

ALCALOIDES STEROIDIQUES—CXVII⁹

DEUTERIATION SELECTIVE EN 17 ET EN 21 DU (5 α) CONENE - 20(N). PREPARATION DE LA CONANINE 17 α d ET DE LA CONANINE 21 d₃

G. LUKACS, A. PICOT, L. CLOAREC, A. KORNPBST, L. ALAIS et X. LUSINCHI
Institut de Chimie des Substances Naturelles du C.N.R.S. (91)—Gif s/Yvette

(Received in France 10 March 1971; Received in the UK for publication 16 March 1971)

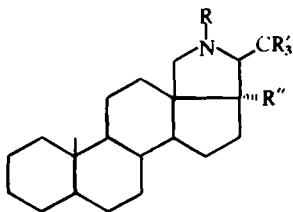
Résumé—L'orientation d'un équilibre imine-énamine en fonction de la règle de Bredt permet d'introduire sélectivement du deutérium soit sur l'un soit sur l'autre des carbones portant les hydrogènes mobiles.

Abstract—The orientation of the imine-enamine equilibrium depending upon the Bredt rule allows the selective incorporation of deuterium on the carbons bearing mobile hydrogens.

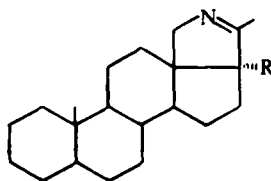
LES études que nous poursuivons sur les dérivés de l'hétérocycle pyrrolidinique de la conanine, **1**, nous ont amenés à remplacer sur les carbones voisins de l'azote certains atomes d'hydrogènes par du deutérium. C'est ainsi que ce dernier a pu être introduit sur les carbones en α de l'azote (en 18 α et 20 α) par réduction, avec des réactifs deutériés, de nitrones,¹ d' α -hydroxy-nitrones¹ et d'imines α -méthoxylées.² La présente note décrit un procédé d'introduction du deutérium en β de l'azote sur les carbones en 21 et en 17, permettant en particulier la préparation de la conanine-21 d₃, **3**, et de la conanine-17 α d, **4**.

Ce procédé utilise la mobilité des hydrogènes en 21 de l'imine 20(N), **5**, préparée à partir de la conessine par Cerny et Sorm.³

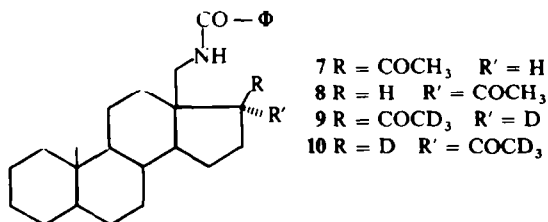
Pfau et Ribiere ont montré⁴ que, dans le deutériométhanol, les hydrogènes des méthyles portés par la double liaison de l'isopropylidène isopropylamine sont très rapidement remplacés par du deutérium et ceci intégralement (disparition des signaux correspondant à ces méthyles dans le spectre de RMN).



- 1** R = Me R' = R'' = H
2 R = R'' = H R' = D
3 R = Me R' = D R'' = H
4 R = Me R' = H R'' = D



- 5** R = H
6 R = D



Nous avons nous-mêmes constaté que les hydrogènes en 21 de l'imine **5**, sont échangés plus ou moins rapidement par du deutérium, soit au contact du deutério-méthanol, soit par agitation d'une solution de l'imine dans le deutériochloroforme ou le deutériobenzène avec de l'eau lourde. Dans le spectre de RMN,⁵ le triplet (δ 1.96, $J = 1.5$) correspondant au méthyle 21 a disparu. Le signal du méthyle 21 apparaissant à la limite de "l'enveloppe des méthylènes", il n'est pas possible de vérifier par RMN si la deutériation est complète. Le spectre de masse du produit récupéré montre une incorporation très incomplète (3d = 40%; 2d = 38%; 1d = 16%; 0d = 6%). En fait, la mobilité remarquable, même en milieu neutre, des protons en position allylique en β d'une fonction imine⁴ rend illusoire l'isolement et la conservation de l'imine **5** trideutérée en 21.

En conséquence, les conditions d'une deutération optimum ont été recherchées en effectuant celle-ci en milieu alcalin (action au reflux d'un mélange méthylate de sodium, méthanol deutérié additionné d'une trace d'eau lourde) et une perte ultérieure de deutérium a été évitée en réduisant *in situ* la fonction imine par le borohydrure de sodium.

L'amine secondaire obtenue, **2**, est méthylée à l'azote par la méthode d'Eschweiler-Clarke. Le produit isolé correspond à la conanine 21 d₃, **3** (3d = 80%; 2d = 20%), dont le spectre de RMN ne présente plus le doublet dû au méthyle 21.

La présence dans le spectre de masse de la conanine⁶ d'un pic M-1 important ne permet pas d'effectuer des mesures significatives sur le pic moléculaire.* Pour la conanine-21 d₃, le pic M-15 ne peut être utilisé puisqu'il correspond à la perte du radical méthyle et donc à la perte de la partie deutériée. Le calcul d'incorporation a donc été effectué sur les pics de fragmentation *m/e* 74 et *m/e* 73 qui contiennent le deutérium† (Fig 1).⁶

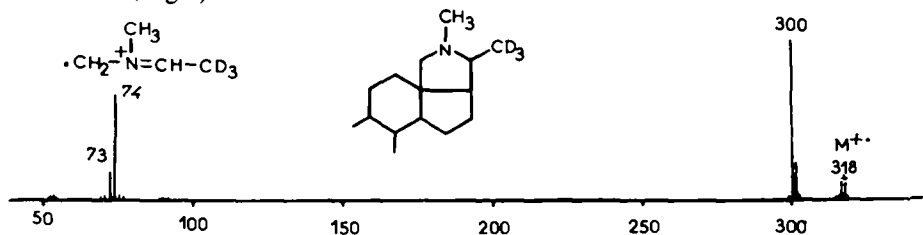


FIG 1

* Note en bas de la page 588 de la réf².

† Bien qu'étant dans la partie basse du spectre, ces pics peuvent être mesurés d'une façon significative, les pics provenant d'autres fragmentations pouvant être négligés.

Le présence d'un pic à m/e 300 provient de la perte du radical méthyle tridéutérié et didéutérié. Le pic isotopique mesuré (11.6 mm) correspond au pic isotopique calculé (12 mm). On peut donc en déduire que tout le deutérium incorporé se trouve effectivement sur le méthyle 21.

Pfau et Ribiere interprètent la deutérioration de l'isopropylidène isopropylamine par un équilibre imine-énamine rapide (Schéma 1).



SCHÉMA 1

Un tel équilibre pour l'imine **5** ne peut faire intervenir que les hydrogènes du méthyle 21, le carbone 17 ne pouvant participer à une forme énamine incompatible avec la règle de Bredt (Schéma 2). Une incorporation de deutérium en 17 est donc exclue.

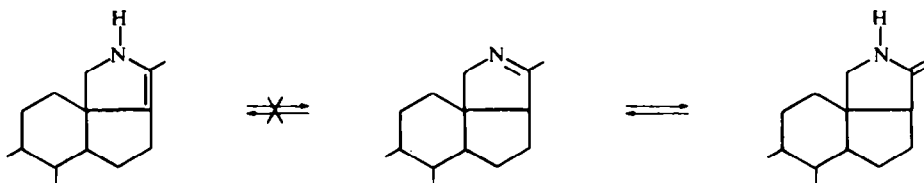


SCHÉMA 2

L'introduction d'un deutérium en 17 α a été effectuée en utilisant des réactions d'ouverture et de fermeture du cycle pyrrolidinique de **5**, décrites par Kasal *et al.*⁷ Ces auteurs ont établi que l'ouverture pouvait être effectuée par action de chlorure de benzoyle en milieu alcalin et que l'imine pouvait être reformé en milieu acide (schéma 3).

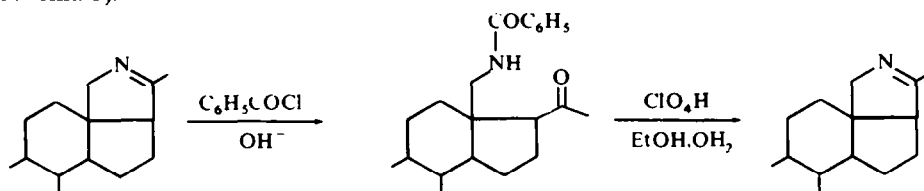


SCHÉMA 3

Les hydrogènes en α du carbonyle du dérivé ouvert peuvent être deutériés en milieu alcalin.⁶ Si la cyclisation est ensuite effectuée par un acide deutérié dans un solvant deutérié elle doit conduire à une pyrroline 17 α d, 21 d₁, dont le deutérium en 21 est échangeable avec de l'hydrogène, le deutérium en 17 étant conservé (Schéma 2). Si, par ailleurs, la cyclisation en milieu acide est plus rapide que l'énolisation vers le carbone 17, la cyclisation du dérivé deutérié doit conduire directement à une pyrroline 17 α deutériée et cela même en milieu protique. C'est cette dernière possibilité que nous avons tout d'abord expérimentée.

La deutériation en milieu alcalin des carbones en α du carbonyle d'un céto-20 prégane se traduisant par une épimérisation de la chaîne en 17,⁸ nous avons étudié au préalable le comportement en milieu alcalin de la benzoylamino-cétone, **7**, obtenue selon Kasal *et al.*,⁷ par action du chlorure de benzoyle en milieu alcalin sur l'imine **5**. Après 28 h. de reflux dans un milieu résultant de l'action du sodium sur du méthanol additionné ensuite d'eau, le dérivé **7** s'épimérise partiellement en **17**, conduisant à un mélange de **7** (~25%) et de l'épimère 17 β H, **8** (~75%), qui peuvent être séparés par chromatographie sur couche épaisse (CCE). Les spectres de RMN des deux composés se différencient de façon significative. Pour le dérivé **8**, dont la chaîne latérale est en α , les deux protons en 18 sont magnétiquement équivalents (ils se présentent sous forme d'un doublet, $J = 7$ Hz, dû au couplage avec l'hydrogène vicinal sur l'azote). Par contre, les protons méthyléniques du dérivé **7** sont inéquivalents (ils forment un système AB, $J = 14$ Hz, et chacun des protons est par ailleurs couplé avec l'hydrogène relié à l'azote, avec une constante différente, $J \sim 4$ Hz, et $J \sim 8$ Hz). Cette différence entre les deux épimères semble caractéristique de l'existence pour le dérivé **7** d'une conformation préférentielle autour du carbone 18, résultant d'un encombrement provenant de la chaîne latérale en 17 β .

Dans des conditions deutériantes, la benzoylamino-cétone, **7**, conduit au mélange des épimères tétradeutériés **9** et **10**, qui sont séparés par CCE. Le dérivé **9** (17 α d) présente l'incorporation en deutérium suivante: 5d = 11%; 4d = 42.5%; 3d = 19%; 2d = 15%; 1d = 11.5%; 0d = 2%.

Cyclisé en milieu acide dans les conditions de Sorm⁷ (ClO₄H à 70% dans EtOH), ce dérivé conduit à une pyrroline 17 α deutériée, **6**, dont le spectre de RMN ne présente plus le signal correspondant au proton en 17 α à $\delta = 2.5$ (Fig 2) et dont l'incorporation en deutérium est de 80%. Ce produit, réduit au borohydrure de sodium et méthylé à l'azote selon Eschweiler-Clarke, conduit à la conanine 17 α d, **4**. Le spectre de masse de ce dérivé confirme l'incorporation (1d ~ 80%), la présence d'un seul pic de fragmentation à m/e 71⁶ confirme que tout le deutérium en 21 a été éliminé. Le signal du proton en 20 sur le spectre de RMN correspond à un quadruplet ($J = 6$ Hz).

Ce résultat permet de conclure: (1) que la vitesse de cyclisation du dérivé **7** est plus rapide que la vitesse d'échange en milieu acide du proton en 17; (2) que l'incorporation en deutérium sur le carbone 17 était au moins de 80%; (3) que le deutérium introduit en 21 est perdu vraisemblablement à partir de la forme cyclisée iminique dont les hydrogènes sont particulièrement mobiles.⁴

Cette incorporation très bonne mais cependant incomplète de deutérium provient soit d'une incorporation incomplète au moment de la deutériation, soit d'une perte partielle de deutérium au cours de l'isolement par CCE du composé **9** ou d'une perte de deutérium au cours de la cyclisation en milieu acide.

L'expérience vérifie que l'épimère **8**, dont la chaîne latérale en 17 α doit s'équilibrer en milieu acide conduit effectivement, dans ces conditions, comme l'épimère **7**, à la pyrroline **5** (schéma 4).

On peut donc envisager de préparer la pyrroline 17 α deutériée, **6**, à partir du mélange des épimères deutériés **9** et **10**. La cyclisation doit alors être effectuée en milieu deutériant. En milieu protique, le deutérium serait perdu en 17 lors de l'énolisation conduisant à l'épimérisation. Traité par un mélange de méthanol O-deutérié et d'acide sulfurique dideutérié, le mélange des deux benzoylamino-

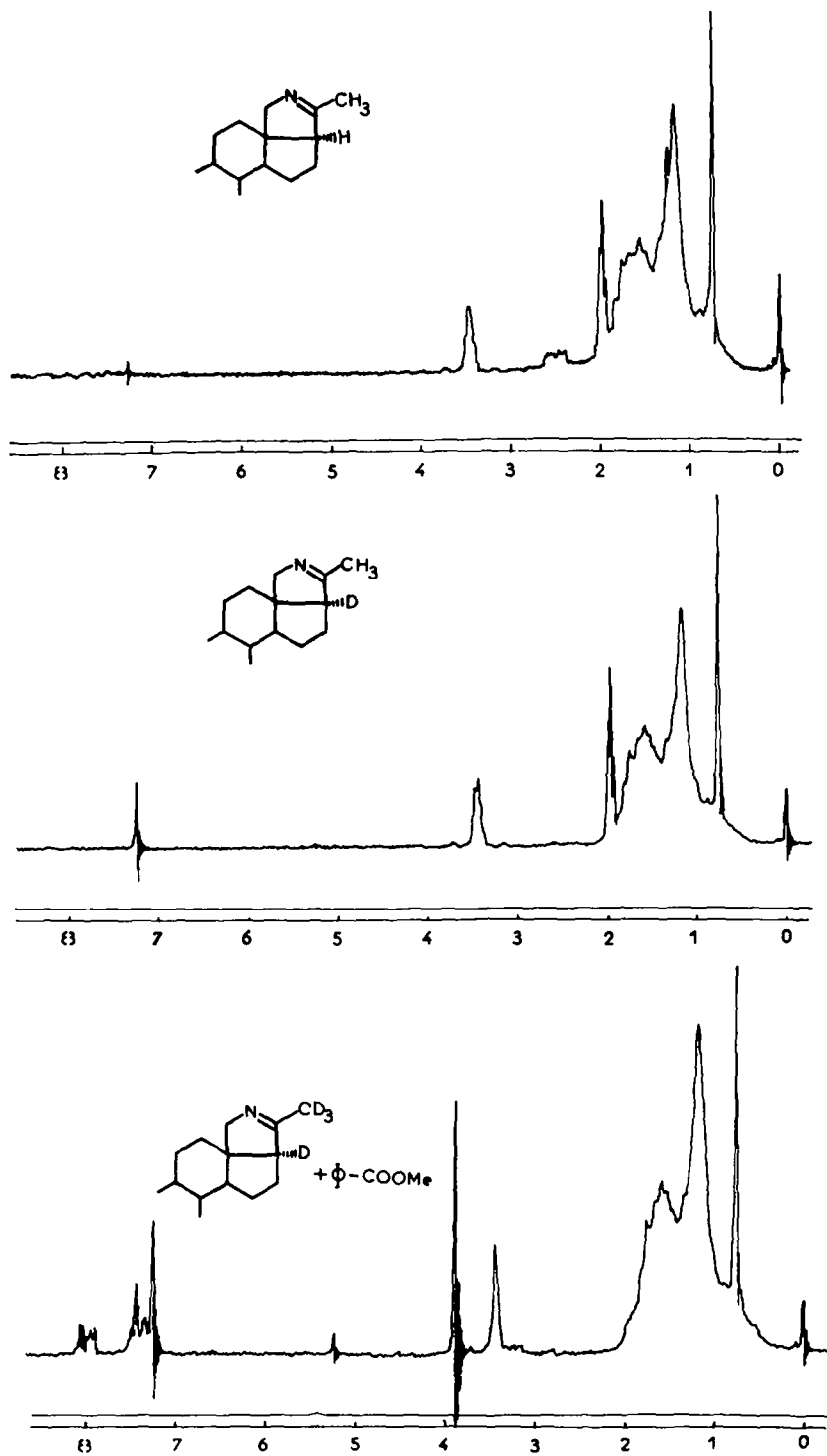


FIG 2

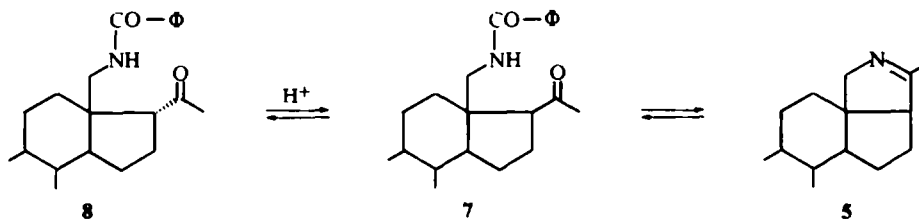


SCHÉMA 4

cétones épimères tétradeutériées, 9 et 10, conduit à une pyrroline brute dont le spectre de RMN montre qu'elle est tétradeutériée (en 17 et 21) (Fig 2). On constate, en effet, sur ce spectre l'absence des signaux correspondant aux protons en 17 ($\delta = 2.5$) et en 21 ($\delta = 1.96$) ainsi que la suppression pour le méthylène 18 des couplages homo-allyliques; le signal correspondant à ces protons apparaît en conséquence comme un système AB proche d'un A_2 .*

Les protons aromatiques et le signal OMe observés dans le spectre du produit brut correspondent vraisemblablement à la présence de benzoate de méthyle résultant de l'action du méthanol sur un intermédiaire immonium (schéma 5).

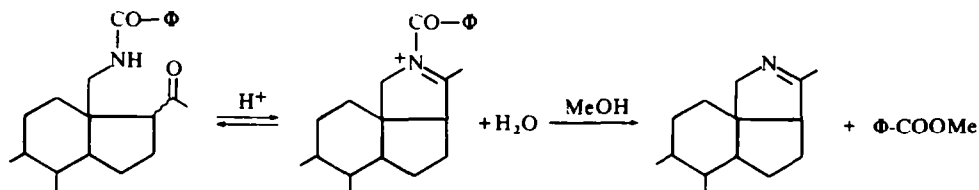


SCHÉMA 5

La purification du produit brut par CCE conduit à la pyrroline 17 α d deutériée, 6. Cette dernière est donc avantageusement préparée par ce procédé à partir du mélange de benzylamino-cétone deutériée dont la majeure partie est constituée par l'épimère 17 β d qui ne peut être utilisé pour la cyclisation en milieu protique.

PARTIE EXPERIMENTALE

Les points de fusion sont pris en tubes capillaires et corrigés. Les pouvoirs rotatoires sont déterminés dans le chloroforme (R. P. contenant 0.5% d'éthanol) avec le polarimètre électronique Jouan-Roussel. Les spectres de RMN sont effectués en solution dans le deutériochloroforme sur un spectromètre Varian T 60. Les déplacements chimiques sont mesurés en δ par rapport au TMS ($\delta = 0$) et les constantes de couplage en Hz. Les spectres de masse ont été déterminés sur un spectrographe MS 9. Les chromatographies sur couche mince (CCM) sont faites sur les plaques neutres préparées à partir du Silicagel G (Merck) et révélées au réactif de Dragendorff et à l'acide sulfurique à 60%. Les chromatographies préparatives sur couche épaisse sont effectuées sur des plaques (30 \times 25) préparées avec 30g de Silicagel G, 70ml d'eau et activation pendant 90 mn à 105°. Les microanalyses ont été faites dans le laboratoire de Microanalyse du C.N.R.S. à Gif s/Yvette.

* Ce dérivé brut perd progressivement le deutérium incorporé en 21.

Deutériation du (5 α) conène-20(N), 5, en milieu neutre

Une solution de **5** dans le deutériochloroforme est agitée avec de l'eau lourde. On observe sur le spectre de RMN (Fig. 2) une disparition progressive du triplet correspondant au méthyle 21, qui ne plus être localisé après 48 h. Le produit récupéré est analysé par spectrométrie de masse (3d 40%, 2d 38%, 1d 16%, 0d 6%).

Conanine-21 d₃, **3**. A la solution obtenue par réaction de 450 mg de Na avec 15 ml de CH₃OD, on ajoute 0.8 ml de D₂O, puis 300 mg d'imine **5**. Après 6 h. de reflux, le milieu est refroidi et additionné progressivement de 600 mg de BH₄Na. Après 24h. d'agitation, le milieu est dilué avec de l'eau glacée et extrait au CH₂Cl₂. Le produit brut d'extraction est dissous dans 20 ml d'acide formique et 20 ml de formol à 30%. Après 4 h. de reflux, le milieu est versé dans une solution aqueuse de soude (20%) et extrait au CH₂Cl₂. Le produit d'extraction (280 mg) est filtré sur une colonne d'alumine (Merck activité II-III) fournissant 190 mg de **3**.

RMN: spectre comparé à celui de la conanine¹: 1.02, absence du signal correspondant au méthyle 21; 2.38, d, *J* = 4 (signaux élargis, couplage HD); autres signaux identiques.

Masse: voir Fig 1; incorporation: 3d 80%, 2d 20%.

Benzoylamino-18 (5 α) prégnanone-20, 7

Une solution de l'imine **5** (300 mg) dans 8 ml de chlorure de méthylène est agitée en présence de 80 ml d'une solution aqueuse de soude à 5% et additionnée progressivement de 4.6 ml de chlorure de benzoyle. Après 30 minutes d'agitation, la phase organique est décantée et la phase aqueuse extraite au chlorure de méthylène. Les solutions chlorométhyléniques réunies sont additionnées de 3 ml de pyridine et après 10 minutes lavées avec une solution aqueuse de ClH dilué à l'eau, puis avec une solution aqueuse de CO₃Na₂ (10%). Après séchage et distillation du solvant, il reste un résidu huileux (900 mg), homogène en CCM qui est purifié par CCE (silice G; élution: CH₂Cl₂/AcOEt 40/1; extraction CH₂Cl₂/MeOH, 100/3) fournissant 398 mg de **7**. Un échantillon pour analyse est obtenu par cristallisation dans l'acétone, *F* = 156–157°; $[\alpha]_D^{23} + 83^\circ$ (CHCl₃, *c* = 1). (Analyse: pour C₂₈H₃₉NO₂ = 421.628 (*M*⁺ = 421); Calc. C, 79.76; H, 9.32; N, 3.32. Tr. C, 79.72; H, 9.26; N, 3.42%); RMN: 0.9 s (CH₃-19); 2.21 s (CH₃-21); 2.46 t, *J* = 9 (H-17 α): 2.95, doublet doublé (*J* = 14 et *J* = 4) et 3.96 doublet doublé (*J* = 14 et *J* = 8) (CH₂-18: couplage gem et couplage avec NH); 7.40 et 7.83 m (H aromatiques).

Benzoylamino-18 acétyl-17 α (5 α) androstane, 8

Une solution préparée par action de 600 mg de Na sur 20 ml de MeOH est additionnée de 10 gouttes d'eau, puis de 275 mg de **7**. Après 28 h. de reflux, le milieu dilué à l'eau et extrait par CH₂Cl₂ fournit 270 mg d'un mélange contenant 2 produits principaux et une trace d'un produit de même R_f en CCM que l'imine **5**. Les deux produits principaux sont séparés par CCE (élution: CH₂Cl₂/AcOEt 40/1; extraction: CH₂Cl₂/MeOH 100/1). Sont ainsi obtenus 55 mg de **7** et 180 mg de **8**. Des cristallisations répétées dans l'acétone fournissent un produit de R_f constant, *F* = 115–117°, mais une analyse centésimale correcte de ce produit n'a pu être obtenue. Masse: pour C₂₈H₃₉O₂N = 421.628; trouvé *M*⁺ = 421; RMN: 0.78 s (CH₃-19); 2.08 s (CH₃-21); 3.15 t (*J* = 5) (H-17 β); 3.45 d (*J* = 7) (CH₂-18); 6.5 t (*J* = 7) (NH); 7.4 et 7.83, m (protons aromatiques).

Benzoylamino-18 (5 α) prégnanone-20, 21 d₃, 17 α d, **9**; *Benzoylamino-18 acétyl-17 α (5 α) androstane-21 d₃, 17 β d*, **10**. Ces produits sont obtenus selon le mode opératoire décrit pour la préparation de **8**, MeOH et H₂O étant remplacés par MeOD et D₂O.

9 RMN: comparé au spectre de **7**; absence des signaux correspondants au CH₃-21 et à et à l'H 17 α . Masse: *M*⁺ 425; incorporation: 5d 11%; 4d 42.5%; 3d 19%; 2d 15%; 1d 11.5%; 0d 2%.

10 RMN: comparé au spectre de **8**: absence des signaux correspondant au méthyle 21 et à l'H 17 β . Masse: *M*⁺ 425.

N-Déméthyl (5 α) conène-20(N) 17 α d, 6

Une suspension de 500 mg de **9** dans un mélange de 10 ml d'EtOH (95%) et 10 ml de ClO₄H (solution aqueuse à 60%) est laissée à la température ambiante. Après 3 jours, on obtient une solution qui est diluée à l'eau, alcalinisée à l'ammoniaque et extraite au CH₂Cl₂. Le produit brut est purifié par CCE (élution: CH₂Cl₂/MeOH 100/4; extraction: CH₂Cl₂/MeOH 100/5). On obtient 300 mg de **6**. Masse: *M*⁺ = 300; incorporation: 1d 80%; RMN: voir Fig 2.

Conanine-17ad, 4

4 est obtenu à partir de 6 selon le mode opératoire décrit pour la préparation de 3. 300 mg de 6 fournissent 230 mg de 4. Masse: M^+ 316; m/e 71; incorporation (1d 80%); RMN: comparé au spectre de la conanine, le signal correspondant à H 20 se présente sous la forme d'un quadruplet ($J = 6$ Hz) avec un quadruplet doublé dans la spectre de référence.

N-diméthyl (5 α) conène-20(N) 17ad, 6, à partir du mélange de 9 et 10

1.9 g du mélange brut de 9 et 10 est dissous dans 40 ml de CH_3OD contenant 2 ml de SO_4D_2 . Après 8 jours, le milieu dilué à l'eau, alcalinisé par NH_4OH et extrait au CH_2Cl_2 , fournit un produit brut contenant du benzoate de méthyle et qui conduit, après CCE, quantitativement au dérivé 6 identique au produit préparé à partir de 9. RMN: voir Fig 2.

Remerciements—Nous remercions le Professeur M.-M. Janot et le Docteur R. Goutarel pour tout l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ a J. P. Jeannot, X. Lusinchi, P. Milliet et J. Parello, *Tetrahedron* **27**, 401 (1971)
- b J. P. Jeannot, Thèse de Doctorat de 3ème Cycle, Orsay (1969)
- ² a G. Lukacs, P. Longevialle, X. Lusinchi, *Tetrahedron* **26**, 583 (1970);
- b G. Lukacs, P. Longevialle et X. Lusinchi, *Ibid.* **27**, 1891 (1971)
- ³ V. Cerny et F. Sorm, *Coll. Czech. Chem. Comm.* **24**, 4015 (1959)
- ⁴ M. Pfau et C. Ribiere, *Chem. Comm.* **66** (1970)
- ⁵ G. Lukacs, X. Lusinchi, P. Milliet, J. Parello et G. Roblot, Travaux en cours
- ⁶ H. Budzikiewicz, C. Djerassi et D. H. Williams, *Structure elucidation of natural products by mass spectrometry* vol. II, p. 7. Holden-Day, San Francisco (1964)
- ⁷ A. Kasal, V. Cerny et F. Sorm, *Coll. Czech. Chem. Comm.* **25**, 2849 (1960)
- ⁸ L. Tokes, R. T. Lalonde et C. Djerassi, *J. Org. Chem.* **32**, 1020 (1967).
- ⁹ Alcaloïdes stéroïdiques CXVI, Q. Khuong-Huu et A. Pancrazi, *Tetrahedron Letters* **37** (1971)