

## STRUCTURES DES VIRESCENOSIDES F ET G, NOUVEAUX METABOLITES DE *OOSPORA VIRESCENS* (LINK) WALLR.\*

P. CECCHERELLI et N. CAGNOLI-BELLAVITA  
 Istituto di Chimica Organica, Facolta Farmacia dell'Università, Perugia

J. POLONSKY et Z. BASKEVITCH  
 Institut de Chimie des Substances Naturelles, C.N.R.S., 91 – Gif sur Yvette, France

(Received in France 11 July 1972; Received in the UK for publication 29 September 1972)

**Résumé**—L'étude chimique des métabolites d'*Oospora virescens* (Link) Wallr. a permis d'isoler plusieurs glycosides, appelés virescenosides. Il a été montré<sup>1,2</sup> que les virescenosides A, 1a, B, 1b et C, 1c sont des  $\beta$ -D-altropyranosides des virescenols A, 2a, B, 2b et C, 2c. Nous décrivons dans ce mémoire l'isolement de deux autres métabolites, les virescenosides F (3a), C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>O<sub>9</sub> et G (3b), C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>O<sub>8</sub>. Ce sont les premiers glycosides naturels de l'acide altruronique. Les virescenosides F et G se lactonisent facilement. Deux types de lactones ont pu être isolés pour lesquelles, d'une part, les structures 5a et 5b et d'autre part, les structures 7a et 7c sont proposées.

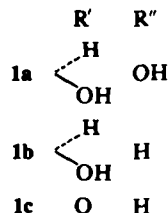
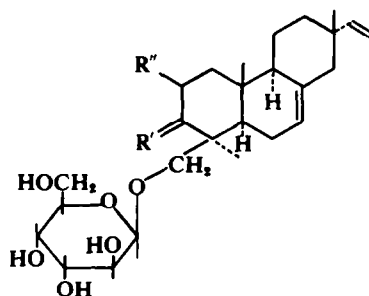
**Abstract**—Several glycosides (virescenosides) have been isolated from *Oospora virescens* (Link) Wallr. Virescenosides A, 1a, B, 1b and C, 1c, are  $\beta$ -D-altropyranosides of virescenol A, 2a, B, 2b and C, 2c. Here we describe the isolation of two metabolites, virescenosides F (3a), C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>O<sub>9</sub>, and G (3b), C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>O<sub>8</sub>. They are the first natural glycosides of altruronic acid. Virescenosides F and G readily undergo lactonisation. Two types of lactones have been isolated for which structures 5a, 5b and 7a, 7c are proposed.

Nous avons étudié précédemment les structures de virescenoside A, 1a,<sup>1</sup> de virescenoside B, 1b<sup>1</sup> et de virescenoside C, 1c,<sup>2</sup> trois des métabolites d'*Oospora virescens* (Link) Wallr. Il a été montré qu'ils étaient des  $\beta$ -D-altropyranosides de virescenol A, 2a, de virescenol B, 2b et de virescenol C, 2c; les structures de ces aglycones diterpéniques avaient été déterminées antérieurement.<sup>3,4</sup>

L'étude de deux autres métabolites, appelés virescenosides F et G et pour lesquels nous proposons les structures 3a et 3b, fait l'objet du présent mémoire.

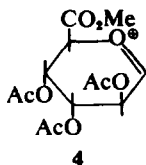
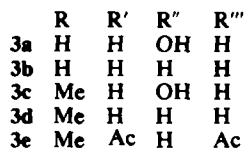
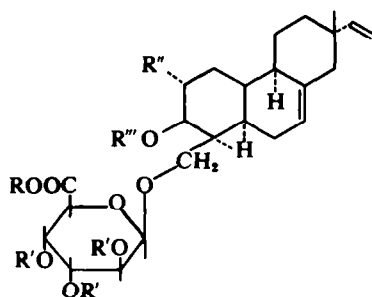
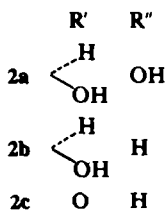
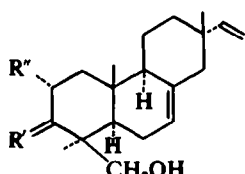
Les virescenosides F et G sont des acides et se trouvent sous forme de sel dans le milieu de culture. On les isole par addition d'acides minéraux à la solution aqueuse de ces sels, suivie de chromatographie du précipité ainsi formé. On obtient ainsi les virescenosides F et G, les métabolites les plus polaires d'*Oospora virescens*.

Les virescenosides F, 3a et G, 3b diffèrent entre eux par la nature de l'aglycone; l'hydrolyse acide de l'un conduit, en effet, au virescenol A, 2a, alors que celle de l'autre fournit le virescenol B, 2b. Sous l'action de CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> les virescenosides F et G donnent les esters correspondants 3c, et 3d. L'acétyla-



tion de ce dernier fournit le tétraacétate 3e dont le spectre de masse révèle un pic à *m/e* 602 correspondant à la perte d'une molécule de AcOH à partir du pic moléculaire et un pic à *m/e* 317 attribuable à l'ion oxonium 4, formé par la fragmentation classique des glycosides.<sup>5</sup> La réduction des esters méthyliques 3c et 3d par LAH conduit aux virescenosides A, 1a et B, 1b, respectivement, qui sont caractérisés sous forme de leur hexa- et penta-

\* Une partie des résultats décrits dans ce mémoire a fait l'objet d'une communication préliminaire au 7ème Symposium International de la Chimie des Substances Naturelles, Riga, (1970) Abstract Book, p. 399.



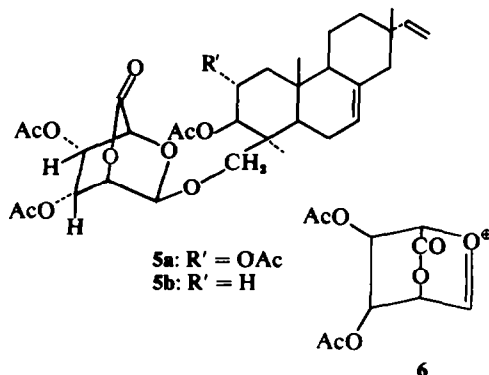
acétates respectifs.<sup>1</sup> Les structures des virescenosides F et G se trouvent ainsi établies; ils semblent être les premiers glycosides naturels de l'acide altreronique.

Les virescenosides F et G se lactonisent très facilement. Nous avons pu isoler des lactones de deux types différents:

(a) L'acétylation ( $\text{Ac}_2\text{O}$ /pyridine, température ambiante) des virescenosides F et G conduit, à côté d'une faible quantité des glycosides acétylés, aux lactones tétraacétylée 5a, et triacétylée 5b, respectivement. L'attribution de leurs structures ressort des faits suivants:

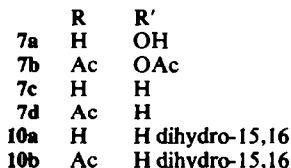
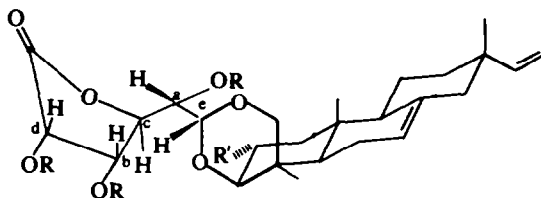
Leurs spectres IR ( $\text{CHCl}_3$ ) montrent des bandes ( $\text{C}=\text{O}$ ) à  $1755\text{ cm}^{-1}$  (acétate) et à  $1793\text{ cm}^{-1}$  (lactone), ce qui est en bon accord avec la fréquence d'absorption du carbonyle des  $\delta$ -lactones ayant la configuration "bateau".<sup>6</sup> Leurs spectres de masse,

qui montrent respectivement, des pics à  $m/e$  586 ( $\text{M}^+-60$ ) et à  $m/e$  588 ( $\text{M}^+$ ) révèlent le pic de base à  $m/e$  243 correspondant à l'oxonium 6. La réduction des lactones 5a et 5b par LAH suivie d'acétylation fournit, respectivement, le hexaacétate de virescenoside A<sup>1</sup> et le pentaacétate de virescenoside B<sup>1</sup>.



(b) L'action des acides minéraux sur les virescenosides F et G dans des conditions plus douces que celles nécessaires pour leur hydrolyse conduit à des lactones différentes de celles formées au cours de l'acétylation. Nous leur attribuons les structures 7a et 7c, respectivement, sur la base des résultats suivants:

Ces lactones fournissent par acétylation le tétraacétate 7b, et le triacétate 7d, dont les spectres



de RMN sont différents de ceux des acétyllactones 5a et 5b. Les spectres IR (KBr) des lactones 7a et 7c montrent une bande ( $\text{C}=\text{O}$ ) à  $1810\text{ cm}^{-1}$  ( $\gamma$ -lactone) et les spectres ( $\text{CHCl}_3$ ) des lactones acétylées, 7b et 7d montrent des bandes à  $1810\text{ cm}^{-1}$  (lactone) et à  $1760\text{ cm}^{-1}$  (acétate). La réduction des composés 7b et 7d par LAH suivie d'acétylation fournissent des glycosides acétylés, isomères des virescenosides A et B acétylés. Par contre, l'hydrolyse acide de ces isomères ou celle des lactones 7b et 7d, préalablement réduites par LAH, fournit (comme c'est le cas pour les virescenosides A et B) les virescenosides A, 2a et B, 2b, respectivement, et le même mélange d'altrose et altrósane.<sup>1</sup>

Tableau 1. Déplacements chimiques des protons des composés 10a et 10b exprimés en ppm

Composés	Protons						
	a	b	c	d	e	H <sub>3</sub>	—CH <sub>2</sub> O—
10a	3.68 (q) <i>J</i> <sub>a,b</sub> 6 Hz <i>J</i> <sub>a,c</sub> 1.5 Hz	4.36 (q) <i>J</i> <sub>b,d</sub> 5.5 Hz	4.56 (q)	4.62 (d)	4.79 (d)	3.54 (m)	3.56 (d) 4.24 (d) <i>J</i> 12 Hz
10b	5.44 (q)	5.22 (d)	4.88 (q)	5.03 (d)	5.64 (d)	3.56 (m)	3.52 (d) 4.24 (d)

Les données de la spectrométrie de masse apportent des arguments importants en faveur des structures de ces lactones. En effet, les spectres de masse des lactones 7a et 7c et de leurs dérivés acétylés correspondants 7b et 7d montrent, en plus des pics moléculaires, des pics très intenses\* à *m/e* 331 et *m/e* 315, respectivement, que l'on peut attribuer aux ions 8a et 8b. On trouve aussi des pics importants† à *m/e* 285 pour les composés 7a et 7b et à *m/e* 269 pour 7c et 7d que l'on peut assigner aux ions 9a et 9b, respectivement. La présence de pics métastables à *m/e* 245 (*m*\* calc. 245, 37) dans le spectre de la lactone 7a et à *m/e* 230 (*m*\* calc. 229, 71) dans le spectre de la lactone 7c ou 7d confirme la formation des ions 9a et 9b à partir des ions 8a et 8b. Le pic à *m/e* 243, correspondant à l'ion 6 est absent dans les spectres des composés 7b et 7d.

Nous avons étudié plus particulièrement la lactone 7c formée à partir du virescenoside G. L'étude des spectres de RMN à 100 MHz de plusieurs de ces dérivés a permis de confirmer sa structure. Afin de faciliter l'interprétation de ces spectres nous avons d'abord réduit le groupement vinylidène par hydrogénation catalytique. Le dérivé dihydrogéné ainsi obtenu 10a donne par acétylation le triacétate 10b.

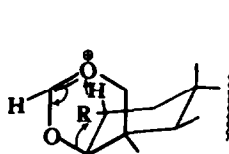
Les déplacements chimiques des huit protons situés sur des carbones portant des fonctions oxygénées du dérivé dihydrogéné 10a et de son triacétate 10b sont consignés dans le tableau; les protons de la partie osidique sont désignés par les lettres a-e. Des expériences de découplage des spins ont permis d'assigner les cinq signaux de résonance dûs aux protons de la partie osidique et de déterminer leurs constantes de couplage. Il en ressort que la séquence des protons est la suivante: e, a, c, b, d. Dans le spectre de RMN du dérivé acétylé 10b on observe un déplacement de ces cinq pics de résonance vers des champs faibles alors que les déplacements chimiques des protons CH<sub>2</sub>(C<sub>10</sub>) et du proton H<sub>3</sub> restent pratiquement inchangés. Ceci suggère que le proton H<sub>3</sub> est engagé dans une fonction non acétylable et que les trois hydroxyles acétylables font partie de la partie osidique.

Le composé dihydrogéné 10a donne sous l'action d'acétone et de SO<sub>4</sub>Cu le dérivé isopropylidène 11a dont le spectre de masse montre le pic de base à *m/e* 317 et un pic très intense à *m/e* 271 dûs aux ions 8c et 9c.

Son spectre IR montre une bande à 1800 cm<sup>-1</sup> (lactone). L'examen de son spectre de RMN n'apporte pas d'informations supplémentaires, les signaux des protons b, c, d, e, étant partiellement superposés; le quadruplet dû au proton a reste centré à 3.66 ppm. Sous l'action d'Ac<sub>2</sub>O/pyridine le

\*Pic de base pour les composés 7c et 7d.

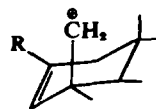
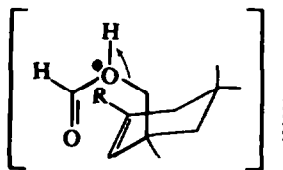
†Pic de base pour le composé 7a.



8a: R = OH; *m/e* 331

8b: R = H; *m/e* 315

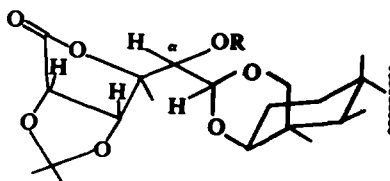
8c: R = H; dihydro-15,16; *m/e* 317



9a: R = OH; *m/e* 285

9b: R = H; *m/e* 269

9c: R = H; dihydro-15,16 *m/e* 271

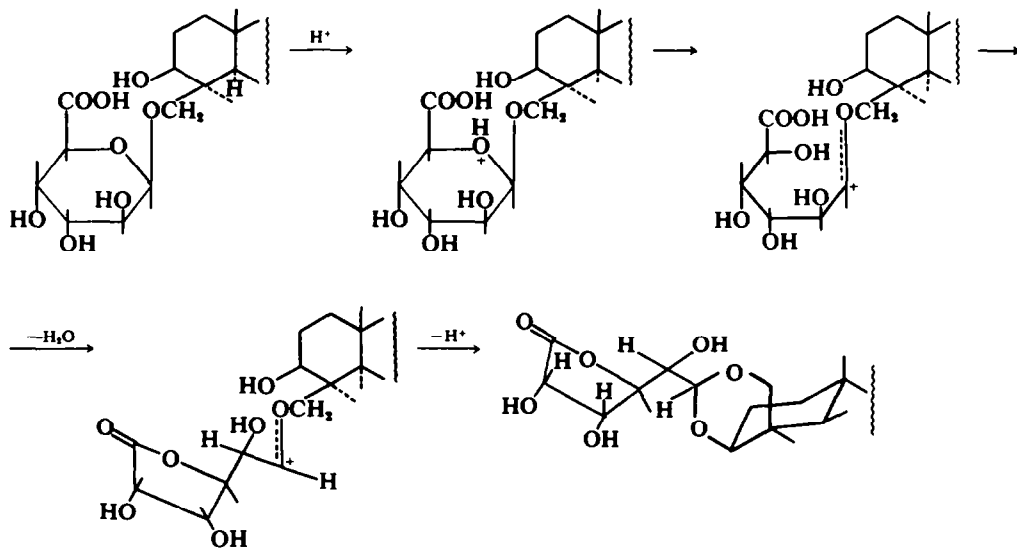


11a: R = H; dihydro-15,16

11b: R = Ac; dihydro-15,16

dérivé 11a donne le monoacétate 11b [IR:  $\nu(\text{CO})$  1800  $\text{cm}^{-1}$  (lactone) et 1760  $\text{cm}^{-1}$  (acétate)]. Son spectre de RMN montre que seul le quadruplet dû au proton *a* s'est déplacé vers des champs faibles. On peut en déduire que le proton *e* est le proton anomérique de la lactone 7a.

L'ensemble des résultats prouve les structures 7a et 7c pour les lactones, obtenues par action des acides, dans des conditions contrôlées, sur les virescensides F et G. Ces lactones se formeraient selon le schéma suivant:



#### PARTIE EXPERIMENTALE

Les points de fusion, pris avec l'appareil de Kofler, ne sont pas corrigés. Les spectres IR ont été mesurés avec un spectrophotomètre Perkin-Elmer 257. Les spectres de RMN sont enregistrés sur un appareil Varian A-60 et sur un appareil Varian HA-100: les déplacements chimiques  $\delta$ , sont exprimés en ppm par rapport à la raie du TMS; les abréviations utilisées sont: s: singulet; s.e.: singulet élargi; d: doublet; t: triplet; m: multiplet; J: constante de couplage en Hz. Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés sur un polarimètre Roussel-Jouan. Les spectres de masse ont été mesurés sur un spectromètre de masse MS-9 (A.E.I.). Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur Kieselgel GF<sub>254</sub> de Merck et les révélations par fluorescence à la lumière ultraviolette, par les vapeurs d'iode ou par pulvérisation de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  à 50% suivie de chauffage.

**Isolément des virescensides F et G.** Une solution de 1 g des sels des virescensides F et G dans 50 ml d'eau est acidifiée par HCl concentré. Le précipité formé est essoré sur verre fritté et lavé à l'eau. On obtient ainsi 720 mg de produit que l'on chromatographie sur 90 g acide silicique/célite (7:2). Le chromatogramme est développé par du  $\text{CHCl}_3$  contenant 10% de MeOH. On élue d'abord 187 mg de virescenside G, puis 30 mg d'un mélange des virescensides F et G et 458 mg de virescenside F. Les virescensides F et G cristallisent dans un mélange EtOAc et de MeOH et consomment au dosage volumétrique, respectivement 1.01 et 1.02 d'équivalent de potasse N. Virescenside F,  $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{O}_8$ ,  $[\alpha]_D = -82^\circ$  ( $c =$

1.13; MeOH)  $F = 188-190^\circ$  et virescenside G,  $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{O}_8$ ,  $[\alpha]_D = -85^\circ$  ( $c = 1.11$ ; MeOH)  $F = 192-194^\circ$  CCM- ( $\text{CHCl}_3$ , MeOH et AcOH, 8:1.5:2.5);  $R_f = 0.32$  et 0.48 respectivement.

**Hydrolyse acide des virescensides F et G.** 500 mg de virescenside F 3a sont dissous dans 10 ml de THF contenant 10% HCl. Après chauffage à reflux pendant 5 h on épuise le produit réactionnel par du  $\text{CHCl}_3$ . La chromatographie sur acide silicique du produit ainsi obtenu fournit 293 mg de virescensol A, 2a. L'hydrolyse de 500 mg de virescenside G dans les mêmes conditions fournit 286 mg de virescensol B, 2b.

**Esters méthyliques 3c et 3d.** Une solution de 320 mg de virescenside F dans un mélange de MeOH/ $\text{CHCl}_3$  est additionnée d'une solution éthérée de  $\text{CH}_3\text{N}_3$ . Après un contact de 3 jours on évapore le solvant et on chromatographie le produit de la réaction sur 50 g d'acide silicique/célite (7:3). On obtient ainsi 170 mg d'ester 3c qui cristallise dans un mélange de  $\text{CHCl}_3$ /acetone  $F = 121-123^\circ$ ,  $[\alpha]_D = -87^\circ$  ( $c = 0.95$ ;  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  9:1). RMN ( $\text{CDCl}_3$ ): 3 groupements méthyles [s, (6H) 0.85 ppm et s, (3H) 1.11 ppm], OMe (s, 3.76 ppm).

170 mg de virescenside G sont méthylés par le  $\text{CH}_3\text{N}_3$ . La chromatographie du produit de la réaction, isolé après un contact de 48 h, fournit 127 mg d'ester méthylique 3d, amorphe. RMN ( $\text{CDCl}_3$ ): 3 groupements méthyles (s, à 0.8; 0.85 et 1.08 ppm), OMe (s, 3.80 ppm). L'acétylation de 120 mg d'ester méthylique 3d par 4 ml d'un mélange  $\text{Ac}_2\text{O}$ /pyridine (1:1) à la température ambiante pendant 14 h fournit après chromatographie 105 mg de produit acétylé 3e. Pics à  $m/e$  602 ( $\text{M}^+$ -60),  $m/e$  542 (602-60),  $m/e$  482 (542-60),  $m/e$  440 (482-42),  $m/e$  317 (ion 4),  $m/e$  155 (317-120-42). RMN: 3 groupements méthyles (s, à 0.86; 0.91 et 0.93 ppm), OMe (s, 3.80), 4 groupements acétyles [s, (3H) 2.06 et s, (9H) 2.08].

**Réduction des esters méthyliques 3c et 3d par LAH.** Une solution de 100 mg d'ester méthylique 3c dans 4 ml de THF est additionnée peu à peu de 180 mg de LAH. On chauffe à reflux pendant 40 min. Après agitation pendant 24 h à la température ambiante on décompose l'excès du réactif par EtOAc. Après acidification par  $\text{SO}_4\text{H}_2$  dilué on isole le produit par épuisement au  $\text{CHCl}_3$  en

continu et on le chromatographie sur acide silicique/céélite (2:1). On obtient ainsi 48 mg de virescenoside A, la que l'on caractérise sous forme de son hexaacétate<sup>1</sup> (identité de  $R_f$  en CCM et des spectres de masse et de RMN).

190 mg d'ester méthylique 3d sont réduits par LAH comme décrit ci-dessus. On obtient 112 mg de virescenoside B, 1b que l'on caractérise sous forme de son pentaacétate.<sup>1</sup>

**Lactones 5a et 5b.** 40 mg de virescenoside F sont traités par 1.4 ml d'un mélange  $\text{Ac}_2\text{O}$ /pyridine (1:1). Après un contact de 72 h à la température ambiante on détruit l'excès de réactif par addition d'eau glacée et on extrait le produit avec du  $\text{CHCl}_3$ . On chromatographie le produit ainsi obtenu (43 mg). Le  $\text{CHCl}_3$  élue 20 mg de lactone, 5a,  $\text{C}_{34}\text{H}_{46}\text{O}_{12}$  qui cristallise dans un mélange de MeOH/ether  $F = 122-125^\circ$ ;  $[\alpha]_D = -55^\circ$  ( $c = 0.95$ ;  $\text{CHCl}_3$ ). Pics à *m/e* 586 ( $\text{M}^+ - 60$ ), *m/e* 544 ( $\text{M}^+ - 60 - 42$ ), *m/e* 243 (oxonium 6), *m/e* 201 (243-42). RMN ( $\text{CDCl}_3$ ): 3 groupements méthyles [s, (3H) 0.86 ppm et s (6H) 1.00 ppm], 4 groupements acétyles [s, (3H) à 2.00 ppm, s, (3H) à 2.05 ppm et s, (6H) 2.13 ppm],  $-\text{CH}_2-\text{O}-$  [q, centré 3.91 ppm ( $J$  10 Hz)]. Le chloroforme contenant 5% MeOH élue 20 mg de virescenoside acétylé.

93 mg de virescenoside G sont traités par  $\text{Ac}_2\text{O}$ /pyridine comme décrit pour le virescenoside F. Le produit ainsi obtenu (113 mg) est chromatographié sur acide silicique. Le  $\text{CHCl}_3$  élue 60 mg de lactone 5b,  $\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{O}_{10}$  amorphe.  $[\alpha]_D = -50^\circ$  ( $c = 0.69$ ;  $\text{CHCl}_3$ ). Pics à *m/e* 588 ( $\text{M}^+$ ), *m/e* 528 ( $\text{M}^+ - 60$ ), *m/e* 243 (oxonium 6), *m/e* 201 (243-42). RMN ( $\text{CDCl}_3$ ): 3 groupements méthyles (s, à 0.86; 0.88 et 0.96 ppm), 3 groupements acétyles [s, (3H) à 2.05 ppm et s, (6H) à 2.13 ppm],  $-\text{CH}_2-\text{O}-$  [q, centré à 3.91 ppm ( $J$  10 Hz)].

Le chloroforme contenant 3% de MeOH élue 50 mg de virescenoside G acétylé.

**Réduction des lactones 5a et 5b par LAH.** 138 mg de lactone 5a et 40 mg de lactone 5b sont réduits par LAH comme décrit pour les esters 3c et 3d. Le produit de chacune des expériences est acétylé par un mélange  $\text{Ac}_2\text{O}$ /pyridine (1:1) à la température ambiante (48 h). On obtient ainsi de l'hexaacétate de virescenoside A et du pentaacétate de virescenoside B, respectivement (identité des  $R_f$ ,  $P.F.$ , des spectres de masse et de RMN).

**Lactones 7a et 7c.** Une solution de 400 mg de virescenoside F dans 5 ml de MeOH est additionnée, à chaud, de 10 ml de HCl 0.5 N. On chauffe ensuite à reflux pendant 2 h. Après dilution avec l'eau on épuise le produit de la réaction au  $\text{CHCl}_3$ . On obtient ainsi 300 mg de produit que l'on chromatographie sur acide silicique/céélite. Après séparation de 57 mg de virescénol A, on élue 190 mg de lactone 7a  $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_8$  qui cristallise dans EtOH 95°.  $F = 220-222^\circ$   $[\alpha]_D = -102^\circ$  ( $c = 0.96$ ; MeOH). Pic à *m/e* 478 ( $\text{M}^+$ ), *m/e* 331 (ion 8a), *m/e* 285 (ion 9a).

350 mg de virescenoside G sont traités par HCl dilué comme décrit ci-dessus pour le virescenoside F. On obtient après chromatographie 42 mg de virescénol B et 165 mg de lactone 7c  $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_7$  qui cristallise dans le  $\text{CHCl}_3$   $F = 193-195^\circ$ .  $[\alpha]_D = -66^\circ$  ( $c = 0.85$ ; MeOH). Pics à *m/e* 462 ( $\text{M}^+$ ), *m/e* 315 (ion 8b), *m/e* 269 (ion 9b).

**Acétylation des lactones 7a et 7c.** 74 mg de lactone 7a sont acétylés par 3 ml d'un mélange  $\text{Ac}_2\text{O}$ /pyridine. On isole le produit de la réaction de la manière usuelle. On obtient ainsi 98 mg de lactone 7b  $\text{C}_{34}\text{H}_{46}\text{O}_{12}$  cristallisant dans l'alcool à 95° et fondant vers 150°  $[\alpha]_D = -51^\circ$  ( $c = 0.58$ ;  $\text{CHCl}_3$ ). RMN ( $\text{CDCl}_3$ ): 3 groupements méthyles (s, à 0.86; 1.05 et 1.36 ppm), 4 groupements acétyles [s,

(6H) à 2.10 ppm, s, (3H) à 2.12 ppm et s, (3H) à 2.13 ppm].

122 mg de lactone 7c sont acétylés comme ci-dessus. On obtient 135 mg de lactone 7d  $\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{O}_{10}$  qui cristallise dans le MeOH,  $F = 194-196^\circ$   $[\alpha]_D = -73^\circ$  ( $c = 1.1$ ;  $\text{CHCl}_3$ ). RMN ( $\text{CDCl}_3$ ): 3 groupements méthyles (s, 0.86; 0.93 et 1.30 ppm), 3 groupements acétyles (s, 2.10; 2.11 et 2.15 ppm).

Les lactones 7b et 7c ont les mêmes  $R_f$  en CCM ( $\text{CHCl}_3$  + 50% de MeOH) que les lactones 5a et 5b, respectivement, mais ont des  $R_f$  différents dans le système: benzène/éther (1:1).

**Obtention des isomères des virescenosides A et B.** 90 mg de lactone 7b et 140 mg de lactone 7d sont réduites par LAH comme décrit précédemment. Le produit de réaction de chacune des expériences est acétylé de la manière habituelle et les acétates sont purifiés par chromatographie sur colonne d'acide silicique. La lactone 7b fournit 60 mg d'un hexaacétate, isomère de virescenoside A;  $[\alpha]_D = -14^\circ$  ( $c = 0.5$ ;  $\text{CHCl}_3$ ). Pic à *m/e* 674 ( $\text{M}^+ - 60$ ). RMN ( $\text{CDCl}_3$ ): 3 groupements méthyles (s, 0.86; 1.00 et 1.36 ppm), 6 groupements acétyles (entre 2.05 et 2.11 ppm). RMN ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ): 6 groupements acétyles (s, 1.75; 1.80; 1.86; 1.88; 1.94 et 2.05 ppm).

La lactone 7d fournit après réduction par LAH, suivie d'acétylation 84 mg d'un pentaacétate,  $F = 140-142^\circ$ , isomère, de virescenoside B;  $[\alpha]_D = -28^\circ$  ( $c = 0.95$ ;  $\text{CHCl}_3$ )  $R_f$  (benzène/éther, 1:1) =  $1.13 \times R_f$  du pentaacétate de virescenoside B. Pics à *m/e* 676 ( $\text{M}^+$ ), 616 ( $\text{M}^+ - 60$ ), *m/e* 556 ( $\text{M}^+ - 120$ ). RMN ( $\text{CDCl}_3$ ): 3 groupements méthyles (s, 0.85; 0.91 et 1.31 ppm), 5 groupements acétyles (entre 2.05 et 2.15 ppm).

**Hydrolyse acide.** 1 g du mélange des lactones 7b et 7d préalablement réduites par LAH est additionné de 1 ml  $\text{AcOH}$ , 10 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  et 1 ml de DCl concentré. On chauffe à reflux pendant 2 h. Après addition d'eau on extrait, en continu, avec  $\text{CHCl}_3$ . La chromatographie de la partie soluble dans le  $\text{CHCl}_3$  fournit un mélange de virescénol A et B, à côté d'une faible quantité des dérivés mono-acétylés. La phase aqueuse donne après désacidification par la  $N,N$  dioctyl méthyl amine<sup>7</sup> et évaporation à sec un mélange d'altrose et d'altrosane<sup>1</sup> que l'on identifie par chromatographie sur papier. 70 mg de lactone 7d, préalablement réduite par LAH et acétylé par un mélange  $\text{Ac}_2\text{O}$ /pyridine, sont hydrolysés comme décrit ci-dessus. On isole le virescénol B, d'une part, et un mélange d'altrose et d'altrosane, d'autre part.

**Réduction catalytique de la lactone 7c.** 200 mg de lactone 7c, dissous dans un mélange  $\text{Ac}_2\text{O}$ /EtOAc, sont hydrogénés (5 h) en présence de Pt d'Adams. Après filtration et évaporation du solvant on isole le dérivé dihydrogéné 10a  $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{O}_7$  qui cristallise dans  $\text{CHCl}_3$ ,  $F = 184-186^\circ$ . Pics à *m/e* 464 ( $\text{M}^+$ ), à *m/e* 317 (ion 8c), à *m/e* 271 (ion 9c).

**Acétate 10b.** 100 mg de lactone 10a sont traités par 2.5 ml d'un mélange  $\text{Ac}_2\text{O}$ /pyridine (4:1) à la température ambiante. Au bout de 20 h on isole le produit de la réaction de la manière habituelle. On obtient ainsi la lactone 10b  $\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{O}_{10}$  qui cristallise dans le MeOH,  $F = 182-183^\circ$ . RMN ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ): 3 groupements acétyles (s, 1.55; 1.66 et 1.83 ppm). Pics à *m/e* 530 ( $\text{M}^+ - 60$ ), *m/e* 317 (ion 8c) et *m/e* 271 (ion 9c).

**Dérivé "isopropylidène" 11a.** Une solution de 200 mg de lactone 10a dans 8 ml d'acétone (distillée sur  $\text{MnO}_2/\text{K}$ ) est additionnée de  $\text{SO}_2/\text{Cu}$  anhydre. On fait agiter le mélange pendant 24 h à 50°. On suit la réaction par chromatographie sur plaque. Le produit de la réaction est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice. On

obtient ainsi le dérivé 11a  $C_{29}H_{44}O_7$  qui cristallise dans le  $CHCl_3$ ;  $F = 224-225^\circ$ . Pics à 504 ( $M^+$ ),  $m/e$  489 ( $M^+-15$ ),  $m/e$  317 et  $m/e$  271.

Acétate 11b. 100 mg du dérivé 11a sont acétylés de la manière habituelle. On obtient ainsi le dérivé monoacétylé 11b  $C_{31}H_{46}O_8$  qui cristallise dans le MeOH  $F = 225-226^\circ$ . RMN (acétone deutériée): 1 groupement acétyle (s, 2.05 ppm). Pics à  $m/e$  546 ( $M^+$ ),  $m/e$  531 ( $M^+-15$ ),  $m/e$  486 ( $M^+-60$ ),  $m/e$  317 et  $m/e$  271.

*Remerciements* – Nous adressons nos vifs remerciements au Professeur M. Ribaldi (Perugia) pour les cultures d'*Oospora virescens* et pour l'intérêt témoigné à ce travail. Nous remercions vivement Mme L. Alais (Gif) pour les mesures des spectres de RMN à 60 Mc, le Professeur C. G. Casinovi (Institut Supérieur Sanità, Rome) pour les discussions et mesures des spectres à 100 MHz et le Dr B. C. Das pour les discussions des spectres de masse.

Nous remercions le Commissariat à l'Énergie Atomique (Saclay) pour une subvention ayant facilité l'achat des solvants deutériés et le C. N. R. italien pour une subvention.

## REFERENCES

- <sup>1</sup>N. Cagnoli-Bellavita, P. Ceccherelli, M. Ribaldi, J. Polonsky et Z. Baskevitch, *Gazz. Chim. Ital.* **99**, 1354 (1969).
- <sup>2</sup>N. Cagnoli-Bellavita, P. Ceccherelli, R. Mariani, J. Polonsky et Z. Baskevitch, *Eur. J. Biochem.* **15**, 356 (1970).
- <sup>3</sup>J. Polonsky, Z. Baskevitch, N. Cagnoli-Bellavita et P. Ceccherelli, *Chem. Comm.* 1404 (1968) *Idem*, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1912 (1970).
- <sup>4</sup>J. Polonsky, Z. Baskevitch, N. Cagnoli-Bellavita, P. Ceccherelli, B. L. Buckwalter et E. Wenkert, *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 4369 (1972).
- <sup>5</sup>H. Budzikiewicz, C. Djerassi et D. H. Williams, *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry*, Holden-Day, Inc. London, p. 203 (1964).
- <sup>6</sup>K. K. Cheung, K. H. Overton et G. A. Sim, *Chem. Comm.* 634 (1965).
- <sup>7</sup>J. B. Harborne et H. P. A. Sherrat, *Proc. Biochem. Soc., Biochem. J.* **65**, 23 (1957).