lavée à l'eau. La solution passée et les eaux de lavage sont évaporées et fournissent 0.153 g de produits.

D'autre part, on élue, par 400 cm^3 d'ammoniaque, les produits fixés par la résine (0.102 g).

Les produits amphotères, non fixés par la résine (0.153 g), donnent en CCM, après révélation par la ninhydrine, une tache faible de même R_f que phénylalanine et, après révélation par le réactif de Dragendorff-acide sulfurique, une tache principale, de R_f légèrement supérieur, qui correspond à la N-diméthyl- β -phénylséryl-valine. On chromatographie sur sur 6.5 g de silice, l'éluat étant recueilli par fractions de 50 cm^3 .

Solvant	fractions	poids g.	(CCM) tache principale
CH_2Cl_2 , CH_3OH 5%	1-8	0.040	
— — 10%	9-13	0.054	une tache principale (Dragendorff SO_4H_2)
— — 15%	14-17	0.017	phénylalanine (ninhydrine)
— — 20%	18-21	0.016	

Les produits élués de la résine carboxylique par l'ammoniaque (0.102 g) sont chromatographiés sur 4 g de silice. On élue par un mélange de chloroforme contenant 15% de méthanol 0.056 g de tyramine, purs en CCM, qui sont cristallisés dans l'alcool absolu, $F = 162^\circ$, spectre IR superposable à celui d'un échantillon de référence.

N-Diméthyl- β -phénylséryl-valinate de méthyle 8b. Les fractions 9-13 (0.054 g) obtenues dans la chromatographie des produits d'hydrolyse acide du dérivé 7a, non retenus par la résine carboxylique, sont dissoutes dans 1 cm^3 de méthanol et additionnées de 2 cm^3 de solution étherée de diazométhane. Après 2 h. 30 de contact à température ambiante, on évapore à sec. Le résidu est chromatographié sur 2 g de silice. On élue par du chloroforme contenant 0.5% de méthanol, 0.020 g d'ester, purs en CCM, mais qui ne cristallisent pas. Spectre IR (CHCl_3): H mobiles à 3350 cm^{-1} ; amides à 1700, 1650 et 1510 cm^{-1} ; ester à 1740 cm^{-1} . Spectre de RMN (CDCl_3): 6 protons, 2 doublets ($J = 6.5$ Hz) des méthyles du groupe isopropyle, à 0.91 et 0.94 ppm; 6 protons, singulet du $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, à 2.29 ppm; 1 proton, doublet ($J = 6$ Hz) de l'hydrogène en α du groupe $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, à 3.36 ppm; 3 protons, singulet du groupe COOCH_3 , à 3.71 ppm; 1 proton, pic

large de l'OH, à 4.15 ppm; 1 proton, quadruplet ($J = 9$; $J' = 4$ Hz) de l'hydrogène en α du NH de la valine, à 4.45 ppm; 1 proton, doublet ($J = 6$ Hz) de l'hydrogène en α de l'OH, à 5.04 ppm; 6 protons, cycle benzénique et CO—NH, entre 7.20 et 7.40 ppm. Spectre de masse (sur spectrographe Atlas CH₄): pas de pic moléculaire; pic M-107 à m/e 215.

N-Diméthyl-O-acétyl- β -phénylséryl-valinate de méthyle, 8c. 0.020 g de N-diméthyl- β -phénylséryl-valinate de méthyle, 8b, sont dissous dans 0.3 cm³ de pyridine et additionnés de 0.3 cm³ d'anhydride acétique. Après une nuit à la température ambiante, on dilue par de l'eau, alcalinise à l'ammoniaque et extrait au chloroforme. La solution chloroformique, lavée et séchée, est évaporée à sec. On chromatographie le résidu sur 1 g de silice. Par un mélange à parties égales de benzène et de chloroforme, on élue, en tête, 0.010 g de N-diméthyl-O-acétyl- β -phénylséryl-valinate de méthyle, purs en CCM, qui sont sublimés, $F = 115-118^\circ$, $[\alpha]_D + 28^\circ$ (CHCl₃). Analyse pour C₁₉H₂₈O₅N₂. Calc: C, 62.62; H, 7.74; N, 7.69. Tr: C, 62.51; H, 7.60; N, 7.91%. Spectre IR (CHCl₃): CO—NH à 3420, 3370, 1680 et 1510 cm⁻¹; ester à 1740 cm⁻¹. Spectre de RMN (CDCl₃): 6 protons, 2 doublets ($J = 6.5$ Hz) des méthyles du groupe isopropyle, à 0.95 et 1.00 ppm; 3 protons, singulet du O—CO—CH₃, à 2.08 ppm; 6 protons, singulet du N(CH₃)₂ à 2.35 ppm; 1 proton, doublet ($J = 5.7$ Hz) de l'hydrogène en α du N(CH₃)₂ à 3.27 ppm; 3 protons, singulet du groupe COOCH₃ à 3.73 ppm; 1 proton, quadruplet ($J = 9$, $J' = 4$ Hz) de l'hydrogène en α du NH à 4.53 ppm; 1 proton, doublet ($J = 5.7$ Hz) de l'H en α du O—CO—CH₃ à 6.17 ppm; 6 protons, cycle benzénique et CO—NH entre 7.2 et 7.35 ppm. Spectre de masse (sur spectrographe Atlas CH₄): pic $M^+ = 364$; pic à m/e 304 ($M - 60$).

Hydrolyse alcaline de la lasiodine A

0.300 g de lasiodine A sont dissous dans 4 cm³ de soude méthanolique à 2% (environ 0.5 N). Après 1 heure de contact à la température ambiante, on dilue à l'eau et extrait à l'acétate d'éthyle. La solution organique, lavée, séchée et évaporée à sec, fournit 0.270 g de produits qui sont chromatographiés sur 11 g de silice. On élue, au chloroforme, contenant 0.5% de méthanol, 0.110 g de N-diméthyl- β -phénylséryl-déhydrovalyl-déhydro-phénylalananyl-*p*-hydroxy-styrylamine, 6a, pure en CCM et, au chloroforme contenant 2% de méthanol, 0.028 g de N-diméthyl- β -phénylséryl-déhydrovalyl- β -phénylséryl-*p*-hydroxy-styrylamine, 9a, R_f en CCM et spectres identiques à ceux du produit obtenu par action de AlLiH₄ sur la lasiodine A (voir ci-dessous).

La solution aqueuse alcaline, qui a été extraite par l'acétate d'éthyle, est acidifiée par l'acide chlorhydrique concentré, puis évaporée à sec. Le résidu est repris par un mélange de chloroforme-alcool absolu 85:15 (trois fois 20 cm³). La solution organique, mise à sec, fournit 0.060 g de produit qui sont recristallisés dans le méthanol-acétone. On obtient ainsi 0.020 g de chlorhydrate de N-méthyl-L-valine, $[\alpha]_D + 33^\circ$ (HCl 6N), R_f en CCM et spectre de RMN identiques à ceux du produit obtenu dans l'hydrogénation catalytique de la lasiodine A.

*N-Diméthyl- β -phénylséryl-déhydrovalyl-déhydrophénylalananyl-*p*-hydroxy-styrylamine*, 6a. Le produit pur en CCM, obtenu par chromatographie des produits d'hydrolyse alcaline de la lasiodine A, est cristallisé dans l'acétone, $F = 217^\circ$, $[\alpha]_D + 123^\circ$ (CHCl₃—MeOH, 1:1). Analyse pour C₃₃H₃₆O₅N₄. Calc. C, 69.70; H, 6.38; O, 14.07; N, 9.82. Tr: C, 69.69; H, 6.29; O, 14.49; N, 9.75%. Spectre UV: forte absorption terminale de type aromatique; plateau de 270 à 295 nm log ϵ 4.61. Spectre IR (CHCl₃): H mobiles à 3400 et 3300 cm⁻¹; amides à 1670, 1650 et 1630 cm⁻¹. Spectre de RMN (CDCl₃): 6 protons, 2 singulets des méthyles du groupe (CH₃)₂CH— à 1.76 et 2.02 ppm; 6 protons, singulet du N(CH₃)₂ à 2.23 ppm; 1 proton, doublet ($J = 6.5$ Hz) de l'hydrogène en α du N(CH₃)₂ à 3.16 ppm; 1 proton, doublet ($J = 6.5$ Hz) de l'hydrogène en α de l'OH à 4.87 ppm; 1 proton, doublet ($J = 9.5$ Hz) d'un H vinylique à 5.71 ppm; 16 protons, cycles benzéniques et CO—NH entre 6.6 et 7.4 ppm. Spectre de masse: pas de pic moléculaire; pic $M - 106$ à m/e 462.

*N-Diméthyl- β -phénylséryl-déhydrovalyl-déhydrophénylalananyl-*p*-méthoxy-styrylamine*, 6b. 0.050 g de dérivé 6a sont dissous dans 1 cm³ de méthanol et additionnés de 5 cm³ de solution étherée de diazométhane. Après 1 h. 30 à la température ambiante, on évapore à sec. Le résidu est chromatographié sur 2 g de silice. On élue, en tête, au chloroforme, 0.023 g de produit 6b, purs en CCM, mais qui ne cristallisent pas. Spectre UV: forte absorption terminale de type aromatique; plateau entre 270 et 294 nm, log ϵ 4.43. Spectre IR (CHCl₃): H mobiles à 3410 et 3300 cm⁻¹; amides à 1680 et 1650 cm⁻¹. Spectre de RMN (CDCl₃): 6 protons, 2 singulets des méthyles du groupe (CH₃)₂C=, à 1.79 et 2.26 ppm; 6 protons, singulet du N(CH₃)₂ à 2.24 ppm; 1 proton, doublet ($J = 6$ Hz) de l'hydrogène en α du groupe N(CH₃)₂ à 3.14 ppm; 3 protons, singulet du OCH₃ à 3.75 ppm; 1 proton, doublet ($J = 6.5$ Hz) de l'hydrogène en α de l'OH à 4.88 ppm; 1 proton, doublet ($J = 9.5$ Hz) d'un H vinylique à 5.71 ppm; 16 protons, cycles benzéniques et CO—NH

entre 6.70 et 7.5 ppm. Spectre de masse: pas de pic moléculaire; pic $M - 106$ à m/e 476; pics à m/e 415, 328, 294, 182; m/e 149, 121; m/e 106–105, 91, 77, 58.

N-Diméthyl-*O*-acétyl- β -phénylséryl-déhydrovalyl-déhydrophénylalanil-*p*-méthoxy-styrylamine, **6c**. 0.020 g de dérivé **6b** sont dissous dans 0.5 cm³ de pyridine et additionnés de 0.5 cm³ d'anhydride acétique. On laisse reposer une nuit à la température ambiante, puis dilue à l'eau, alcalinise par l'ammoniaque et extrait au chloroforme. La solution chloroformique, lavée et séchée, fournit 0.023 g de dérivé **6c**, pur en CCM. Spectre UV: forte absorption terminale de type aromatique; plateau entre 270 et 294 nm, log ϵ 4.55. Spectre IR (CHCl₃): —CONH— à 3420, 3300, 1680 et 1650 cm⁻¹; ester à 1745 cm⁻¹. Spectre de RMN (CDCl₃): 6 protons, 2 singulets des méthyles du groupe (CH₃)₂C= à 1.86 et 2.05 ppm; 3 protons, singulet du O—CO—CH₃ à 1.94 ppm; 6 protons, singulet du N(CH₃)₂ à 2.24 ppm; 1 proton, doublet ($J = 5.5$ Hz) de l'hydrogène en α du N(CH₃)₂, à 3.28 ppm; 3 protons, singulet du OCH₃ à 3.79 ppm; 1 proton, doublet ($J = 9.5$ Hz) d'un H vinylique à 5.77 ppm; 1 proton, doublet ($J = 5.5$ Hz) de l'hydrogène en α du groupe O—CO—CH₃ à 6.11 ppm; 16 protons, cycles benzéniques et CONH entre 6.7 et 7.5 ppm. Spectre de masse: pic $M^+ = 624$; pic à m/e 564 ($M - 60$).

N-Diméthyl- β -phénylséryl-déhydrovalyl- β -phénylséryl- β -hydroxy-styrylamine, **9a**. A 0.250 g de lasiodine A, dissous dans 20 cm³ de tétrahydrofurane, on ajoute, sous agitation magnétique, 0.100 g d'AlLiH₄. L'agitation est poursuivie pendant une heure, puis l'excès d'hydrure est détruit par addition d'acétate d'éthyle et de quelques gouttes d'eau. Le précipité d'alumine est éliminé par filtration et le filtrat est évaporé à sec. Le résidu est dissous dans l'acétate d'éthyle et la solution organique lavée, séchée et mise à sec, fournit 0.210 g de produit qui sont chromatographiés sur 8.4 g de silice. Par du chlorure de méthylène contenant 2% de méthanol, on élue 0.186 g de dérivé **9a**, purs en CCM, mais qui ne cristallisent pas. Spectre UV: forte absorption terminale de type aromatique; λ_{\max} 283 nm, log ϵ 4.39. Spectre IR (CHCl₃): H mobiles à 3400 et 3300 cm⁻¹; amides à 1660 cm⁻¹. Spectre de RMN (CDCl₃): 6 protons, 2 singulets des méthyles du groupe (CH₃)₂C= à 1.64 et 1.71 ppm; 6 protons, singulet du N(CH₃)₂ à 2.20 ppm; 1 proton, doublet ($J = 6.5$ Hz) du proton en α du N(CH₃)₂ à 3.20 ppm; 1 proton doublet ($J = 5$ Hz) de l'hydrogène en α de l'OH de la phénylsérine à 5.27 ppm; 1 proton, doublet ($J = 9.5$ Hz) d'un H vinylique à 5.67 ppm; 16 protons, cycles benzéniques et CO—NH entre 6.4 et 7.6 ppm. Spectre de masse: pas de pic moléculaire; pic $M - 106$ à m/e 480; pics à m/e 462 (480 - 18), 374 ($M - 2 \times 106$), 328, 281, 298, 182; m/e 135; m/e 106–105, 91, 77, 58.

N-Diméthyl- β -phénylséryl-déhydrovalyl- β -phénylséryl-*p*-méthoxy-styrylamine, **9b**. 0.095 g de dérivé **9a** sont dissous dans 0.5 cm³ de méthanol et additionnés de 3 cm³ de solution éthérée de diazométhane; après une heure de contact à la température ambiante, on évapore à sec. Le résidu est chromatographié sur 4 g de silice. On élue par du chloroforme contenant 1% de méthanol, 0.046 g de dérivé **9b** pur en CCM. Spectre UV: forte absorption terminale de type aromatique; λ_{\max} 284 nm, log ϵ 4.20. Spectre IR (CHCl₃): H mobiles à 3410 et 3300 cm⁻¹; amides à 1685 et 1660 cm⁻¹. Spectre de RMN (CDCl₃): 6 protons, singulets des méthyles du groupe (CH₃)₂C= à 1.66 et 1.73 ppm; 6 protons, singulet du N(CH₃)₂ à 2.20 ppm; 1 proton, doublet ($J = 6.5$ Hz) de l'hydrogène en α du groupe N(CH₃)₂ à 3.14 ppm; 3 protons, singulet du OCH₃ à 3.76 ppm; 1 proton, doublet ($J = 6.5$ Hz) de l'hydrogène en α de l'OH de la *N*-diméthyl- β -phénylsérine à 4.83 ppm (superposé au précédent); 1 proton, doublet ($J = 4$ Hz) de l'hydrogène en α de l'OH de la β -phénylsérine à 5.38 ppm; 1 proton, doublet ($J = 9.5$ Hz) d'un H vinylique à 5.68 ppm; 16 protons, cycles benzéniques et CONH entre 6.5 et 7.5 ppm. Spectre de masse: pas de pic moléculaire; pic $M - 106$ à m/e 494; pics à m/e 476 (494 - 18); m/e 388 ($M - 2 \times 106$); m/e 327, 182; m/e 149; m/e 106–105, 91, 77, 58.

N-Diméthyl-*O*-acétyl- β -phénylséryl-déhydrovalyl- β -phénylséryl-*p*-méthoxy-styrylamine, **9c**. 0.046 g de dérivé **9b** sont dissous dans 0.5 cm³ de pyridine et additionnés de 0.5 cm³ d'anhydride acétique. Après une nuit à la température ambiante, on dilue à l'eau, alcalinise par l'ammoniaque et extrait au chloroforme. La solution chloroformique, lavée et séchée, est évaporée à sec. Le résidu est chromatographié sur 2 g de silice. On élue, en tête, au chloroforme, 0.040 g de dérivé **9c** pur en CCM. Spectre UV: forte absorption terminale de type aromatique; λ_{\max} 285 nm, log ϵ 4.35. Spectre IR (CHCl₃): CO—NH à 3410, 3310, 1685, 1660 cm⁻¹; ester à 1740 cm⁻¹. Spectre de RMN (CDCl₃): 6 protons, 2 singulets de méthyles du groupe (CH₃)₂C= à 1.77 et 1.81 ppm; 3 protons, singulet d'un O—CO—CH₃ à 1.88 ppm; 3 protons, singulet d'un O—CO—CH₃ à 2.04 ppm; 6 protons, singulet du N(CH₃)₂ à 2.30 ppm; 1 proton, doublet ($J = 5.5$ Hz) de l'hydrogène en α du N(CH₃)₂, à 3.37 ppm; 3 protons, singulet du OCH₃ à 3.78 ppm; 1 proton, multiplet du proton en α du NH de la β -phénylsérine à 4.84 ppm; 1 proton, doublet ($J = 9.5$ Hz) d'un H vinylique à 5.65 ppm; 1 proton, doublet ($J = 5.5$ Hz) de l'hydrogène en α du groupe O—CO—CH₃ de la *N*-diméthyl-*O*-acétyl- β -phénylsérine à 6.08 ppm; 1 proton, doublet ($J = 6$ Hz) de l'hydrogène en α du groupe

O—CO—CH₃ de la O-acétyl-β-phénylsérine à 6.26 ppm; 16 protons, cycles benzéniques et CO—NH entre 6.5 et 7.4 ppm. Spectre de masse: pic M⁺ à m/e 684; pic à m/e 624 (M - 60) et 564 (M - 2 × 60).

Hydrolyse acide de la N-diméthyl-β-phénylséryl-déhydrovalyl-β-phénylséryl-p-hydroxy-styrylamine, 9a

D-thréo-β-phénylsérine, 10. A 0.269 g de dérivé 9a, dissous dans 7 cm³ d'acide acétique, on ajoute 7 cm³ d'acide chlorhydrique concentré. On porte à ébullition à reflux, pendant une heure, puis on filtre pour éliminer des produits noirs insolubles. Le filtrat est évaporé à sec et le résidu est dissous dans environ 10 cm³ d'alcool absolu et mis à sec de nouveau. On répète ces deux dernières opérations plusieurs fois jusqu'à élimination de l'excès d'acide chlorhydrique. Finalement, on reprend le résidu par 15 cm³ d'eau. La solution obtenue est passée sur une colonne de 30 cm³ d'amberlite CG 120 en phase acide, puis la résine est lavée avec 200 cm³ d'eau. Les produits fixés sont élués par 600 cm³ d'ammoniaque à 3%. La solution alcaline est évaporée à sec. Le résidu (0.110 g), analysé en CCM, présente, après révélation par la ninhydrine, une tache de même R_f que la thréo-β-phénylsérine. Il est chromatographié sur silice; on élue, par un mélange à partie égale de chloroforme et de méthanol, 0.018 g de D-thréo-β-phénylsérine, purs en CCM, qui sont cristallisés dans l'alcool absolu, [α]_D + 31°, spectre IR superposable à celui de la (D ou L)-thréo-β-phénylsérine (7).

Remerciements—Ce travail nous a été confié par M. R. Goutarel qui en a constamment suivi les résultats et que nous remercions pour de nombreuses et constructives discussions. Nous remercions le Professeur M.-M. Janot pour l'intérêt qu'il a porté à ces recherches et M. J. Renard, Directeur de l'Omnium Chimique, qui nous a procuré la plante utilisée pour ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ a M. Païs, X. Monseur, X. Lusinchi et R. Goutarel, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 817 (1964).
- ^b M. Païs, F. X. Jarreau, X. Lusinchi et R. Goutarel, *Ann. Chim.* 83 (1966);
- ^c E. Zbiral, E. L. Menard et J. M. Muller, *Helv. Chim. Acta* 48, 404 (1965);
- ^d R. Tschesche, R. Welters et H. W. Fehlhaber, *Chem. Ber.* 100, 323 (1967);
- ^e M. Païs, J. Marchand, F. X. Jarreau, X. Monseur et R. Goutarel, *C.R. Acad. Sci. Paris* 246. Série C, 1409 (1967);
- ^f R. Tschesche, J. Rheingans, H. W. Fehlhaber et G. Legler, *Chem. Ber.* 100, 3924 (1967);
- ^g R. Tschesche, H. Last et H. W. Fehlhaber, *Ibid.* 100, 3937 (1967)
- ^h R. Tschesche, E. Froberg et H. W. Fehlhaber, *Tetrahedron Letters* 1311 (1968);
- ⁱ M. Païs, J. Marchand, F. X. Jarreau et R. Goutarel, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1145 (1968);
- ^j M. Païs, J. Marchand, G. Ratle et F. X. Jarreau, *Ibid.*, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 2979 (1968).
- ² H. Budzikiewicz, C. Djerassi et D. H. Williams, *Interpretation of Mass spectra of organic compounds*, p. 170. Holden-Day, San Francisco (1964).
- ³ L. Labler, Vl. Schwartz "Chromatographie na tenké vrstvě, p. 45. Prague (1966).
J. Pitra et J. Sterba, *Chem. Listy*, 57, 389 (1953).
- ⁴ P. Wollenweber, *J. Chromatography* 9, 369 (1969);
M. Justisz et P. De La Llosa, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 2913 (1963).
- ⁵ J. Comin et W. Keller-Schierlein, *Helv. Chim. Acta* 42, 1730 (1959).
- ⁶ P. Quitt, J. Hellerbach et K. Vogler, *Helv. chim. Acta* 46, 327 (1963).
- ⁷ J. P. Greenstein et J. Winitz, *Chemistry of amino-acids*, p. 2638. Wiley, New-York, London (1961).