

ALCALOÏDES STÉROÏDIQUES—C¹

LES HOLANTOSINES A ET B, NOUVEAUX AMINO-GLYCO-STÉROÏDES ISOLÉS DES FEUILLES DE L'*HOLARRHENA ANTIDYSENTERICA* (ROXB.) WALL. (APOCYNACÉES)

M. M. JANOT, Q. KHUONG-HUU, C. MONNERET, I. KABORÉ,
J. HILDESHEIM, S. D. GERO et R. GOUTAREL

Institut de Chimie des Substances Naturelles, C.N.R.S., 91, Gif-sur-Yvette France

(Received in France 4 November 1969; Received in the UK for publication 26 November 1969)

Résumé—Deux nouveaux amino-glyco-stéroïdes, les holantosines A et B, ont été isolés des feuilles de *H. antidysenterica*. Ce sont les β -glycosides d'un sucre aminé et d'une génine, l'holantogénine, trihydroxy-3 β ,14 β ,20 ξ époxy-18,20 prégnane-5 α , **8**, dans l'holantosine A, et l'anhydro-holantogénine, **2**, dans l'holantosine B. Le sucre aminé est le désoxy-4 amino-4 D-cymarose, dénommé D-holosamine dont la structure est confirmée par synthèse.

Abstract—Two new amino-glyco-steroids, holantosines A and B, have been isolated from *H. antidysenterica* leaves. They are β -glycosides of an amino-sugar with a genin: holantogenin, **8**, 3 β , 14 β , 20 ξ -trihydroxy-18,20-epoxy-5 α -pregnane, for holantosine A, and anhydro-holantogenin, **2**, for holantosine B. The amino-sugar, D-holosamine, is 4-deoxy-4-amino-D-cymarose, this structure being confirmed by synthesis of the methyl α -D-glycoside.

LES structures de trois alcaloïdes appartenant au nouveau type des amino-glyco-stéroïdes ont été récemment décrites: holacurtine (méthylamino-4'*O*-méthyl-3' tridésoxy-2',4',6' β -D-ribo-hexopyranosyl)-3 β prégnane-5 α ol-14 β one-20, holacurténine, produit de déshydratation en 14 du précédent,² et mitiphylline (méthylamino-4' tridésoxy-2',4',6' β -D-ribo-hexopyranosyl)-3 β hydroxy-14 β card-5 β ène-20 (22) olide.³ La synthèse du sucre aminé correspondant à ces trois glyco-alcaloïdes a été décrite dans une courte note.⁴

Ces amino-glyco-stéroïdes ont été rencontrés dans deux *Holarrhena* asiatiques, *Holarrhena curtisii* King et Gamble² et *Holarrhena mitis* R. Br.³ et nous décrivons ici deux nouveaux alcaloïdes de ce type retirés des feuilles de l'*Holarrhena antidysenterica* (Roxb.) Wall. des Indes, désignés sous les noms d'holantosines A et B. L'étude de la fraction alcaloïdique, soluble dans l'éther de pétrole, retirée des feuilles de cette dernière espèce, avait antérieurement permis à Longevialle⁵⁻⁷ d'isoler quatre nouveaux stéroïdes aminés dérivés de l'hydroxy-2 α amino-3 β prégnène-5: la kurchiline, la kurchiphyllaminé, la kurchiphylline et la kurchaline.

La découverte, dans les *Holarrhena* asiatiques, de nouveaux glyco-alcaloïdes constitués par un méthoxy-sucre et une génine stéroïdique nous a conduits à un examen systématique du genre *Holarrhena*. Le spectre de RMN de la fraction alcaloïdique, insoluble dans l'éther de pétrole, des feuilles de *H. antidysenterica* est caractérisé par le singulet à 3,40 ppm (CDCl₃) d'un méthoxyle.* Cette fraction n'ayant

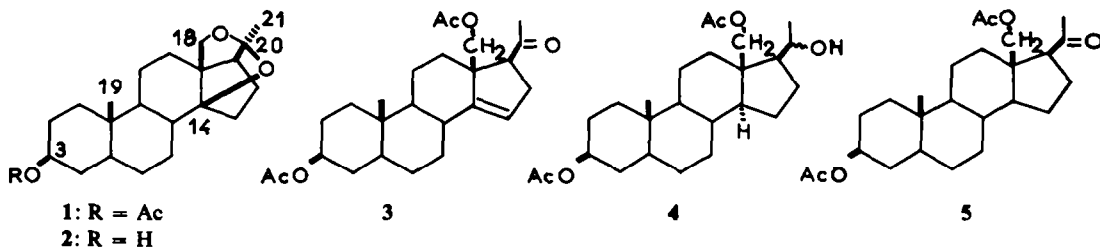
* La présence d'un groupe méthoxyle, mis en évidence par RMN, dans l'extrait alcaloïdique total brut, doit faire suspecter un méthoxy-sucre et l'éventualité d'un nouvel amino-glyco-stéroïde.

pas donné de produit cristallisé, les alcaloïdes totaux ont, tout d'abord, été acétylés, puis séparés en produits neutres et produits basiques.

L'acétylation, par le mélange anhydride acétique/pyridine, vers 80°, a conduit à une fraction neutre dont on a séparé par chromatographie un dérivé non azoté auquel a été donné le nom d'O-acétyl-anhydro-holantogénine. Une acétylation, réalisée dans des conditions plus douces, a permis d'isoler deux nouveaux amino-glyco-stéroïdes N-acétylés, la N-acétyl-holantosine A et la N-acétyl-holantosine B.

L'O-Acétyl anhydro-holantogénine, 1, répond à la formule brute $C_{23}H_{34}O_4$; son spectre IR présente les bandes d'absorption du groupe ester acétique et est caractérisé par l'absence de vibration OH.

On observe, dans le spectre de RMN: trois singulets de méthyles tertiaires ($OCOCH_3$, méthyles 19 et 21); un système AB ($J = 8$ Hz) dont la partie A est centrée à 3.66 ppm et la partie B à 4.05 ppm et qui peut être attribuée, en raison de son fort déplacement vers les champs faibles, à un méthylène en 18 sur un stéroïde comportant un époxyde-18.20, comparable à celui de de l'hydroxy-18 progestérone; le proton lié au carbone portant le groupe OAc, qui apparaît sous la forme d'un multiplet large, entre 4.40 et 4.90ppm, caractéristique d'un proton 3α axial.



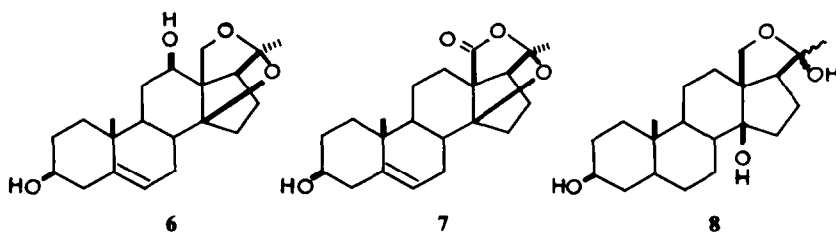
La saponification (KOH/éthanol *N*) de 1, à la température du laboratoire, conduit à l'anhydro-holantogénine, 2, dont le spectre IR est caractérisé par une vibration OH à 3440 cm^{-1} . Dans le spectre de RMN, le proton 3α axial donne un signal entre 3.35 et 3.80 ppm, les autres signaux étant identiques à ceux du dérivé acétylé.

La structure de l'anhydro-holantogénine est établie par ouverture acétylante (anhydride acétique/acide *p*-toluènesulfonique). Le dérivé obtenu, 3, présente, dans son spectre IR, les bandes caractéristiques des esters acétique et une bande $C=O$ à 1710 cm^{-1} . Dans le spectre de RMN, on observe: 4 singulets, dûs au méthyle 19, à deux $COCH_3$ d'ester acétique et à un $COCH_3$ (méthyle 21); un doublet centré à 4 ppm (2H), dû au CH_2 de l'ester d'un alcool primaire en 18; un multiplet à 5.27 ppm dû à un proton oléfinique (H-15). Toutes ces données sont en accord avec la structure d'une diacétoxy-3 β , 18(5 α)-prégnène-14 one-20 pour 3.

Cette structure est confirmée par hydrogénation catalytique (Pt d'Adams/acide acétique) donnant les produits saturés 4, dont la fonction alcool en 20 (mélange de 20 α et 20 β) est oxydée (réactif de Jones) pour donner un dérivé connu, la diacétoxy-3 β , 18 prégnane-5 α one-20, 5.

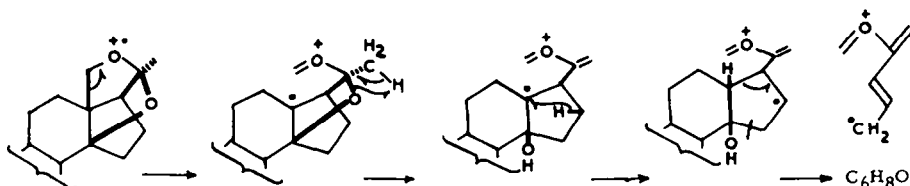
La structure du (20*S*)-hydroxy-3 β diépoxy-18.20,14 β . 20 prégnane-5 α , 2, apparaît

donc la plus vraisemblable pour l'anhydro-holantogénine, d'autant que deux formules de ce type ont été proposées pour deux autres génines, la stapélogénine, **6**, isolée d'une Asclépiadacée, *Stapelia gigantea*, par Reichstein *et al.*⁸ et l'adonilide, **7**, retirée d'une Renonculacée, *Adonis amurensis*, par Shimizu, *et al.*⁹



Par cristallisation dans le dioxane aqueux, l'anhydro-holantogénine, **2**, se transforme lentement en un nouveau produit, l'holantogénine, **8**, dont le R_f en CCM* est nettement différent et qui comporte dans sa formule brute une molécule d'eau en supplément. On peut affirmer que celle-ci n'est pas de l'eau de cristallisation, bien que **8** redonne très facilement l'anhydro-holantogénine par simple sublimation à 200° sous vide poussé. En effet, outre le R_f , les constantes physiques de **8** et de **2** sont nettement différentes et, en particulier, les deux produits se distinguent dans leurs spectres de RMN par les signaux correspondant au CH_2 18 (voir Tableau I).

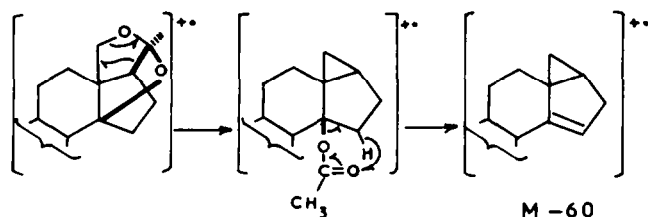
Les spectres de masse de l'anhydro-holantogénine et de ses dérivés sont en accord avec les structures proposées. Ceux de l'holantogénine et de l'anhydro-holantogénine sont pratiquement superposables, ce qui est dû à la facilité avec laquelle **8** donne **2** par sublimation dans le vide poussé. La formule brute de l'anhydro-holantogénine est confirmée par un pic M^+ à 332 et celle de son dérivé acétylé par un pic M^+ à m/e 374. Les deux spectres comportent un pic de base intense à m/e 96, dont la formule brute a été mesurée en haute résolution: tr. m/e 96-0576, calc. pour $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}$, m/e 96-0575. Une interprétation est donnée pour le mécanisme de formation de cet ion:



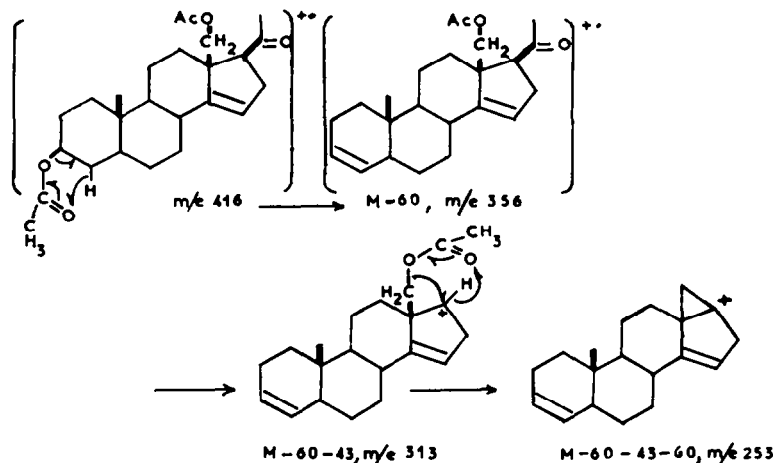
Un autre pic important se situe à M-60 dans le spectre de l'anhydro-holantogénine et a son équivalent à M-60-60 dans le spectre de son dérivé O-acétylé. Un pic M-60 avait été observé dans le spectre de masse de la stapélogénine, par Eppenberger *et al.*⁸; le mécanisme proposé faisait intervenir l'hydrogène d'une fonction alcool vraisemblablement en 12 β , pour expliquer l'élimination d'acide acétique. Nous proposons, dans le cas de l'anhydro-holantogénine, un autre mécanisme faisant intervenir un

* Chromatographie en couche mince.

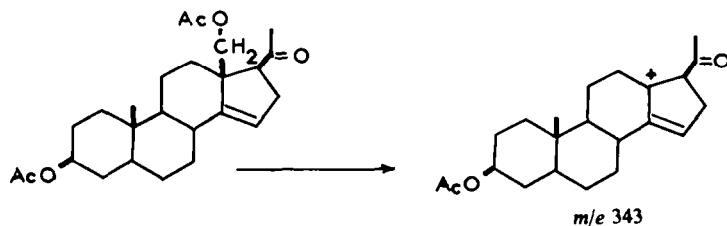
hydrogène en 15 et aboutissant à un ion m/e 272 comportant un cyclopropane conjugué à une double liaison:



Le spectre de masse du dérivé d'ouverture acétylante 3 correspond à la formule proposée de la diacétoxy-3 β , 18 (5 α)-prégnène-14 one-20. Le pic moléculaire se situe à m/e 416 et l'on observe une série d'ions à m/e 356 (M-60), m/e 313 (M-60-43), m/e 253 (M-60-43-60). La filiation de ces différents ions est confirmée par la présence des pics métastables correspondants:



Une deuxième série d'ions comprend un pic à m/e 343 (M-73) auquel est relié un ion à m/e 283 (M-73-60), par le pic métastable correspondant. La formation de l'ion m/e 343 résulte de la rupture homolytique de la liaison 13 - 18 favorisée par sa position allylique:



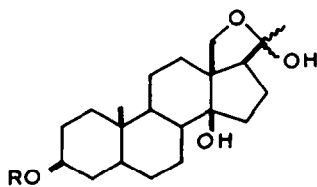
Le pic de base du spectre de masse de 3 se situe à m/e 43($\text{CH}_3\text{-C}\equiv\text{O}^+$)

TABLEAU I

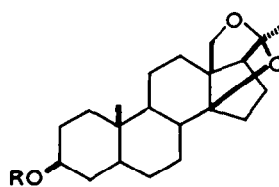
	8	9	2	10
CH ₃ 19	0.74 (s)	0.74 (s)	0.82 (s)	0.82 (s)
CH ₃ 21	1.40 (s)	1.40 (s)	1.40 (s)	1.40 (s)
CH ₂ 18	$\begin{cases} 3.53 \text{ (d)} \\ (J = 9\text{Hz}) \\ 4.16 \text{ (d)} \end{cases}$	$\begin{cases} 3.53 \text{ (d)} \\ (J = 8\text{Hz}) \\ 4.16 \text{ (d)} \end{cases}$	$\begin{cases} 3.66 \text{ (d)} \\ (J = 8\text{Hz}) \\ 4.05 \text{ (d)} \end{cases}$	$\begin{cases} 3.66 \text{ (d)} \\ (J = 8\text{Hz}) \\ 4.05 \text{ (d)} \end{cases}$
OCH ₃ 3'		3.40 (s)		3.40 (s)
NCOCH ₃ 4'		2.00 (s)		2.00 (s)
CH ₃ 6'		$\begin{cases} 1.19 \text{ (d)} \\ (J = 5\text{Hz}) \end{cases}$		$\begin{cases} 1.19 \text{ (d)} \\ (J = 5\text{Hz}) \end{cases}$
H 1'		4.78 (Dd)		4.78 (Dd)
		(J = 10; J' = 2Hz)		(J = 10; J' = 2Hz)

Spectre de RMN de l'holantogénine, **8**, de la N-acétyl holantosine A, **9**, de l'anhydro-holantogénine, **2**, et de la N-acétyl holantosine B, **10** (CDCl₃, δ en ppm). Singulet (s), doublet (d), doublet dédoublé (Dd).

La N-acétyl-holantosine A, **9**, C₃₀H₄₉O₇N, présente, dans son spectre IR, les bandes d'un amide secondaire (3360, 1680, 1540 cm⁻¹) et d'un OH (3320 cm⁻¹). Dans le spectre de RMN (voir Tableau I), on observe les signaux rencontrés avec l'holantogénine, ainsi que ceux d'un méthoxyle, d'un acétamide secondaire et d'un



8: R = H, holantogénine
9: R = C₉H₁₆O₃N,
 N-acétyl-holantosine A

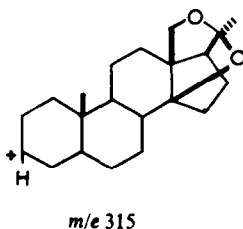


2: R = H, anhydro-holantogénine
10: R = C₉H₁₆O₃N,
 N-acétyl-holantosine B

méthyle secondaire. Par sublimation à 200° dans un vide poussé, la N-acétyl holantosine A, **9**, se transforme totalement en N-acétyl holantosine B, **10**. Inversement, la N-acétyl holantosine B, traitée dans le dioxanne aqueux ou l'éthanol aqueux, redonne lentement **9**. Ce comportement est identique à celui observé dans le cas de l'holantogénine et de l'anhydro-holantogénine. La N-acétyl holantosine B, **10**, C₃₀H₄₇O₆N, correspond au produit de déshydratation de **9**. On observe dans son spectre IR les mêmes bandes d'un acétamide secondaire que dans **9**, par contre la vibration OH est absente. Le spectre de RMN est caractérisé par les signaux rencontrés dans l'anhydro-holantogénine ainsi que par ceux d'un méthoxyle, d'un amide secondaire et d'un méthyle secondaire.

Les spectres de masse de la N-acétyl holantosine A et de la N-acétyl holantosine B sont identiques (M-18 pour A et M⁺ pour B à *m/e* 517). On remarque certains ions

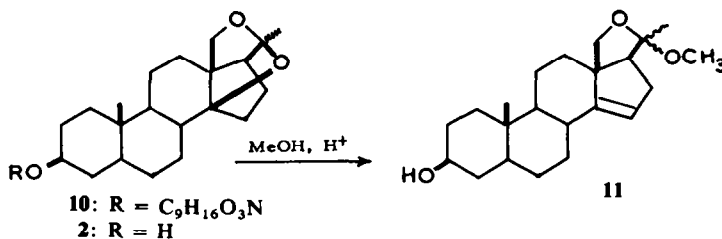
caractéristiques de la fraction stéroïdique de la molécule: M-60, m/e 96, ainsi qu'un ion à m/e 315 (M-18-202 pour A et M-202 pour B):



Cependant, ces ions restent de faible intensité, le pic de base attribuable à la partie non stéroïdique de la molécule se situant à m/e 115. Cet ion radicalaire est comparable à celui déjà signalé à propos de l'holacurtine et sa structure, $\text{AcHN}^+ = \text{CH}-\text{CH}^\bullet-\text{OCH}_3$ indique que les deux groupes acétamide et méthoxyle sont portés par des carbones vicinaux.²

La méthanolyse acide de la N-acétyl holantosine B, 10, a été réalisée dans le méthanol chlorhydrique 2N, à la température du laboratoire. Comme dans le cas de l'holacurtine,² cette réaction conduit à l'isolement de deux fractions: une fraction non azotée insoluble dans l'eau et une fraction azotée soluble dans l'eau.

La fraction non azotée est constituée par plusieurs produits dont l'un est identique à l'anhydro-holantogénine 2. Un autre produit a été isolé, 11, dont la structure est celle de l'éther méthylique du (5 α)-prégnène-14 diol-3 β , 18 one-sous la forme hémicétalique:



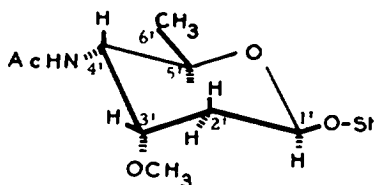
Traitée dans les mêmes conditions, l'anhydro-holantogénine, 2, donne le même éther méthylique, 11. D'autre part, le traitement des N-acétyl holantosines A et B, par l'anhydride acétique, en présence d'acide p-toluènesulfonique, conduit au dérivé 3 déjà obtenu à partir de l'anhydro holantogénine et dont la structure a été établie comme étant celle de la diacétoxy-3 β , 18 (5 α)-prégnène-14 one-20. Il est donc parfaitement établi que la moitié stéroïdique de l'holantosine A est constituée par l'holantogénine et celle de l'holantosine B par l'anhydro-holantogénine.

La fraction azotée soluble dans l'eau, résultant de la méthanolyse chlorhydrique de la N-acétyl holantosine B, 10, est constituée par un mélange de deux produits de formule brute $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_4\text{N}$, isomères, dont le spectre de masse est caractérisé par un pic $\text{M}^+ = 217$ et un pic de base à m/e 115 et dont le spectre de RMN présente les signaux d'un groupe acétamide secondaire, d'un méthyle secondaire et de deux méthoxyles.

A ce stade, il est possible d'avancer pour les holantosines A et B, des structures d' amino-glyco-stéroïdes comparables à celles de l'holacurtine² et de la mitiphylline.³ Le sucre aminé lié à l'holantogénine ou à l'anhydro-holantogénine doit être un tridésoxy-amino-O-méthyl-hexose, auquel correspondent les deux α et β méthylglycosides mis en évidence au cours de la méthanolyse des N-acétyl holantosines A et B, sous forme de dérivés N-acétylés de formule brute $C_{10}H_{19}O_4N$.

La structure de la fraction osidique des holantosines A et B a été établie d'une part par spectrométrie de RMN de la N-acétyl holantosine B et d'autre part par synthèse.

Le spectre de RMN de la N-acétyl holantosine B a été déterminé à l'aide d'un Varian 220 MHz, à Palo Alto, et permet d'attribuer la configuration relative de tous les éléments de l' amino-sucre (Fig. 1).



En dehors des signaux déjà bien visibles dans le spectre réalisé à 60 MHz, dans $CDCl_3:NHCOCH_3$, s à δ 2; OCH_3 , s à δ 3.40; méthyle secondaire, d à δ 1.19 ($J = 5$ Hz), le spectre à 220 MHz permet d'attribuer, d'après les déplacements chimiques et les constantes de couplage des protons du cycle pyranosidique, la situation et la configuration de tous les éléments portés par cet hétérocycle. Rappelons que, dans l'hypothèse d'un tridésoxy sucre, le méthyle secondaire ne peut être que le méthyle 6' et que les deux groupes NHAc et OCH_3 sont portés par deux carbones vicinaux (ion à m/e 115 dans le spectre de masse).

Dans le spectre de RMN, mesuré dans C_6D_6 , on observé à 5.04 (4.78 dans $CDCl_3$), un signal dont le déplacement chimique indique un système $O-CH-O$. Ce signal est un doublet dédoublé ($J = 10$ et $J' = 2.00$ Hz) identique à celui déjà observé dans le spectre de l'holacurtine,² qui, en raison de ses constantes de couplage ne peut être que celui d'un proton axial en 1', couplé avec un CH_2 en 2'.

Le signal à 3.14 (C_6D_6) correspond à un proton de type $O-CH-R$. Ce multiplet convient à un proton équatorial lié à un méthoxyle, couplé avec le CH_2 en 2' et avec un proton axial en 4' (couplages $ae + ae + ee + ae = 12$ Hz). Le méthoxyle est donc axial et en position 3'.

Un signal de type $N-CH-R$, situé à 4.08 dans C_6D_6 , est partiellement masqué par le signal de la partie A du système AB attribué au CH_2 18 du stéroïde. Il est parfaitement visible dans $CDCl_3$ à 3.84 sous la forme d'un doublet dédoublé une première fois ($J = 10$ et $J' = 3$ Hz) puis une seconde fois ($J'' = 10$ Hz). Il s'agit d'un proton lié au groupe acétamide, couplé avec le proton équatorial lié au méthoxyle ($J_{3',4'} = 3$ Hz) puis avec un autre proton qui ne peut être que celui en 5' lié au méthyle secondaire en 6' ($J_{4',5'} = 10$ Hz) et, enfin, avec le proton du groupe NHAc ($J_{4,NHAc} = 10$ Hz). Ce proton est donc axial et situé en position 4'. Il s'ensuit que le groupe acétamide en 4' est équatorial.

Le proton 5', lié au méthyle 6', est de type $O-CH-Me$. Dans C_6D_6 , on observe un

massif équivalent à deux protons qui doivent correspondre au proton 5' et à un autre qui appartient au stéroïde, le proton 3 α axial, lui aussi de type O—CH—C, d'après leurs déplacements chimiques (entre 3.68 et 3.88). Le proton 3 α du stéroïde, reconnaissable dans le spectre de RMN de la génine, est très étalé et il est facile de dégager du massif le quadruplet dédoublé correspondant au proton 5', centré à 3.75. Les constantes de couplage de ce signal ($J_{5',4'} = 10$ Hz) indiquent que le proton 5' est axial et que, par conséquent, le méthyle 6' ($J_{5',6'} = 6$ Hz) est équatorial.

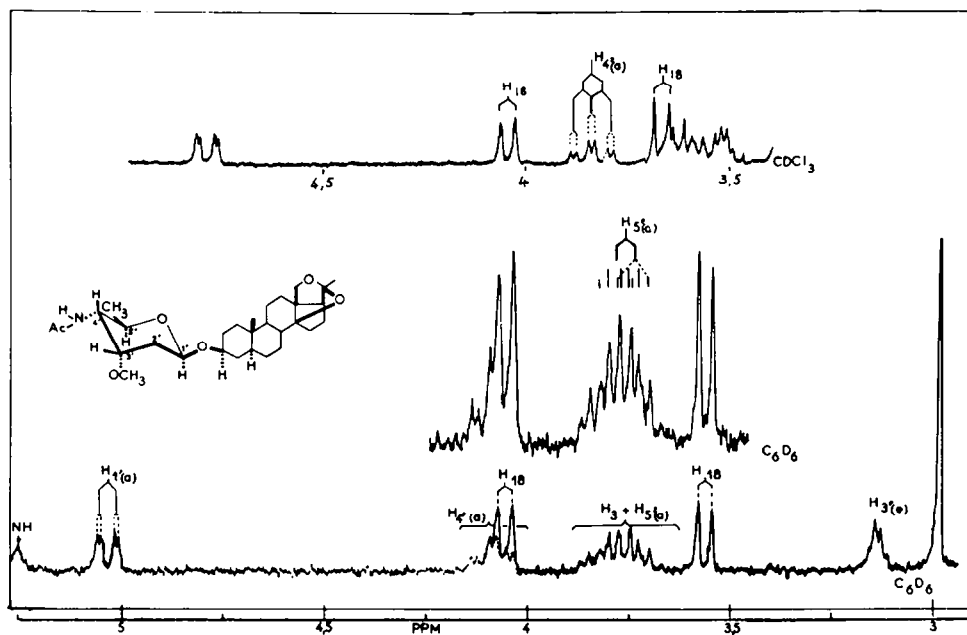


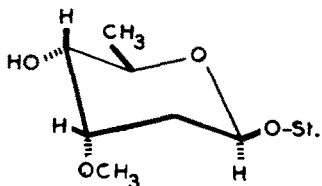
FIG. 1. SPECTRE DE RMN DE LA N-ACÉTYL-HOLANTOINE B À 220 MHz.

En admettant, ce qui paraît très raisonnable, que le cycle pyranosidique est bien sous une forme chaise stable, le spectre de RMN donne tous les éléments de la *configuration relative* du sucre aminé lié au stéroïde: liaison glycosidique en 1' équatoriale, méthoxyle en 3' axial, amine primaire en 4' (analysée sous forme d'acétamide) équatoriale et méthyle 6' équatorial. Cette configuration est celle d'un amino-4 O-méthyl-3 tridésoxy-2,4,6 ribo-hexose; elle est identique à celle proposée pour le N-méthyl-amino-sucre lié au stéroïde dans l'holacurtine² et dans la mitiphylline³ et correspond à un désoxy-4 amino-4 cymarose. Nous proposons pour ce sucre le nom d'holosamine, le dérivé N-méthyle devenant la N-méthyl holosamine.

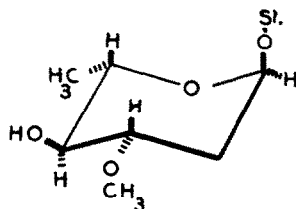
Dans le cas particulier des glycosides stéroïdiques (cardiotoniques), il est connu que les β -glycosides correspondent en général à un sucre appartenant à la série D et les α -glycosides à un sucre de la série L.¹⁰ D'autre part, Reichstein et Weiss¹¹ ont montré que, dans les β -D-glycosides, le stéroïde est équatorial en 1' par rapport à l'hexopyranose et que, par contre, il doit être axial dans les α -L-glycosides.

Il s'ensuit que la RMN permet de distinguer les α -L-glycosides des β -D-glycosides, le proton 1' ayant les caractéristiques d'un hydrogène équatorial dans le premier cas,

et axial dans le second. C'est ainsi que, dans la cymarine (β -D-hexopyranoside), le proton 1' est axial et a les mêmes caractéristiques que celles décrites à propos de l'holacurtine,² de la mitiphylline³ et des holantosines A et B. Par contre, dans l'oléandrine (α -L-glycoside), le proton 1' est de type équatorial et nous avons retrouvé ces mêmes caractéristiques dans un nouvel amino-glyco-stéroïde, dont l'étude est en cours, qui est un α -L-glycoside et qui sera décrit sous le nom d'holantosine C.



Cymarine (β -D-glycoside)
H 1' (Dd) 4.77 (CDCl₃)
($J = 9.5$; $J' = 2.00$ Hz)



Oléandrine (α -L-glycoside)
H 1' multiplet étroit centré à 4.95
(CDCl₃)

On peut donc en conclure que l'holacurtine,² la mitiphylline³ et les holantosines A et B sont des β -D-glycosides, le sucre aminé des deux premiers étant la *N*-méthyl *D*-holosamine et des deux autres, la *D*-holosamine.

L'holantosine A est l'(amino-4' O-méthyl-3' tridésoxy-2',4',6' β -D-ribo-hexopyranosyl)-3 β prégnane-5 α époxy-18, 20 diol-14 β , 20 ζ , la configuration en 20 restant à préciser.

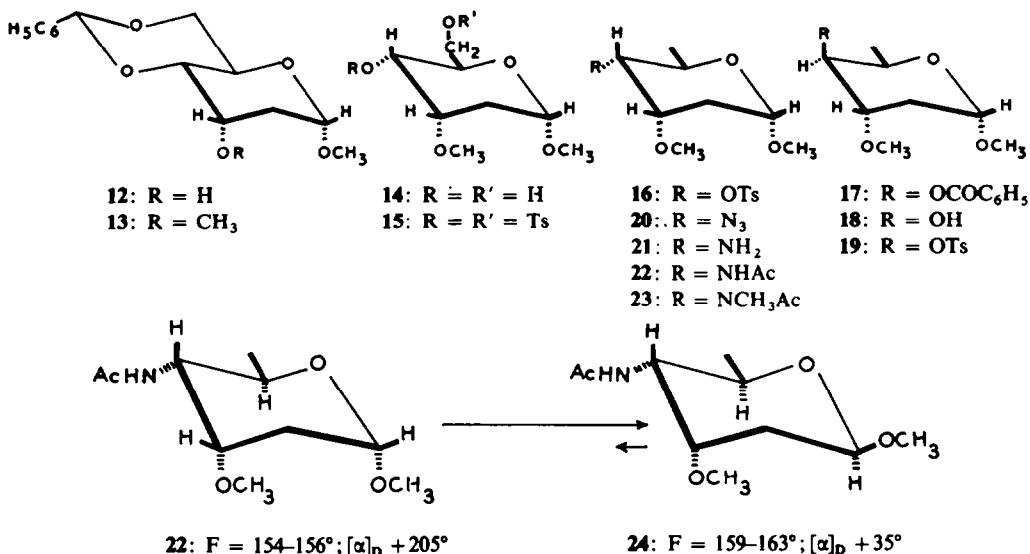
L'holantosine B est l'(amino-4' O-méthyl-3' tridésoxy-2',4',6' β -D-ribo-hexopyranosyl)-3 β (20S) diépoxy-18,20; 14 β , 20 prégnane-5 α , la configuration 20S étant imposée par la rigidité des deux cycles époxydes.

Synthèse de la *D*-holosamine et de la *N*-méthyl *D*-holosamine

La synthèse de l'acétamido-4 O-méthyl-3 tridésoxy-2,4,6 α -D-ribo-hexo-pyranoside de méthyle, **22**, a été décrite dans une courte Note.⁴ Le principe en est le suivant: le O-benzylidène-4,6 désoxy-2 α -D-ribo-hexopyranoside de méthyle, **12**, a été préparé à partir du *D*-glucose suivant une série de réactions connues.^{12,13} La méthylation par le sulfate diméthylque, dans le tétrahydrofurane, en présence de soude, donne le dérivé O-méthyl-3, **13**. Le groupe benzylidène protecteur est éliminé par hydrogénéolyse (C/Pd 5%), et le diol résultant **14** est converti en diester tosylique, **15**. La réduction de **15**, par l'aluminohydrure de lithium, dans le tétrahydrofurane, donne le O-méthyle-3 *O*-*p*-toluènesulfonate-4 didésoxy-2,6 α -D-ribo-hexopyranoside de méthyle, **16**, qui n'est autre que le méthyl α -glycoside de l'ester tosylique du *D*-cymarose.

Le remplacement du groupe ester tosylique en 4 par une fonction azotée ayant même configuration est effectué par une double inversion de configuration: le traitement de **16** par le benzoate de sodium, dans le diméthylformamide, donne l'ester benzoïque **17**, qui est débényloxy en l'alcool **18**. Ce dernier a été tosylé pour fournir l'O-méthyl-3 *O*-*p*-toluènesulfonate-4 didésoxy-2,6 α -D-xylo-hexopyranoside de méthyle, **19**, cristallisé. Une seconde inversion de configuration est réalisée, en traitant **19** par l'azoture de sodium dans le diméthylformamide à 140°, donnant le O-méthyl-3

azido-4 tridésoxy-2,4,6 α -D-ribo-hexopyranoside de méthyle, **20**. Celui-ci est réduit catalytiquement en l'amine **21** (Pt d'Adams), qui est acétylée en acétamido-4 O-méthyl-3 tridésoxy-2,4,6 α -D-ribo-hexopyranoside de méthyle, **22**.



Enfin, **22** a été méthyle (iodure de méthyle/hydrure de sodium/diméthyl-formamide) pour donner le méthylacétamido-4-O-méthyl-3 tridésoxy-2,4,6 α -D-ribo-hexopyranoside de méthyle, **23**. Il a été montré que l' α -glycoside **23** est l'un des composants du mélange des deux anomères obtenus par méthanolyse chlorhydrique de l'holacurtine et de la mitiphylline.²⁻⁴

L' α -glycoside, **23**, traité par le méthanol/acide chlorhydrique 2N, à la température ordinaire, conduit au mélange des deux anomères α et β , identique à celui obtenu par méthanolyse des deux alcaloïdes.

De même, le traitement de l'acétamido-4 O-méthyl-3 tridésoxy-2,4,6 α -D-ribo-hexopyranoside de méthyle, **22**, par le méthanol chlorhydrique, conduit à un mélange identique à celui de la fraction azotée obtenue par méthanolyse des N-acétyl holantosines A et B. Il a été possible d'isoler, à partir de ce mélange, le β -D-glycoside, **24**, (acétamido-4 O-méthyl-3 tridésoxy-2,4,6 β -D-ribo-hexopyranoside de méthyle), dont la différence de rotation moléculaire avec l' α -D-glycoside de synthèse **22** est tout-à-fait en accord avec les données de la littérature pour de tels anomères: $[M]_D \alpha\text{-D-glyc.} - [M]_D \beta\text{-D-glyc.} = 445^\circ - 76^\circ = +369^\circ$. La règle de Hudson indique environ $+350^\circ$ pour cette différence de rotation moléculaire.¹⁴

PARTIE EXPERIMENTALE

Les points de fusion pris en tubes capillaires ne sont pas corrigés. Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés sauf indication contraire, en solution chloroformique (chloroforme RP, contenant 0,5% d'éthanol) à une concentration voisine de 1% et une température de 20°, à l'aide du Quick-polarimètre électronique Jouan-Roussel. Les spectres IR ont été obtenus, sauf exception, dans le Nujol à l'aide du Perkin-Elmer 257. Les spectres de RMN ont été mesurés en solution dans CDCl₃ à l'aide du Varian A-60, les déplacements

chimiques δ étant exprimés en ppm (tétraméthyl silane, référence zéro) et les constantes de couplage en Hz. Les spectres de masse ont été mesurés à l'aide d'un MS 9, les intensités relatives des ions étant exprimés en % de Σ_{30} . Les chromatographies sont faites soit sur colonne d'alumine standard (Merck), activité II et III, soit sur plaques préparatives de gel de silice G, selon Stahl (Merck), soit sur Florisil 60–100 mesh. Les analyses ont été effectuées par le Service Central de Microanalyse du C.N.R.S.

Extraction des N-acétyl holantosines A et B

15 kg de feuilles d'*H. antidysenterica* sèches sont broyées et dégraissées par de l'éther de pétrole (3 jours, 30 l d'éther de pétrole). On alcalinise par une solution à 10% de CO_3Na_2 (400 ml par kg) et extrait par du chlorure de méthylène (Soxhlet, 40 l). L'extrait est concentré à 51, on ajoute 20 l d'éther et extrait par une solution d'acide sulfamique à 10%. La phase aqueuse est alcalinisée, extraite par du chlorure de méthylène qui est lavé, séché et évaporé à sec, en terminant sous vide. On obtient un résidu d'alcaloïdes totaux pesant 147 g.

Le spectre IR de ces alcaloïdes totaux indique l'absence d'amides ou d'esters pré-existants et leur spectre de RMN se caractérise par le singulet d'un méthoxyle à 3-40.

156 g de bases brutes sont traités par un mélange de 150 ml de pyridine et 150 ml d'anhydride acétique, sous agitation, pendant 24 h. à la température ambiante. L'excès de réactif est détruit par addition ménagée de glace. On dilue finalement avec 2 l d'eau et extrait par l'éther. L'éther est lavé avec de l'eau ammoniacale, puis avec de l'eau distillée jusqu'à neutralité. Après évaporation à sec, on obtient un résidu de 150 g de dérivés acétylés neutres.

La phase aqueuse acide, épuisée à l'éther, est alcalinisée par de l'ammoniaque puis extraite par de l'éther qui, après traitement habituel donne 10.6 g de produits basiques.

Les 150 g de dérivés acétylés neutres ont été chromatographiés sur 2.5 kg d'alumine (activité III). L'élution est faite par fractions de 500 ml. Les fractions 28–35 (benzène-éther) et 36–49 (éther pur) donnent 13.5 g de produit qui, par recristallisations dans l'acétone, donnent 10 g de N-acétyl holantosine B.

Les eaux-mères de cristallisation sont réunies aux fractions 52–65 plus polaires (éther-éthanol 98–2) et l'ensemble (40 g) est rechromatographié sur 1.35 kg d'alumine (activité II). On recueille par fractions de 1.4 l. Les fractions 7–10 (benzène-éther 9–1) donnent 1.4 g de N-acétyl holantosine B; les fractions 44–46 (éther-éthanol 9–1) renferment 5.48 g de N-acétyl holantosine A.

O-Acétyl anhydro-holantogénine, 1

45 g d'alcaloïdes bruts sont traités au bain-marie bouillant dans un mélange de 50 ml d'anhydride acétique et de 50 ml de pyridine. Après 1 h, on ajoute de la glace et extrait par de l'éther 54 g de produits neutres qui sont séchés sous vide pour éliminer la pyridine. Par chromatographie sur alumine, on élue dans les premières fractions (benzène, 3.2 l) un produit cristallisant dans l'hexane qui est l'O-acétyl anhydro holantogénine. Les autres fractions renferment les N-acétyl holantosines.

O-Acétyl anhydro holantogénine, 1, recristallisée dans l'hexane, F 152°; $[\alpha]_D -44^\circ$; $[M]_D -154^\circ$ (calc. pour $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_4$: C, 73.76; H, 9.15; O, 17.09; tr. C, 73.99; H, 9.06; O, 17.41%); IR: ester 1735, 1250 et 1025 cm^{-1} ; RMN: s, 0.82 (CH_3 19), s, 1.40 (CH_3 21), s, 2 (OAc en 3). AB, 3.66 et 4.05 ($J = 8$) (CH_2 18), m, 4.40–4.90 (H–3 α); SM: M^+ 374, pics à m/e 314 (M-60 2.3%), 254 (M-60-60, traces), 152 (3.5%), 109 (3.5%), 96 (pic de base, 14%).

Anhydro holantogénine, 2

155 mg de 1 sont traités à la température de laboratoire par 7 ml de potasse éthanolique N. Après 1 h. de contact, on dilue avec 50 ml d'eau et extrait par du chlorure de méthylène qui est lavé, séché et évaporé à sec sous vide, donnant un résidu pesant 122 mg. On cristallise dans l'acétone (48 mg), F 179°; $[\alpha]_D -38^\circ$, $[M]_D -126^\circ$ (calc. pour $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_3$: C, 75.86; H, 9.70; O, 14.44; tr. C, 75.71; H, 9.51; O, 14.58%); IR: $\nu(\text{OH})$, 3440 cm^{-1} ; RMN: s, 0.82 (CH_3 19), s, 1.40 (CH_3 21), AB 3.66 et 4.05 ($J = 8$) (CH_2 18), m, 3.35–3.80 (H en 3 axial); SM: M^+ 332, pics à m/e 304 (M-18, 1%), 272 (M-60, 5%), 152 (5%), 109 (4.5%), 96 (pic de base (22%)).

N-Acétyl holantosine A, 9

Obtenu à partir des fractions 44–46 de la seconde chromatographie (éther/éthanol 9/1); recristallisée dans l'acétone, F 260–261° (bloc Köfler), $[\alpha]_D -28^\circ$, $[M]_D -150^\circ$ (calc. pour $\text{C}_{30}\text{H}_{49}\text{O}_7\text{N}$, H_2O : C, 65.07; H, 9.28; N, 2.53; O, 23.12; tr. C, 65.33; H, 9.01; N, 2.41; O, 23.25%); IR: amide secondaire, 3320, 1650, 1540 cm^{-1} ; RMN: s, 0.74 (CH_3 -19), d, 1.19 ($J = 5$) (CH_3 -6'), s, 1.40 (CH_3 -21), s, 2.00 (N-Ac), s, 3.40

(OCH₃), AB, 3-53 et 4-16 ($J = 9$) (CH₂-18), *Dd*, 4-78 ($J = 10$; $J' = 2$) (H axiale en 1'), *m* entre 3-30 et 4-20 (protons 3, 3', 4' et 5'), *m*, 5-75 (NH amide); SM: M⁺ absent, pics à *m/e* 517 (M-18, 0-12%), 457 (M-18-60, traces), 359 (0-6%), 315 (1%), 115 (60%), 96 (1-8%).

N-Acétyle holantosine B, 10

Recristallisée dans l'acétone, F > 290° (bloc Köfler), $[\alpha]_D -29^\circ$, $[M]_D -149^\circ$ (calc. pour C₃₀H₄₇O₆N: C, 69-60; H, 9-15; N, 2-71; O, 18-54; tr: C, 69-53; H, 9-02; N, 2-59; O, 18-51%); IR: amide secondaire, 3360, 1680, 1560 cm⁻¹, empreintes digitales différents de 9; RMN (A-60): s, 0-82 (CH₃-19), s, 1-40 (CH₃-21), AB, 3-66 et 4-05 ($J = 8$) CH₂-18), s, 3-40 (OCH₃), s, 2-00 (NAc), *d*, 1-19 ($J = 5$) (CH₃-6'), *Dd*, 4-78 ($J = 10$, $J' = 2$) (H axial en 1'); (220Mc): C₆D₆, *m*, 3-14 (H en 3' équatorial), *Qd*, 3-75 ($J_{4-5} = 10$, $J_{3-CH_3} = 6$) (H en 5' axial), *m*, 3-65-3-88 (H en 3 axial), AB, 3-56 et 4-06 ($J = 8$) (CH₂-18), *Ddd'* 4-08 ($J = 3$, $J' = 10$, $J'' = 10$) (H en 4'), *Dd*, 5-04 ($J = 2-00$) (H en 1'); -CDCl₃, *Ddd'* 3-84 (H en 4'), *Dd*, 4-78 (H en 1'), AB, 3-67 et 4-04 (CH₂-18); SM: M⁺ 517, pics à *m/e* 457 (M-60, traces), 359 (1%), 315 (1%), 255 (1%), 115 (pic de base, 42%), 96 (4-2%).

40 mg de N-acétyle holantosine A ont été sublimés à 200° sous 0-02 mm/Hg. Le produit cristallisé obtenu est identique (F, IR, SM, RMN) à la N-acétyle holantosine B.

17 mg de N-acétyle holantosine B sont dissous dans 3 ml d'éthanol à 95°. On ajoute 1 ml d'eau. Cette solution donne en CCM (CH₂Cl₂/MeOH 9/1) une seule tache. On porte au bain-marie pendant 1 h. Une seconde tache, plus polaire, devient peu à peu visible en CCM et prédomine au bout d'une heure. On laisse cristalliser dans l'éthanol aqueux. Le produit est en tout point identique (CCM, IR, SM et RMN) à la N-acétyle holantosine A.

Holantogénine, 8

55 mg de 2 sont dissous dans 3 ml de dioxanne. On ajoute 1 ml d'eau distillée et chauffe à reflux pendant 2 h. On observe en CCM (CH₂Cl₂/MeOH 9/1) un équilibre dans les proportions environ 50/50 (RMN) entre 2 et 8. Le même résultat est obtenu dans l'éthanol aqueux. La proportion de 8 augmente lorsque l'on fait cristalliser le mélange dans le dioxanne aqueux (2 ml/1 ml). On obtient un premier jet de 8, pesant 30 mg, F 125° (bloc Köfler), $[\alpha]_D -31^\circ$ (Calc. pour C₂₁H₃₄O₄: C, 71-96; H, 9-78; O, 18-26; Tr: C, 72-02; H, 9-82; O, 18-16%); IR: ν(OH), 3450 et 3150 cm⁻¹; RMN: s, 0-74 (CH₃-19), s, 1-40 (CH₃-21), AB, 3-53 et 4-16 ($J = 9$) (CH₂-18), *m*, 3-30-3-80 (H-3α); SM: identique à celui de 2.

Méthanolyse chlorhydrique de la N-acétyle holantosine B, 10

500 mg de 10 sont agités, à la température du laboratoire, dans 10 ml de méthanol chlorhydrique N, pendant 18 h. La solution est concentrée à 5 ml sans dépasser 45°. On ajoute de l'eau puis on extrait par de l'éther 350 mg de produit non azoté, donnant plusieurs taches en CCM. La phase aqueuse contenant la fraction azotée est alcalinisée (ammoniaque) et concentrée à sec, le résidu étant repris à plusieurs reprises par du benzène qui est chassé sous vide. On extrait ce résidu, à plusieurs reprises, par du benzène qui est filtré et évaporé à sec donnant un résidu constituant la fraction azotée, pesant 163 mg.

Ether méthylique du (5α)-prégnène-14 diol-3β, 18 one-20 (18 → 20 cyclohemiacétal), 11

300 mg de la fraction non azotée, extrait à l'éther, sont dissous dans 10 ml de méthanol. On ajoute 5 gouttes d'HCl et laisse cristalliser à 0°. On obtient 15 mg de 11, F 140°; IR: ν(OH), 3300 cm⁻¹, C=C, 1650 cm⁻¹; RMN: s, 0-77 (CH₃ 19), s, 1-33 (CH₃ 21), s, 3-18 (OCH₃), AB, 3-50 et 3-77 ($J = 7$) (CH₂-18), H en 15, *m* centré à 5-05; SM: M⁺ 346 (C₂₂H₃₄O₃ = 346-49) (5%), pics à *m/e* 316 (M-30, 11%), 301 (M-30-15, 4-5%), 272 (M-30-15-29, 5%).

Anhydro-holantogénine, 2

Les eaux-mères de cristallisation de 11 ont été réunies et les produits séparés en CCM préparative sur gel de silice G. Le système de solvant est un mélange de chlorure de méthylène et de méthanol (95/5). On isole 75 mg de produit pur identique à l'anhydro-holantogénine, 2.

100 mg d'anhydro holantogénine sont dissous dans 2 ml de méthanol chlorhydrique N. On laisse pendant un jour à la température du laboratoire. L'analyse en CCM montre le formation lente du dérivé 11. On laisse au repos 48 h. à 0° et isole 22 mg de produit identique à l'éther méthylique, 11.

Acétamido-4-O-méthyl-3 tridésoxy-2,4,6 β-D-ribo-hexopyranoside de méthyle, 24

La fraction azotée, soluble dans l'eau, obtenue ci-dessus (163 mg), montre en CCM deux taches principales dont l'une correspond au produit de synthèse 22 (voir plus loin). Le second produit, polaire, a été séparé en CCM préparative (gel de silice G, CH₂Cl₂/méthanol 95/5). On obtient 29 mg de 24 qui est

crystallisé dans l'hexane/acétone, F 159–163°, $[\alpha]_D + 35^\circ$, $[M]_D + 76^\circ$; RMN: *d*, 1.22 ($J = 6$) (CH₃ 6), *s*, 2.34 (Nac), *s*, 3.40 (OCH₃ en 3), *s*, 3.48 (OCH₃ en 1), *m*, 3.30–4.10 (3H en 3, 4 et 5), *Dd*, 4.56 ($J = 10$, $J' = 2$) (H axial en 1), *m*, 5.70–6.02 (NHAc); SM: $M^+ 217$ (C₁₀H₁₉O₄N = 217.26), pics à *m/e* 186 (M-31, 0.5%), 159 (M-58, 1%), 126 (2%), 115 (pic de base 27%), 73 (23%), 43 (13%).

Diacétoxy-3β, 18 (5α)-prégnène-14 one-20, 3

(a) *A partir de l'anhydro holantogénine*, 2. 100 mg d'anhydro-holantogénine, 2, sont traités par 10 ml d'anhydride acétique auquel on ajoute 20 mg d'acide *p*-toluènesulfonique. La solution est laissée sous agitation pendant 24 h, à la température du laboratoire. Le mélange réactionnel est dilué avec de l'eau et extrait par de l'éther. Celui-ci est lavé par de l'eau ammoniacale, puis de l'eau, séché et évaporé à sec sous vide, laissant un résidu pesant 120 mg sous forme d'un vernis légèrement jaune. On purifie par filtration sur Florisil en solution étherée, et obtient 100 mg de laque incolore, homogène en CCM, mais non cristallisable dans les solvants habituels: $[\alpha]_D + 19^\circ$; IR: $\nu(\text{C=O})$, 1710 cm⁻¹, $\nu(\text{C=C})$, 1650 cm⁻¹, -OAc à 1745, 1735, 1250 et 1030 cm⁻¹; RMN: *s*, 0.82 (CH₃-19), *s*, 1.97 (OAc en 18), *s*, 2.00 (OAc en 3), *s*, 2.20 (COCH₃), *d*, 4.00 ($J = 3$) (CH₂OAc en 18), *m*, 5.27 (H-15); SM: $M^+ 416$ (C₂₅H₃₆O₅ = 416.54), pics à *m/e* 356 (M-60, 13.5%), 313 (M-60-43, 1.7%), 253 (M-60-43-60, 1.5%), pics métastables $m^* 304.6$ (416 → 356), 275.5 (356 → 313), 204.5 (313 → 253), pics à *m/e* 343 (M-73, 2.5%), 283 (M-73-60, 2%), $m^* 233.5$ (343 → 283), pics à *m/e* 43 (pic de base 15%).

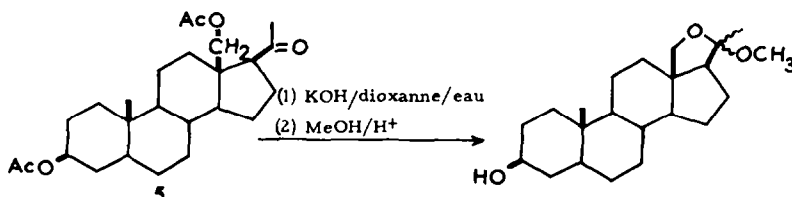
(b) *A partir des N-acétyl holanrosines A et B*. Le même mode opératoire a été utilisé pour 9 et 10. 72 mg de 9 sont traités par 7 ml d'anhydride acétique, en présence de 18 mg d'acide *p*-toluènesulfonique. Après 24 h, dilution avec de l'eau, on isole une fraction soluble dans l'éther qui, après purification, donne 3. La phase aqueuse contient les deux anomères de l'amino-sucré acétylé et sera étudiée ultérieurement.

Diacétoxy-3β, 18 prégnane-5α ol-20, 4

62 mg de 3, en solution dans 8 ml d'acétone, sont hydrogénés en présence de 30 mg de catalyseur au platine d'Adams. On filtre, dilue et extrait par de chlorure de méthylène 58 mg de 4, dont l'analyse en CCM montre qu'il s'agit du mélange des deux alcools en 20.

Diacétoxy-3β, 18 prégnane-5α one-20, 5

218 mg de 4 sont dissous dans 12 ml d'acétone et l'on ajoute goutte à goutte à la solution refroidie à 0°, 0.3 ml de réactif de Jones. Après 5 mn., l'excès de réactif est détruit par addition de quelques gouttes d'éthanol et le produit est extrait par de l'éther. Après filtration sur Florisil, on obtient une laque incolore homogène en CCM; IR: ester à 1735, 1250 et 1025 cm⁻¹, $\nu(\text{C=O})$ à 1710 cm⁻¹; RMN: *s*, 0.85 (CH₃-19), *s*, 2.22 (CH₃-21), *s*, 1.98 (OAc en 18), *s*, 2.05 (OAc en 3), AB, 3.82 et 4.18 ($J = 12$) (CH₂-18). Ce produit n'ayant pas cristallisé, sa structure est démontrée par la préparation du méthoxy-20ξ epoxy-18, 20 prégnane-5α ol-3β.



139 mg de 5 sont dissous dans 5 ml de dioxane; on ajoute 2 ml d'eau et 5 ml de solution 4 N de potasse et porte à reflux au bain-marie pendant 4 h. L'extraction par de l'éther donne 125 mg de produit qui est dissous dans 3 ml de méthanol. On ajoute 2 gouttes d'HCl 4N et laisse cristalliser. On essore 76 mg d'éther méthylique qui est recristallisé dans l'hexane, F 170–172°, $[\alpha]_D + 58^\circ$ (Labler et Sorm indiquent pour le même produit, préparé à partir de l'holarrhimine⁽¹⁵⁾, F 175°; $[\alpha]_D + 75^\circ$). La différence observée entre les deux pouvoirs rotatoires est peut-être due au fait que, dans ce travail, la mesure a été faite dans du chloroforme contenant 0.5% d'éthanol, alors que les auteurs tchèques opèrent dans le chloroforme pur; RMN: *s*, 0.75 (CH₃-19), *s*, 1.33 (CH₃-21), *s*, 3.18 (OCH₃), AB, 3.43 et 3.70 ($J = 9$) (CH₂-18); SM: $M^+ 348$ (C₂₂H₃₆O₃ = 348.51), pics à *m/e* 316 (M-32, pic de base, 7%), 274 (M-32-42, 4%), 259 (M-32-42-15 (2%), 241 (M-32-42-15-18, 1%), 43 (6%), $m^* 237.6$ (316 → 274), 244.8 (274 → 259), 224.2 (259 → 241).

Désoxy-2 méthoxy-3 O-benzylidène-4,6 α -D-ribo-hexopyranoside de méthyle, 13

4 g de désoxy-2 O-benzylidène-4,6 α -D-ribo-hexopyranoside de méthyle, sont dissous dans 45 ml de tétrahydrofurane contenant 8.1 g de soude pulvérisée et additionné de 3.42 ml de sulfate de méthyle. On laisse sous agitation à 50° pendant 20 h. La solution réactionnelle est alors extraite au chloroforme et la phase organique rincée à l'eau jusqu'à neutralité. La solution chloroformique séchée sur sulfate de sodium est concentrée à sec. Le résidu cristallise dans un mélange de chloroforme et d'éther de pétrole. (Rt. 3.75 g, 90%); F99°; $[\alpha]_D + 124^\circ$.

Désoxy-2 méthoxy-3 α -D-ribo-hexopyranoside de méthyle, 14

190 mg de 13 sont hydrogénés dans 10 ml de méthanol en présence de 100 mg de Pd/C à 5%. Après 2h. la solution est filtrée sur papier et le filtrat concentré à sec est homogène en CCM: $[\alpha]_D + 186^\circ$.

Désoxy-2 méthoxy-3 di-O-p-toluenesulfonyl-4,6 α -D-ribo-hexopyranoside, 15

130 mg de 14 dans 1 ml de pyridine anhydre sont additionnés de 520 mg de chlorure de tosylé et le tout est laissé 20 h. à température ordinaire. La solution réactionnelle est traitée par du bicarbonate de sodium aqueux et extraite au chloroforme. La phase organique est lavée à l'eau jusqu'à neutralité, séchée, filtrée et évaporée après addition de toluène pour enlever les dernières traces de pyridine. Le résidu cristallise dans un mélange d'acétate d'éthyle/éther de pétrole. (Rt. 313 mg; 90%), F 89–91°; $[\alpha]_D + 103^\circ$ (Calc. pour C₂₂H₂₈O₉S₂: C, 52.80; H, 5.10; S, 12.80; Tr: C, 52.74; H, 5.84; S, 12.82%).

Didésoxy-2, 6 méthyl-3 O-p-toluenesulfonyl-4 α -D-ribo-hexopyranoside de méthyle, 16

14 g de 15, dissous dans 220 ml de tétrahydrofurane anhydre, sont additionnés lentement à 0° et sous agitation de 5g d'alumino-hydrure de lithium. On porte à reflux 1 h. et laisse refroidir la solution réactionnelle pendant 3 h. L'excès d'hydrure est détruit avec précaution par de l'éther humide et de l'eau et le tout est filtré et concentré à sec; la CCM montre deux taches principales: R_f 0.8 et 0.35 (AcOEt: éther de pétrole 8:2). Le résidu est repris dans la pyridine (30 ml) et tosylé à l'aide de 8 g de chlorure de tosylé. Après 20 h. à température ordinaire, le produit réactionnel est traité comme pour 15. Le sirop résultant cristallise dans un mélange d'acétate d'éthyle/éther de pétrole. (Rt. 5.74 g, 62%); F 83–84°; $[\alpha]_D + 154^\circ$; (Calc. pour C₁₅H₂₂O₆S: C, 54.54; H, 6.71; S, 9.9.69; Tr: C, 54.61; H, 6.90; S, 9.96%).

Didésoxy-2, 6 méthoxy-3 O-p-toluenesulfonyl-4 α -D-xylo-hexopyranoside, 20

1 g de 16 dans 30 ml de diméthylformamide contenant 1.75 g de benzoate de sodium est chauffé 5 h. à 140°. On traite comme pour 15. Le sirop résultant présente en CCM deux taches principales dont l'une est le produit de départ 16 (R_f 0.8), la seconde (R_f 0.85) (AcOEt: éther de pétrole 8:2) étant le didésoxy-2, 6 méthoxy-3 O-benzoyl-4 α -D-xylo-hexopyranoside, 18. Ce dernier a été purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (AcOEt: Ether de pétrole 9:1). Ce produit n'a pu être cristallisé et a été dissous dans le méthanol anhydre, (10 ml), en présence de 10 mg de sodium. Après une nuit à température ordinaire, la solution a été neutralisée par de l'Amberlite IRC 50 (H⁺), filtrée, concentrée et finalement séchée sous vide poussée. Le sirop résultant est dissous dans 3 ml de pyridine anhydre et additionné de 350 mg de chlorure de tosylé. Après une nuit à température ordinaire, le produit réactionnel est traité comme précédemment et cristallisé dans un mélange d'éther/éther de pétrole (Rt. 310 mg, 31% à partir de 16), F 89–90°; $[\alpha]_D + 78^\circ$ (Calc. pour C₁₅H₂₂O₆S: C, 54.54; H, 6.71; S, 8.69; Tr: C, 54.78; H, 6.74; S, 9.58%).

Tridésoxy-2,4,6 méthoxy-3 acétamido-4 α -D-ribo-hexopyranoside de méthyle, 22

150 mg du composé 20 dans 3 ml de diméthylformamide sont additionnés de 120 mg d'azote de sodium. Le tout est porté à 140° pendant 1 h. 50, sous agitation et sous courant d'azote. La solution réactionnelle refroidie est versée dans 20 ml de chloroforme et la phase organique est lavée à l'eau et séchée sur sulfate de sodium, filtrée et finalement évaporée sous vide réduit vers 30°. 10 ml de méthanol sont ajoutés au volume de diméthylformamide déjà présent et le tout est hydrogéné 2 h. en présence de platine d'Adams préparé à partir de 50 mg d'oxyde.

La solution incolore est filtrée (elle présente une réaction positive à la ninhydrine) et concentrée jusqu'à un volume de 5 ml. On ajoute 1 ml d'anhydride acétique et 2 gouttes de pyridine et le tout est laissé 18 h. à 4°. L'excès de réactif est détruit par le bicarbonate aqueux; le tout est extrait dans le chloroforme et la phase organique est lavée à l'eau, séchée sur sulfate de sodium, filtrée et concentrée en présence de benzène sous vide réduit, puis sous vide poussé. Le résidu cristallise à partir d'éther chaud. (Rt. 31 mg; 32% à partir de 20). F 155–156°; $[\alpha]_D + 205^\circ$; $[M]_D + 445^\circ$ (Calc. pour C₁₀H₁₉NO₄: C, 55.28; H, 8.82; N, 6.45; Tr: C, 55.16, H, 8.60; N, 6.57 %).

Tridésoxy-2,4,6 méthoxy-3-méthylacétamido-4 α-D-ribo-hexopyranoside de méthyle, 23

20 mg de composé **22** sont ajoutés à un mélange de 4 ml de diméthylformamide, 200 mg d'hydrure de sodium et 1 ml d'iodure de méthyle. Le tout est agité 4 h. à température ordinaire. Le mélange réactionnel est alors versé avec précaution dans un mélange d'eau glacée et de chloroforme et la phase organique est lavée à l'eau glacée, séchée sur sulfate de sodium, filtrée et concentrée sous vide réduit puis sous bon vide. Le résidu cristallise *in situ*. L'échantillon analytique est obtenu par cristallisation dans l'éther chaud: F 80–82°; $[\alpha]_D^{25} + 273^\circ$ (Calc. pour $C_{11}H_{21}NO_4$: C, 57.12; H, 9.15; N, 6.06; Tr: C, 57.27; H, 9.21; N, 6.31%).

Rééquilibrage de 22 et 24

On dissout, séparément, 1 mg de **22** et de **24** dans 0.2 ml de méthanol contenant 6.2% d'acide chlorhydrique (solution d'HCl à 36%) et laisse 18 h. à température ambiante. Après neutralisation par l'Amberlite IR-45 (OH⁻), les deux échantillons sont disposés sur couche mince en utilisant les systèmes de solvants: *a*: AcOEt:hexane 9:1 et *b*: éther:MeOH 98:2. Les R_f observés pour ces deux échantillons sont parfaitement identiques et ce également en CCM bidimensionnelle (solvants *a* et *b*).

Nous remercions le Professeur E. Lederer pour l'intérêt qu'il a porté à ces recherches; le Docteur L. F. Johnson, des Laboratoires Varian à Palo-Alto, qui a réalisé les spectres de RMN à 220 MHz, le Docteur W. Vetter pour les mesures en spectrométrie de masse à haute résolution et Monsieur P. Beziau, Directeur de la Franco-Indian Company à Bombay, qui nous a fourni les feuilles d'*H. antidysenterica* utilisées dans ce travail.

REFERENCES

- ¹ Alcaloïdes stéroïdiques XCIX—D. Herlem et F. Khuong-Huu, *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris*, **269C**, 1405 (1969).
- ² M. -M. Janot, P. Devissaguet, Q. Khuong-Huu, J. Parello, N. G. Bisset et R. Goutarel, *Ibid.* **266C**, 388 (1968).
- ³ M. -M. Janot, M. Leboeuf, A. Cave, R. Wijesekera et R. Goutarel, *Ibid.* **267C**, 1050 (1968).
- ⁴ J. Hildesheim, S. D. Gero, Q. Khuong-Huu et C. Monneret, *Tetrahedron Letters* 2849 (1969).
- ⁵ M. -M. Janot, P. Longevialle et R. Goutarel, *Bull. Soc. chim. Fr.*, 2158 (1964).
- ⁶ P. Longevialle, *Thèse de Doctorat ès Sciences*, Paris (1965).
- ⁷ M. -M. Janot, P. Longevialle et R. Goutarel, *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1212 (1966).
- ⁸ U. Eppenberger, W. Vetter et T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* **49**, 1505 (1966).
- ⁹ Y. Shimizu, Y. Sato et H. Mitsuhashi, *Chem. Pharm. Bull.* **15**, 2005 (1967).
- ¹⁰ W. Klyne, *Biochem. J.* **47**, XLi (1950).
- ¹¹ T. Reichstein et E. Weiss, *Adv. Carbohydrate Chem.* **17**, 65 (1962).
- ¹² A. Rosenthal et P. Catsoulacos, *Canad. J. Chem.* **46**, 2868 (1968).
- ¹³ A. C. Richardson, *Carbohydrate Res.* **4**, 422 (1967).
- ¹⁴ C. S. Hudson, *Nat. Bur. Standards Bull.* **21**, 241 (1926).
- ¹⁵ L. Lábler et F. Šorm, *Coll. Czech. Chem. Comm.* **24**, 2975 (1959).