

**IDENTIFICATION DE 5 NOUVEAUX RYANOIDES DANS LES
EXTRAITS DE *RYANIA SPECIOSA* VAHL.
SYNTHÈSE TOTALE FORMELLE DU CINNZEYLANOL ET DE LA
CINNZEYLANINE AINSI QUE DU 2-DÉOXYRYANODOL, DU 2,3-DIDÉOXY-2,3-
DIHYDRORYANODOL, DU 2-DÉOXY-3-ÉPIRYANODOL, DE LA 2-DÉOXY-3-
ÉPIRYANODINE ET DE PLUSIEURS DÉRIVÉS.**

par

Marco Dodier

**mémoire déposé au Département de chimie
en vue de l'obtention de la maîtrise ès sciences (M.Sc.)**

**FACULTÉ DES SCIENCES
UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE**

Sherbrooke, Québec, Canada, juillet 1996



National Library
of Canada

Bibliothèque nationale
du Canada

Acquisitions and
Bibliographic Services Branch

Direction des acquisitions et
des services bibliographiques

395 Wellington Street
Ottawa, Ontario
K1A 0N4

395, rue Wellington
Ottawa (Ontario)
K1A 0N4

Your file *Voire référence*

Our file *Notre référence*

The author has granted an irrevocable non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of his/her thesis by any means and in any form or format, making this thesis available to interested persons.

L'auteur a accordé une licence irrévocable et non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de sa thèse de quelque manière et sous quelque forme que ce soit pour mettre des exemplaires de cette thèse à la disposition des personnes intéressées.

The author retains ownership of the copyright in his/her thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without his/her permission.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège sa thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

ISBN 0-612-15417-3

Canada

SOMMAIRE

Ce mémoire traite de l'identification de 5 nouveaux ryanoides dans les extraits de la plante *Ryania speciosa*. On y décrit également la modification des niveaux d'oxydation des positions 2, 3 et 17 du cycle A des ryanoides, ce qui a conduit entre autres résultats, à la synthèse de 2 produits naturels: le cinnzeylanol et la cinnzeylanine. Finalement, on y rapporte la synthèse de plusieurs dérivés ainsi que leur affinité pour le site récepteur de la ryanodine.

REMERCIEMENTS

Je souhaite en tout premier lieu remercier le professeur Luc Ruest de m'avoir permis de réaliser ces travaux de maîtrise et pour sa supervision tout au long du projet. Je lui suis également reconnaissant pour ses précieux conseils, son support et pour l'enthousiasme qu'il a su me communiquer pour mener à bien ce travail.

Les professeurs John Sutko et William Welch de l'Université du Nevada à Reno, reçoivent toute ma reconnaissance pour leur précieuse collaboration.

Je désire remercier Monsieur Marc Drouin, pour la réalisation des études de diffraction de rayons X et celle des calculs d'énergie par modélisation moléculaire, ainsi que Monsieur Carl Berthelette pour son travail au niveau de la purification de produits.

Mes remerciements s'adressent aussi au Dr Normand Pothier et à Monsieur Gaston Boulay pour l'aide technique indispensable qu'il m'ont apportée.

Finalement je remercie les différents organismes qui financent la recherche universitaire, l'Université de Sherbrooke et le Fond pour la Recherche à Allocation Interne (FRAI), et en particulier l'American Heart Association (AHA) et la National Science Foundation (NSF).

TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE.....	ii
REMERCIEMENTS.....	iii
TABLE DES MATIÈRES.....	iv
LISTE DES SCHÉMAS	vi
LISTE DES FIGURES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	vii
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	viii
INTRODUCTION.....	1
RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	20
1. PRODUITS NATURELS.....	20
2. MODIFICATION DU CYCLE A.....	26
3. DÉRIVÉS.....	41
4. ACTIVITÉS BIOLOGIQUES.....	46
CONCLUSION.....	48

PARTIE EXPÉRIMENTALE.....	49
1. REMARQUES GÉNÉRALES.....	49
2. PRODUITS NATURELS.....	51
3. MODIFICATIONS STRUCTURALES.....	54
4. DÉRIVÉS.....	66
ANNEXE (SPECTRES RMN et IR).....	80
RÉFÉRENCES.....	112

LISTE DES SCHÉMAS

SCHÉMA 1.....	3
SCHÉMA 2.....	4
SCHÉMA 3.....	5
SCHÉMA 4.....	6
SCHÉMA 5.....	7
SCHÉMA 6.....	15
SCHÉMA 7.....	15
SCHÉMA 8.....	17
SCHÉMA 9.....	18
SCHÉMA 10.....	19
SCHÉMA 11.....	29
SCHÉMA 12.....	30
SCHÉMA 13.....	32
SCHÉMA 14.....	33
SCHÉMA 15.....	37
SCHÉMA 16.....	38
SCHÉMA 17.....	39
SCHÉMA 18.....	43
SCHÉMA 19.....	44
SCHÉMA 20.....	44

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1.....	9
FIGURE 2.....	10
FIGURE 3.....	12
FIGURE 4.....	16
FIGURE 5.....	24
FIGURE 6.....	25
FIGURE 7.....	31
FIGURE 8.....	36
FIGURE 9.....	40
FIGURE 10.....	45

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1.....	43
TABLEAU 2.....	47

LISTE DES ABRÉVIATIONS

CBZ:	$C_6H_5CH_2OOC-$
DCC:	Dicyclohexylcarbodiimide
DMAP:	N,N-Diméthylaminopyridine
DMF:	Diméthylformamide
DPPA:	Azidure de diphénylphosphoryle
ORTEP:	Oak Ridge Thermal Ellipsoid Program
THF:	Tétrahydrofurane

INTRODUCTION

La ryanodine (1) est un puissant modulateur des échanges de calcium au niveau du réticulum sarcoplasmique (1). Avec la 9,21-didéhydroryanodine (2) (2), elle est le principal composé actif isolé de la poudre de ryania (3), un insecticide naturel utilisé en agriculture (schéma 1). La ryanodine, un diterpène polycyclique complexe, comporte plusieurs groupements hydroxyles ainsi qu'un groupement pyrrole carboxylate. Sa structure a été établie par Wiesner (4) par dégradation chimique. De plus, la structure a été confirmée par diffraction de rayons X (5) sur le dérivé 3, un éther para-bromobenzylique du ryanodol.

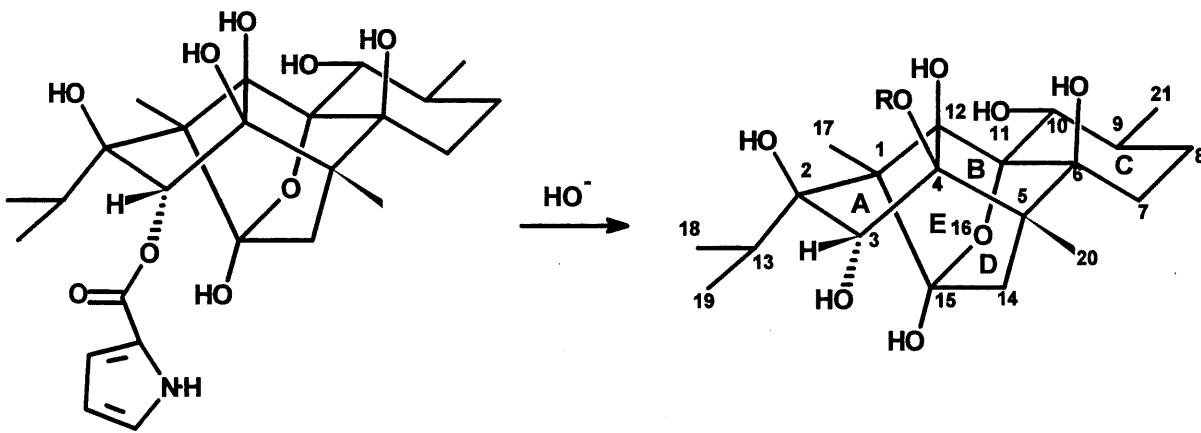
Le ryanodol (4), l'alcool résultant de la saponification de la ryanodine (schéma 1), est un diterpène à cinq cycles (A, B, C, D et E). Les cycles A et B sont à cinq membres et les trois autres comportent six membres. Le cycle D contient un atome d'oxygène. Le ryanodol comporte trois méthyles en C1, C5 et C9, un isopropyle en position C2 et cinq groupements hydroxyles tertiaires en C2, C4, C6, C12 et C15. L'hydroxyle en C15 fait partie d'une fonction hémicétal formé par l'alcool tertiaire en position C11 et la cétone en C15. Finalement, on retrouve deux hydroxyles secondaires en C3 et C10, tous deux orientés vers la face α .

La synthèse totale du (+)-ryanodol (4) a été réalisée en 1979 par Deslongchamps (6). Cette dernière exploite le haut degré de sélectivité de la réaction de Diels-Alder basé sur les effets stériques et stéréoélectroniques. De la vanilline (5), on obtient le diène 7 en onze étapes et le diénophile 8 est, quant à lui, synthétisé en huit étapes à partir de la S-(+)-carvone (6) (schéma 2). La réaction entre ces deux synthons donne un mélange de quatre diastéréoisomères qui, après une séquence de traitements basique et acide, conduit à l'intermédiaire pentacyclique 9 optiquement actif. Suite à une série d'opérations, le produit 9 est transformé en anhydroryanodol (10) (schéma 3). L'anhydroryanodol est traité dans des conditions

d'époxydation (voir 11) avant de subir une cyclisation réductive par traitement avec le lithium dans l'ammoniac pour donner le (+)-ryanodol (4). Ainsi, le dianion formé par la réduction du carbonyle de la lactone effectue l'ouverture de la fonction époxyde pour former le squelette pentacyclique. Cette dernière réaction est inhabituelle en synthèse organique. Elle est rendue possible grâce à la proximité et à l'alignement parfait des deux groupements fonctionnels mis en cause, à la rigidité de la molécule ainsi qu'à l'impossibilité de réaction intermoléculaire. Cette réaction sera utilisée en plusieurs occasions au cours de ce travail pour arriver à relier les carbones 1 et 15 des composés synthétisés.

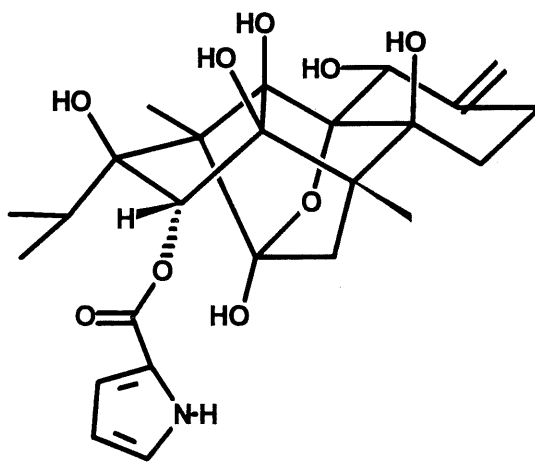
Toutes les tentatives d'estérifier le ryanodol en position 3 pour obtenir la ryanodine (1) ont échouées jusqu'à maintenant. Cet alcool secondaire est trop encombré pour permettre la réaction. Par contre, le ryanodol peut être estérifié en position 10 par l'acide 2-pyrrole carboxylique et l'ester 13 obtenu possède une certaine affinité au site récepteur de la ryanodine. (7, 8).

En milieu acide, la ryanodine et le ryanodol subissent une déshydratation (4) accompagnée d'une modification majeure de leur squelette (schéma 4) pour donner l'anhydroryanodine (14) et l'anhydroryanodol (10) respectivement. Suite à cette modification importante, la molécule perd la majeure partie de son activité biologique (9, 10).



1: Ryanodine

3: R= CH₂C₆H₄Br
 4: R=H: Ryanodol



2: 9,21-didéhydroryanodine

Schéma 1

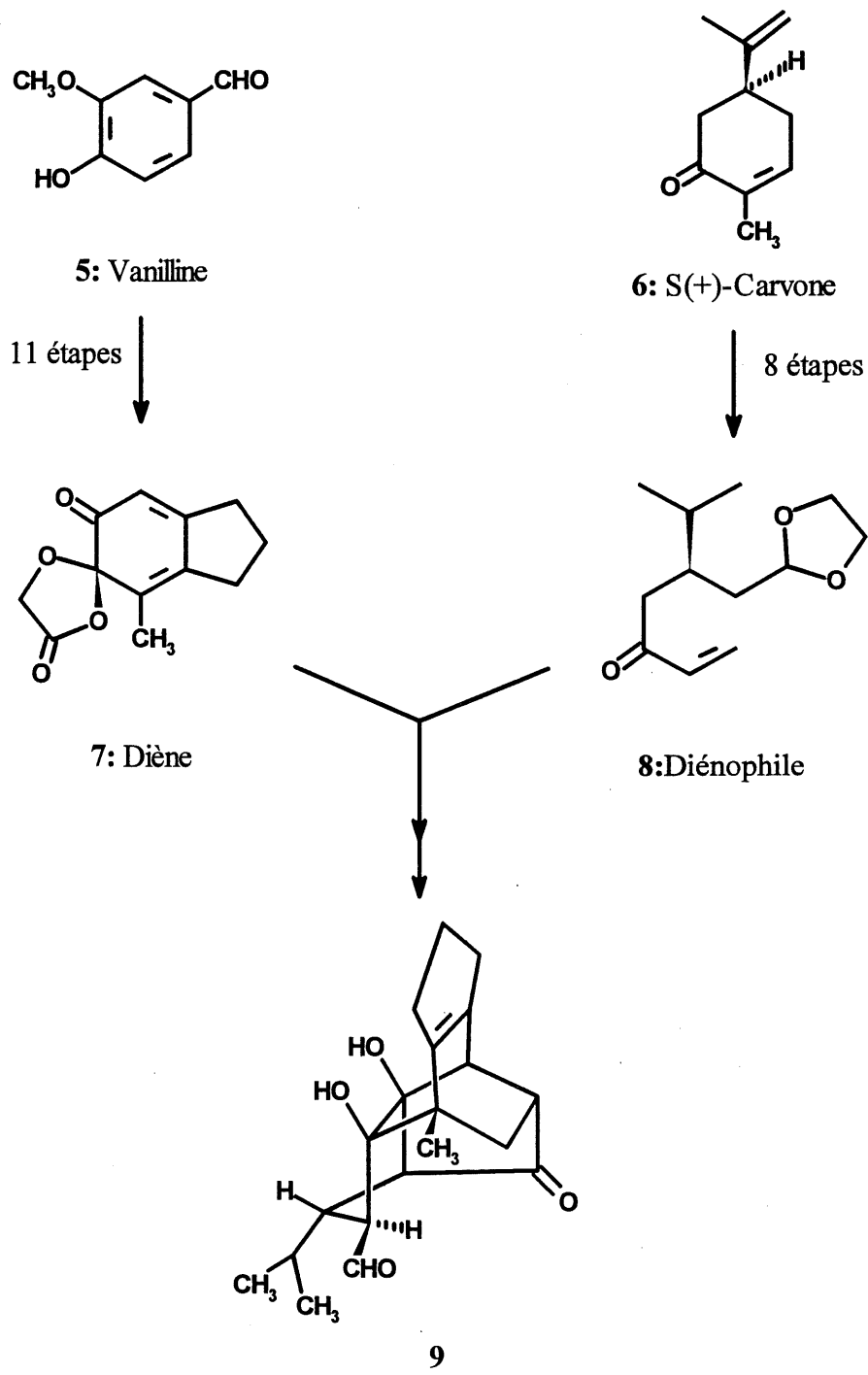
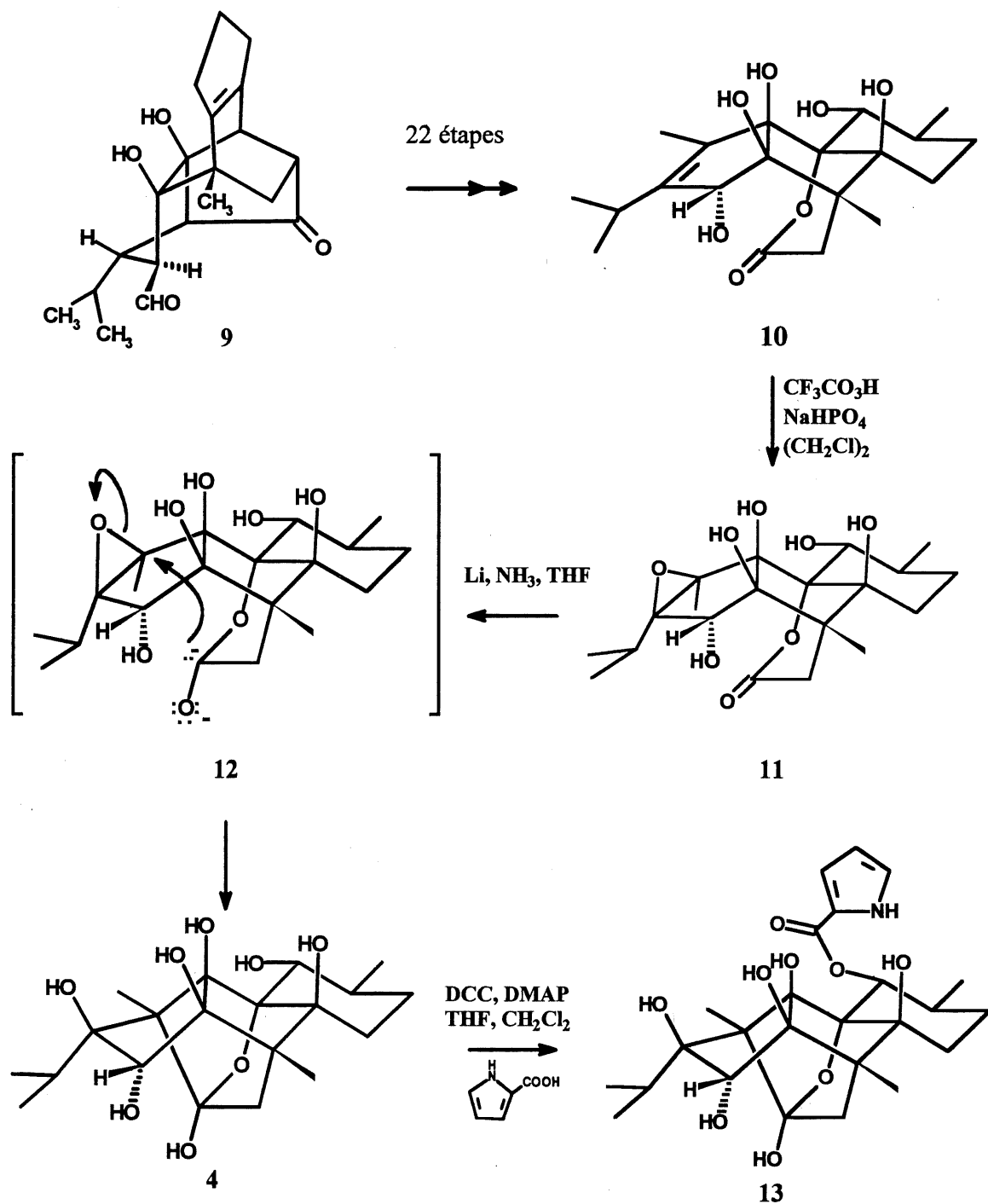


Schéma 2



Sch\u00e9ma 3

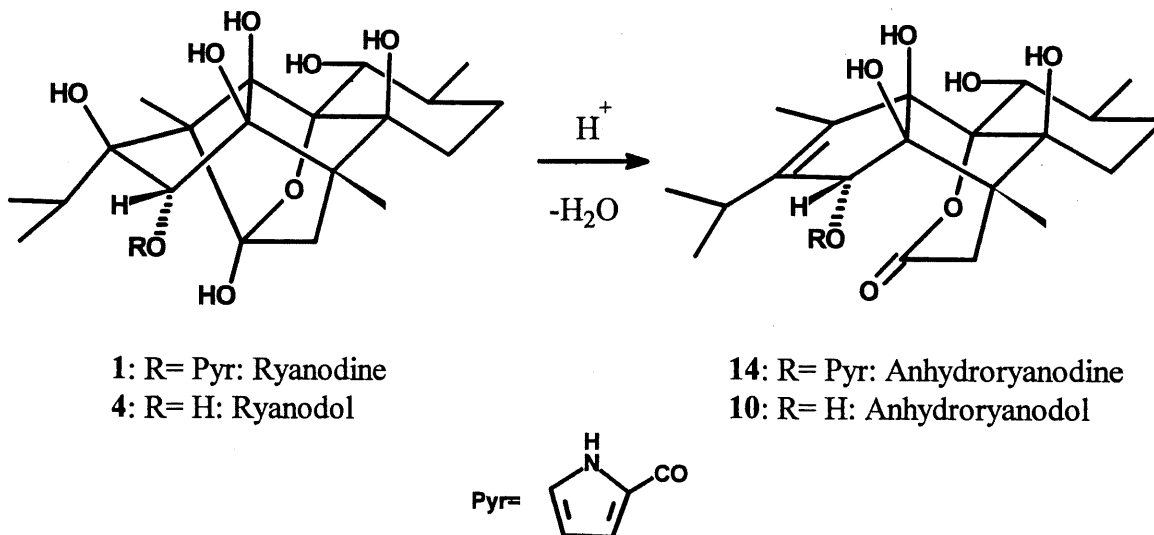
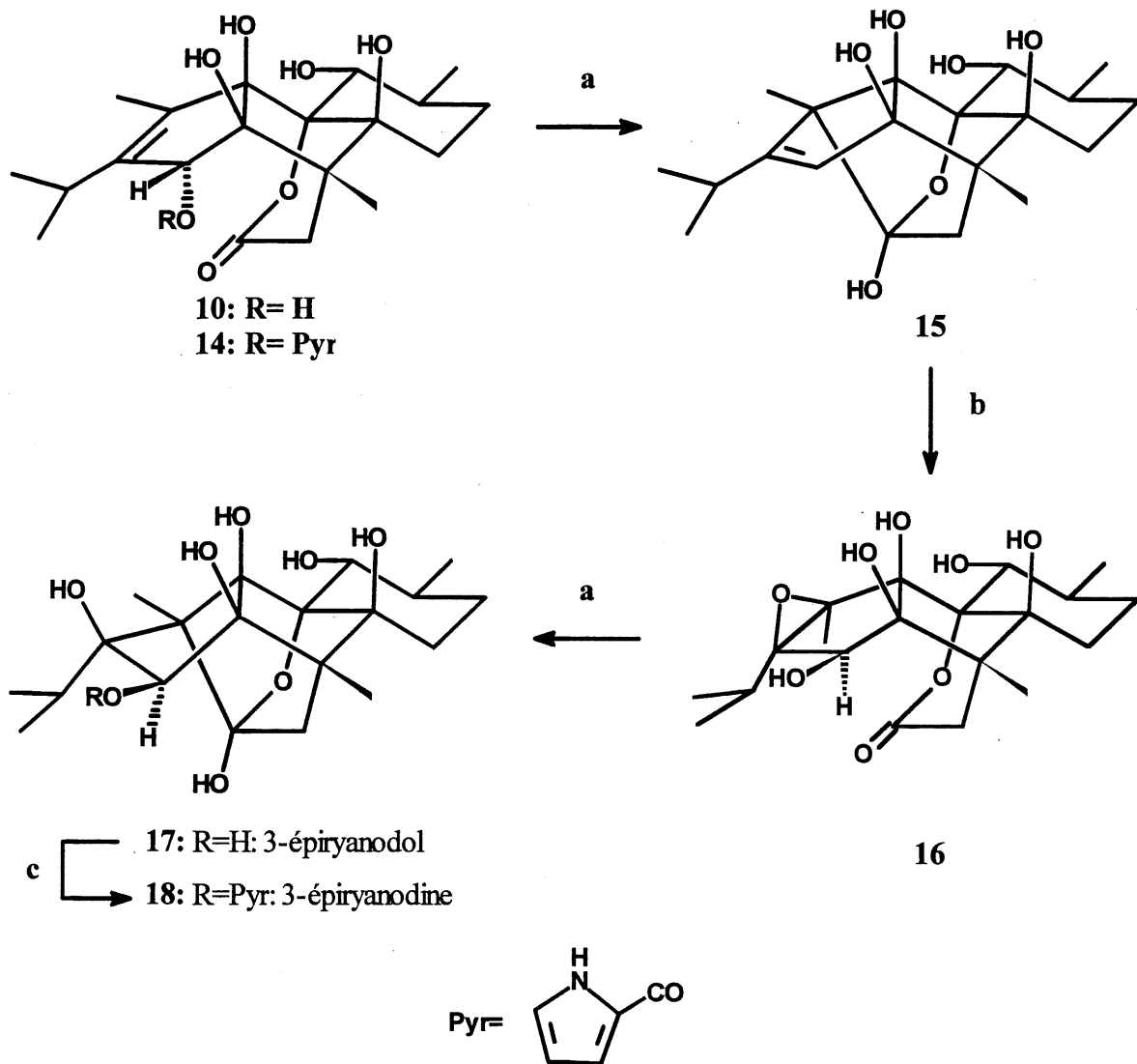


Schéma 4

Récemment, la synthèse de la 3-épiryanodine (**18**) a été réalisée en utilisant l'anhydroyanodine (**14**) ou l'anhydroyanodol (**10**) comme substrats de départ (7). Ces derniers, lorsque traités par le lithium métallique dissous dans l'ammoniac, subissent une réaction de substitution nucléophile intramoléculaire de type S_N2' pour conduire au 2,3-didéoxy- $\Delta^{2,3}$ -ryanodol (**15**) (schéma 5). L'oxydation de ce produit avec deux équivalents de peracide donne l'époxyde **16** qui est à son tour traité par le lithium dans l'ammoniac pour former le 3-épiryanodol (**17**). L'acylation sélective relativement facile de l'hydroxyle en position 3 «*exo*» de l'alcool **17** avec l'acide 2-pyrrole carboxylique conduit à la 3-épiryanodine (**18**). L'accès à cet hydroxyle est maintenant grandement facilité en raison de sa stéréochimie. Cet épimère de la ryanodine naturelle démontre une certaine affinité pour le récepteur de la ryanodine (8).



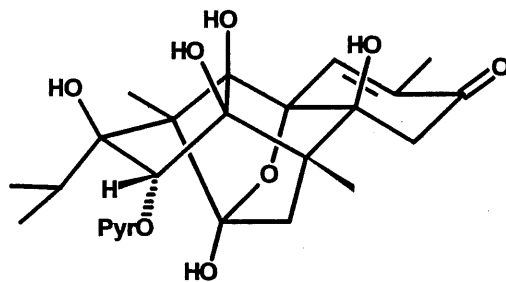
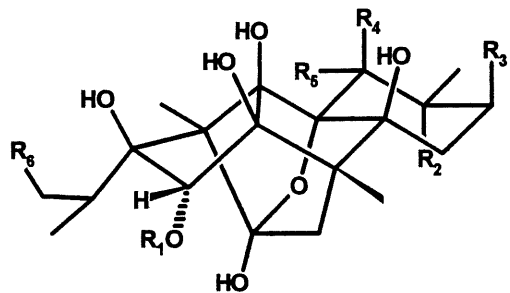
Conditions de réactions: a: Li, NH₃, THF; b: CF₃CO₃H, NaHCO₃, (CH₂Cl)₂;
 c: acide 2-pyrrole carboxylique, DCC, DMAP, CH₂Cl₂, THF.

Schéma 5

Depuis quelques années, plusieurs groupes se sont intéressés aux relations structure-activité des ryanoides pour déterminer les facteurs stériques et polaires essentiels à l'activité biologique de ces composés. Les produits nécessaires à l'accomplissement de ces études proviennent soit de synthèses totale ou partielle, telles que décrites dans les pages précédentes, ou bien de sources naturelles. En effet, beaucoup de composés étroitement reliés à la ryanodine, les ryanoides, ont été isolés de la plante *Ryania speciosa* par différents groupes (2, 9-15). Ces produits représentent la ryanodine comportant soit de légères modifications de son état d'oxydation en différents endroits de la molécule, de sa stéréochimie, soit un groupements différents en position 3 (voir 2, 19-31 figure 1). L'abondance de ces produits varie selon la provenance de la plante.

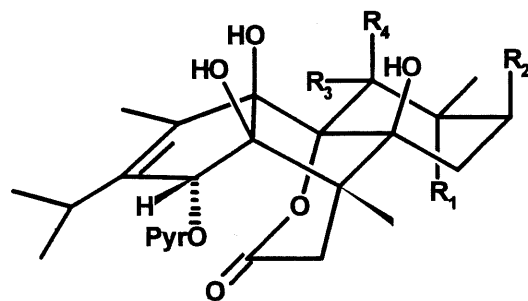
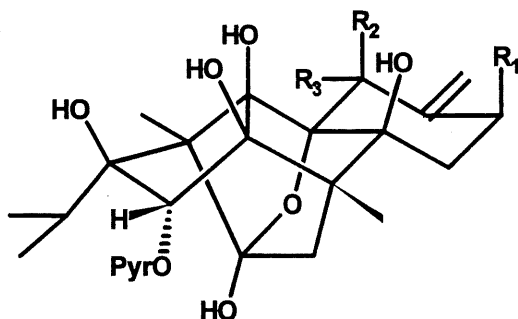
D'un autre coté, certains produits: les cinnzeylanols 32, 33 et les cinncassiols 34, isolés de *Cinnamomum zeylanicum* (une variété de cannelle) par Murakoshi (16) et plus tard par Nohara (17) possèdent le même squelette carboné que la ryanodine et démontrent également des propriétés insecticides (figure 2). Récemment, Fraga et Gonzalez-Coloma ont rapporté la présence de ryanodol (4), de cinnzeylanol (32) (18), de cinnzeylanine (33) ainsi que de trois nouveaux diterpènes: la cinnzeylanone (35), le 3-O-acétylryanodol (36) et le 10-épicycinnzeylanol (37) (19) dans les extraits alcooliques de la plante *Persea indica* (figure 2).

Toutes les modifications observées influencent l'activité biologique de ces diterpènes. Par exemple, la ryanodine augmente la perméabilité au calcium du réticulum sarcoplasmique lorsqu'elle est en faible concentration mais produit l'effet inverse à des concentrations élevées. Par contre, l'ester A (23) augmente la perméabilité peu importe sa concentration (20). Cet exemple met bien en évidence la relation étroite entre l'activité biologique des ryanoides et leur structure. Nous ne pouvons expliquer pourquoi la structure de l'ester A provoque ce changement d'activité.



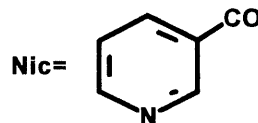
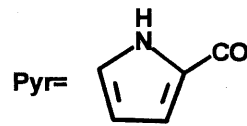
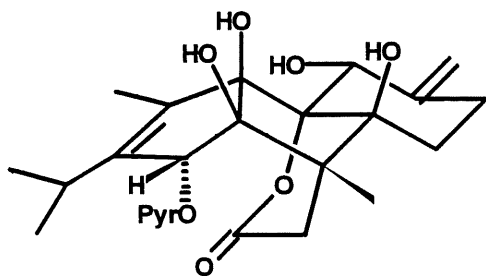
- 1: $R_2, R_3, R_4, R_6 = H$; $R_5 = OH$; $R_1 = Pyr$: Ryanodine
 19: $R_3, R_4, R_6 = H$; $R_2, R_5 = OH$; $R_1 = Pyr$: 9 α -Hydroxyryanodine
 20: $R_2, R_3, R_4 = H$; $R_5, R_6 = OH$; $R_1 = Pyr$: 18-Hydroxyryanodine
 21: $R_3, R_5, R_6 = H$; $R_2, R_4 = OH$; $R_1 = Pyr$: Ester C₁
 22: $R_2, R_3, R_4, R_6 = H$; $R_5 = OH$; $R_1 = Nic$: Ester G
 23: $R_2, R_5, R_6 = H$; $R_3 = OH$; $R_2 = CH_3O$; $R_1 = Pyr$: Ester A
 24: $R_2, R_5 = H$; $R_3, R_6 = OH$; $R_4 = CH_3O$; $R_1 = Pyr$: Ester E

25: Ester B



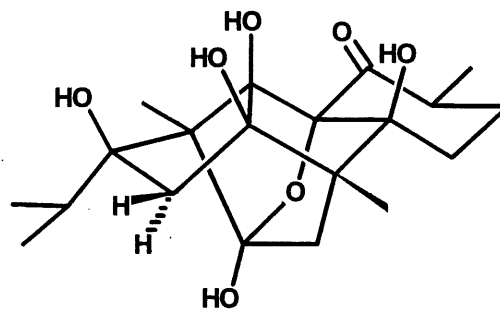
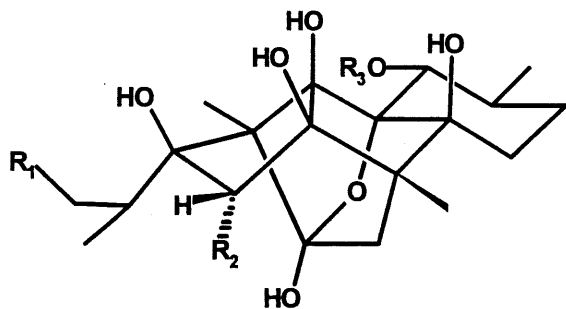
- 2: $R_1, R_2 = H$; $R_3 = OH$: 9,21-Didéhydroryanodine
 26: $R_1 = OH$; $R_2 = CH_3O$; $R_3 = H$: Ester D
 27: $R_1, R_2 = OH$; $R_3 = H$: Ester F

- 28: $R_2, R_4 = H$; $R_1, R_3 = OH$: Ester C₂
 29: $R_1, R_2, R_4 = H$; $R_3 = OH$: Anhydroryanodine
 30: $R_1, R_3 = H$; $R_2 = OH$; $R_4 = CH_3O$: Anhydroester A



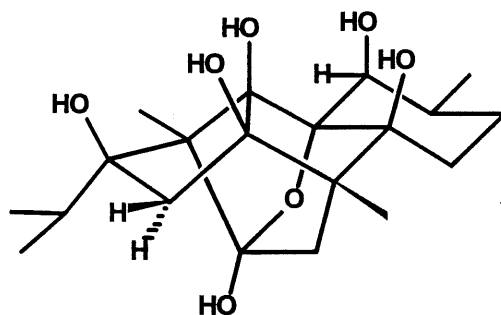
31: 9,21-Anhydrodidéhydroryanodine

Figure 1: Structures de ryanoides naturels déjà connus.



- 4:** $R_1 = R_3 = H; R_2 = OH$: Ryanodol
32: $R_1 = R_2 = R_3 = H$: Cinnzeylanol
33: $R_1 = R_2 = H; R_3 = \text{Acétyl}$: Cinnzeylanine
34: $R_1 = OH; R_2 = R_3 = H$: Cinncassiol B
36: $R_1 = R_3 = H; R_2 = \text{Acétate}$: 3-O-Acétilyryanodol

35: Cinnzeylanone



37: 10-Épicinnzeylanol

Figure 2: Structures de ryanoides provenant de *Cinnamomum zeylanicum* et de *Persea indica*.

La modification par voies chimiques des ryanoides naturels est également une façon d'obtenir des produits comportant les changements stériques et polaires désirés. Dans ce sens, plusieurs travaux ont été effectués ces dernières années sur la ryanodine, la 9,21-didéhydroryanodine ainsi que sur le ryanodol.

Des méthodes de marquage isotopique de la ryanodine ont été développées pour utilisation dans le cadre des études d'affinité pour le site récepteur de la ryanodine. La première, mise au point par Fairhurst en 1971 (21) et repris par Casida en 1987 (10), consiste à effectuer l'addition de tritium sur le pyrrole en deux étapes. Plus tard, suite à la découverte de la 9,21-didéhydroryanodine (**2**), une méthode simple et efficace de produire la ryanodine tritiée fut développée. En effet, l'hydrogénation du composé **2** en présence de palladium 10% sur charbon conduit à un mélange de ryanodine et de 9-épiryanodine (11). La substitution de l'hydrogène par le tritium lors de cette réaction permet l'obtention du produit marqué (22).

Jusqu'à maintenant la plupart des modifications de structure ont été réalisées sur les ryanoides naturels les plus abondants. Ainsi en utilisant les travaux effectués par Wiesner (4), Jefferies (23) a réalisé l'oxydation au periodate du diol en positions 4,12 de la ryanodine pour préparer une série de dérivés de la 4,12-seco-4,12-dioxoryanodine (**38**) (figure 3). Ces transformations furent aussi appliquées à la 9,21-didéhydroryanodine. Ces dérivés, obtenus par l'addition de nucléophiles de grosseur et de polarité variables sur les carbonyles en position 4 et 12, ont été utilisés pour étudier la partie hydrophile de la molécule et pour analyser l'impact de leur présence sur l'affinité du dérivé avec le site récepteur. Des modifications structurales ont également été apportées en réalisant l'ouverture du pyrrole par traitement avec l'ozone (schéma 6), ce qui génère le produit **59** (10).

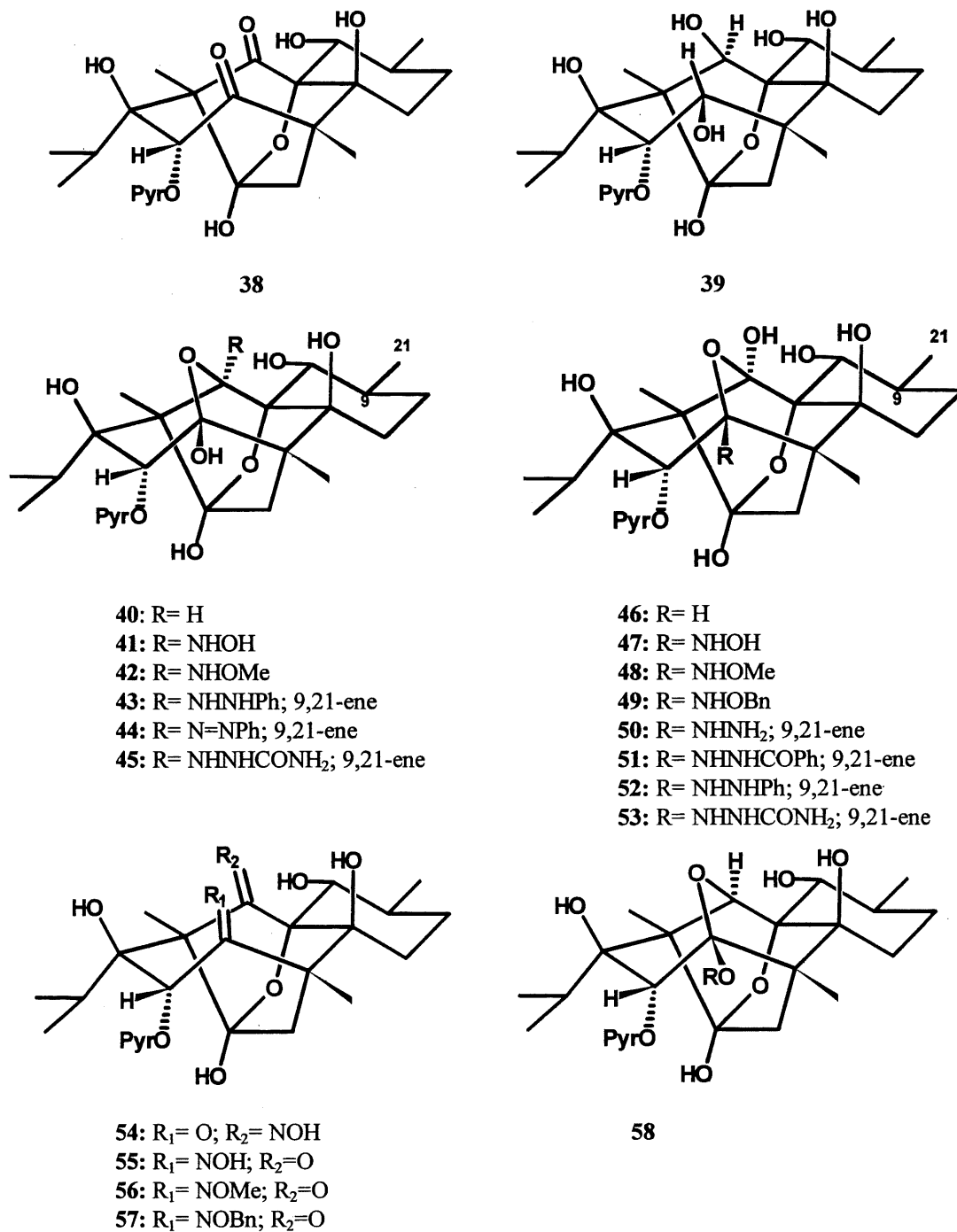


Figure 3: Modifications structurales aux positions 4 et 12 des ryanoides (23).

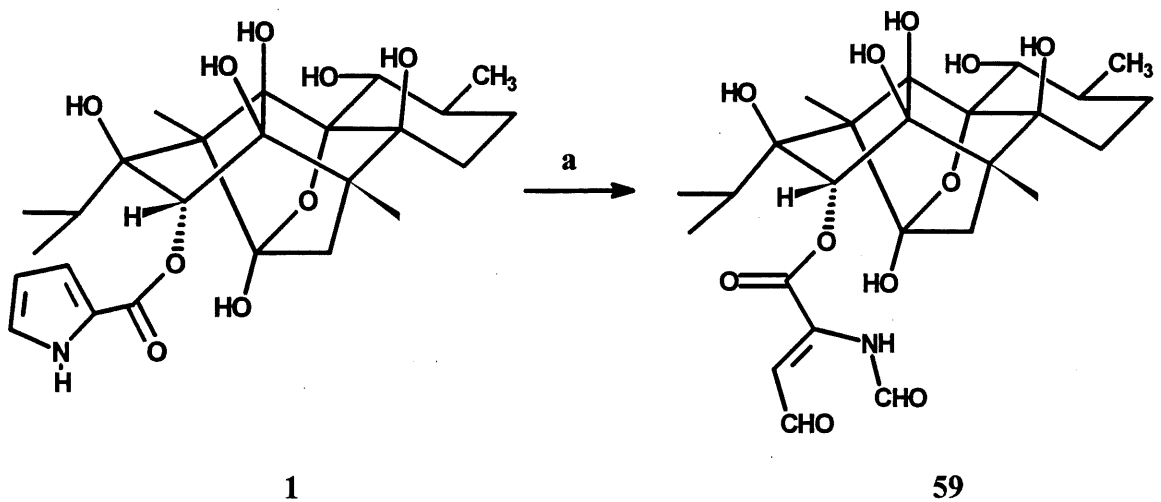
Plusieurs groupements ont été introduits sur la ryanodine et le ryanodol. Tout d'abord, l'alkylation directe du pyrrole et des hydroxyles de la ryanodine a été réalisée par Casida et ses collaborateurs (10). Pour ce faire, la ryanodine est traitée avec l'hydrure de sodium ou une base de puissance similaire: les anions formés sont alkylés avec les halogénures d'alkyle suivants: le bromure de benzyle, l'iodure de butyle et l'iodométhane pour fournir les dérivés mono-, di-, tri- et tétrasubstitués correspondants (voir 60-65 schéma 7).

Le cycle C a fait l'objet d'une étude exhaustive par les différents groupes de recherche impliqués. Tout d'abord, les possibilités offertes par l'alcool secondaire en position 10 ont été exploitées. En effet, ce dernier permet l'introduction de divers groupements par acylation sélective à cette position. De cette façon, plusieurs dérivés de la ryanodine (10, 24-26) et du ryanodol (7, 15) ont été produits (voir 66-89 figure 4). Certains dérivés de cette série ont démontré une affinité supérieure à celle de la ryanodine pour son récepteur (14, 24). Notons que l'oxydation de cet alcool secondaire peut être réalisé pour donner la 10-oxoryanodine (10).

D'autre part, la double liaison exocyclique de la 9,21-didéhydroryanodine permet des modifications en positions 8, 9 et 21: il devient ainsi possible d'introduire différents groupements sur le cycle C. Par exemple, l'époxydation de la double liaison (27) conduit à un mélange de 9,21 α -époxyde **90** et de 9,21 β -époxyde **91** (schéma 8) séparables par chromatographie. Le composé **90** fut utilisé pour introduire un groupement azoté en position 21 par ouverture de l'oxirane avec l'azidure de sodium conduisant au produit **96**. La réduction de l'azidure **96** donne le composé 21-amino **97**, celui-ci permettant la synthèse des dérivés N-acylé **98** et **99**. Il est également possible d'effectuer la dihydroxylation de la 9,21-didéhydroryanodine avec le tétraoxyde d'osmium (26) pour obtenir le produit **94**. Ce dernier comporte un alcool primaire en position 21 et permet l'acylation sélective de cette position (voir 95 schéma 8). L'addition de groupement sur la double liaison est une autre façon de

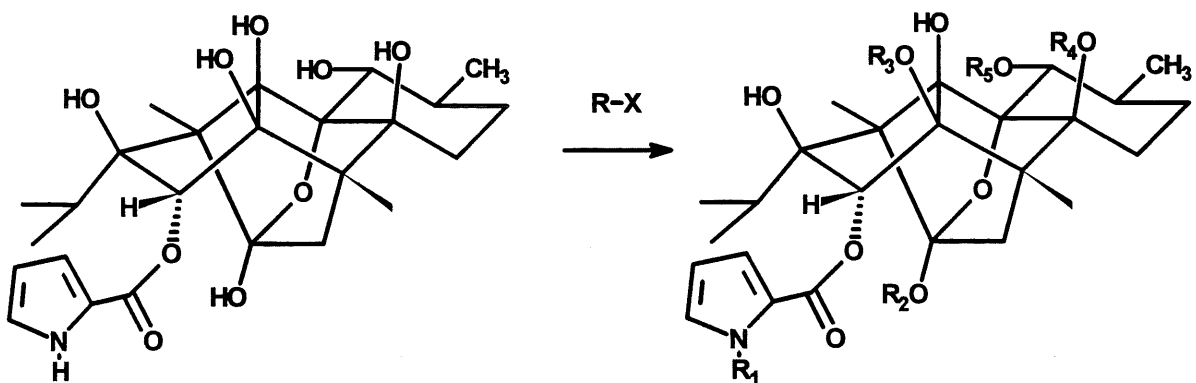
produire des analogues de la ryanodine. Ainsi, les dérivés thioéthers **100**, **101**, **102** et **103** ont été obtenus (26) par addition de radicaux formés soit par le mercaptoéthanol, le 4-mercaptobutanol, le propanethiol ou le t-butylthiol, sur le composé **2** (schéma 9). Les produits **100** et **101** furent par la suite modifiés pour donner les dérivés 4-azidobenzoyl **104**, **105** et le 3,3,3-trifluoro-2-diazopropionyl **106**. L'isomérisation de la double liaison exocyclique 9,21 en position 8,9 peut être effectuée de deux façons (schéma 10). Tout d'abord, l'oxydation dans des conditions de Swern (28) de l'alcool en position 10 de la 9,21-didéhydroryanodine (**10**) conduit directement à la 8,9-didéhydro-10-oxoryanodine (**107**). Aussi, lorsque la 9,21-didéhydroryanodine (**2**) est traitée par du palladium 10% sur charbon dans le xylène à reflux (27), on obtient le produit insaturé **108**. Par époxydation, ce dernier conduit aux époxydes α et β **109** et **110** qui par ouverture régiosélective avec l'azidure de sodium donnent les 8-azido-9-hydroxyryanodines **111** et **112** correspondantes. La réduction catalytique de ces composés conduit aux dérivés aminoalcool **113** et **114**.

Nos travaux s'inscrivent dans le cadre des travaux entrepris dans notre laboratoire sur l'étude de l'importance des facteurs stériques et polaires présents dans les ryanoides sur leur affinité au site récepteur de la ryanodine. Le problème était de trouver des voies chimiques permettant l'accès aux différentes positions du cycle A de la molécule afin de continuer l'étude rationnelle des relations structure-activité. En effet, les diverses modifications que nous venons de décrire représentent une étude structurale reliée aux cycles C et B avec les accès aux positions 8, 9, 10, 21 ainsi que 4 et 12. Notre étude visait donc les positions 2 et 3 ainsi que les méthyles du cycle A, c'est-à-dire les carbones 17, 18 et 19. Comme nous le verrons, la nature nous a fourni des composés nous donnant un accès direct aux positions 18 et 19. Par ailleurs, nous avons modifié chimiquement les niveaux d'oxydation des positions 2, 3 et 17, ce qui nous a conduits à la synthèse de deux produits naturels, le cinnzeylanol et la cinnzeylanine, ainsi qu'à plusieurs autres composés intéressants dans le cadre général de l'étude entreprise.



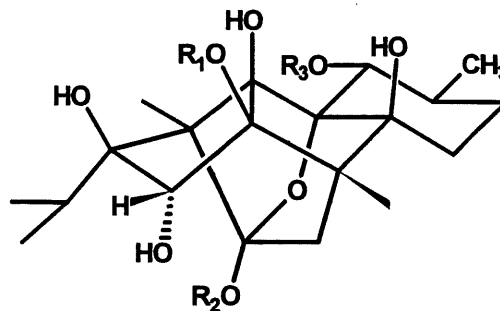
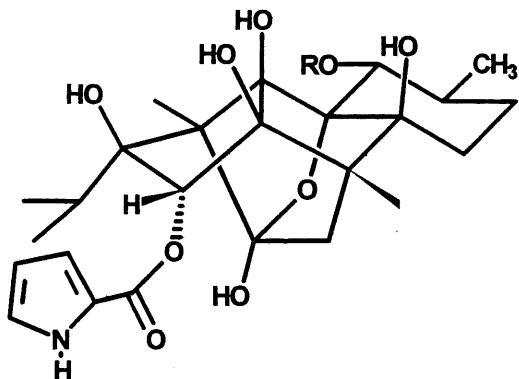
Conditions de réaction: a: O₃, CH₃CN

Schéma 6



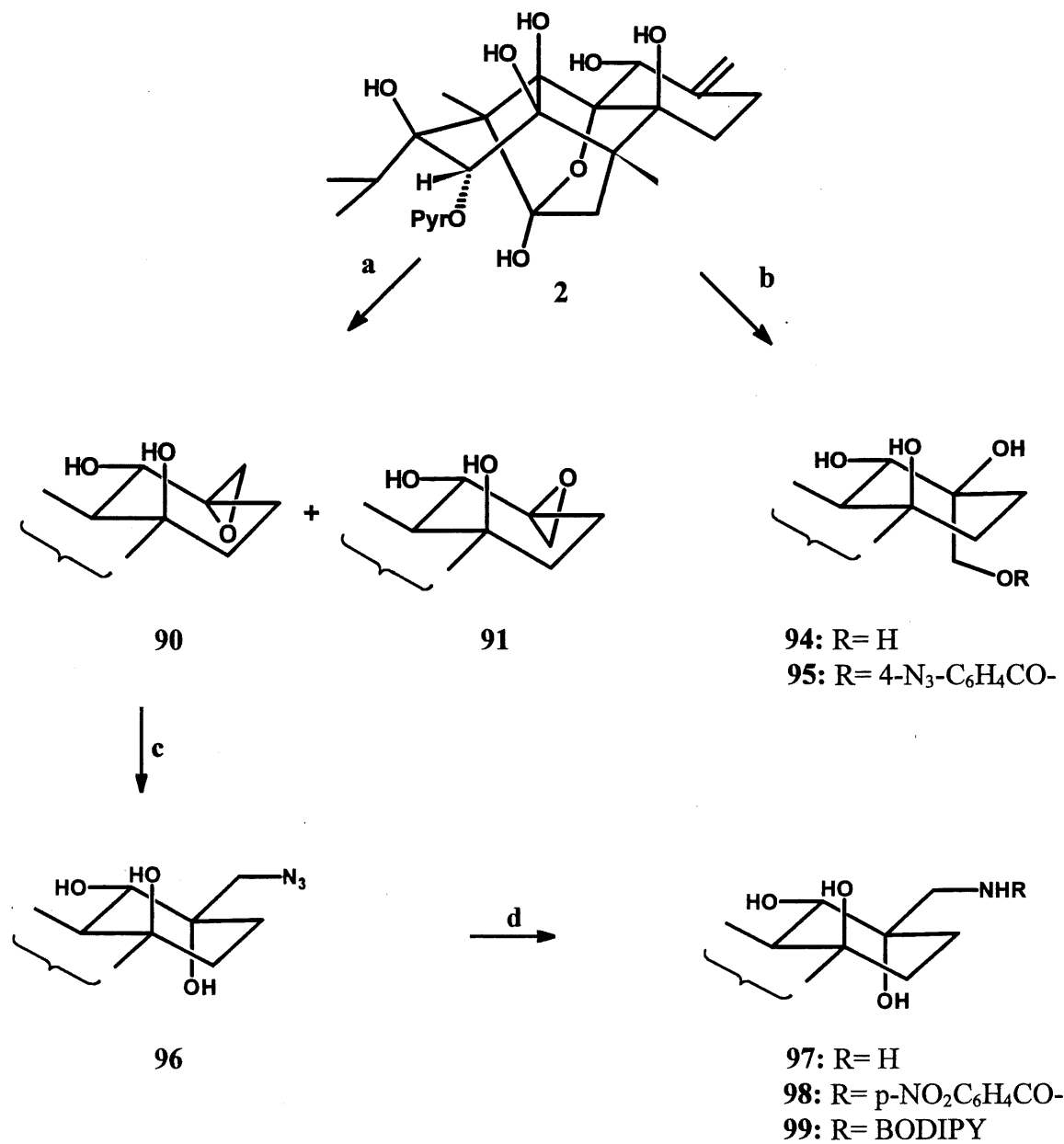
- 60:** R₁= n-C₄H₉; R₂= R₃= R₄= R₅= H
- 61:** R₁= C₆H₅CH₂-; R₂= R₃= R₄= R₅= H
- 62:** R₁= R₂= CH₃; R₃= R₄= R₅= H
- 63:** R₁= R₂= R₃= CH₃; R₄= R₅= H
- 64:** R₁= R₂= R₄= CH₃; R₃= R₅= H
- 65:** R₁= R₂= R₃= R₅= CH₃; R₄= H

Schéma 7



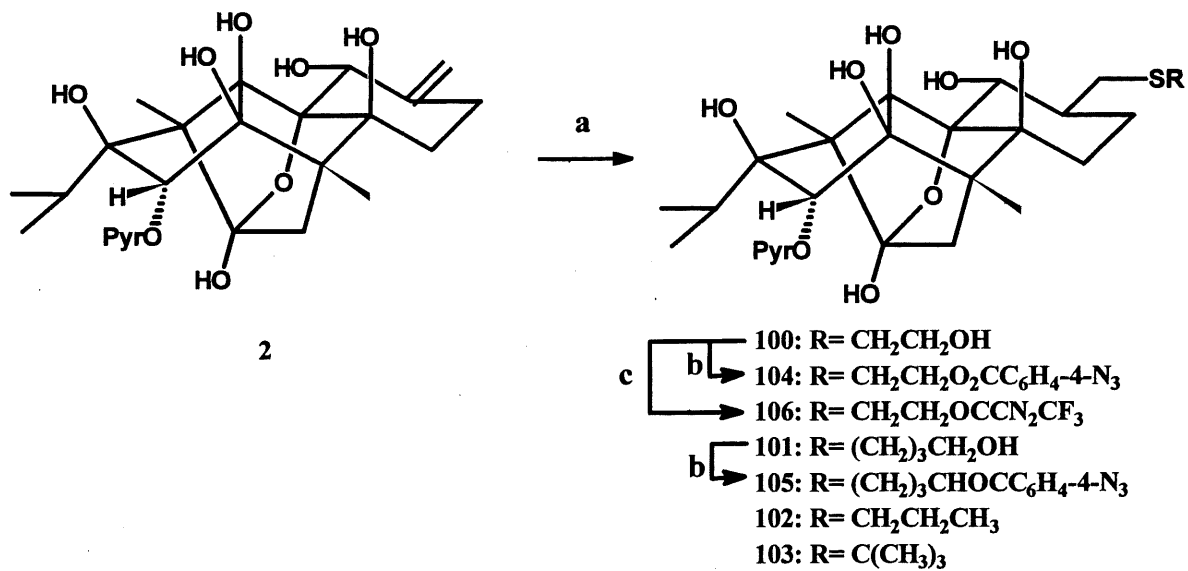
- 66:** R= CH₃CO-
67: R= CBZ $\overline{\text{N}}$ HCH₂CO-
68: R= CBZ $\overline{\text{N}}$ HCH₂CH₂CO-
69: R= CBZ $\overline{\text{N}}$ H $\overline{\text{C}}$ (=NCBZ) $\overline{\text{N}}$ HCH₂CO-
70: R= CBZ $\overline{\text{N}}$ H $\overline{\text{C}}$ (=NCBZ) $\overline{\text{N}}$ HCH₂CH₂CO-
71: R= NH₂CH₂CO-
72: R= NH₂CH₂CH₂CO-
73: R= 4-N₃-C₆H₄CONHCH₂CH₂CO-
74: R= 2-NO₂-5-N₃-C₆H₄CONHCH₂CH₂CO-
75: R= 4-C₆H₅CO-C₆H₄CONHCH₂CH₂CO-
76: R= NH₂C(=NH) $\overline{\text{N}}$ HCH₂CO-
77: R= NH₂C(=NH) $\overline{\text{N}}$ HCH₂CH₂CO-
78: R= HO₂CCH₂CH₂CO-
79: R= CH₃NHCOCH₂CH₂CO-
- 80:** R₁ =R₂= H; R₃= CBZ $\overline{\text{N}}$ HCH₂CO-
81: R₁ =R₂= H; R₃= CBZ $\overline{\text{N}}$ HCH₂CH₂CO-
82: R₁ =R₂= H; R₃= NH₂CH₂CO-
83: R₁ =R₂= H; R₃= NH₂CH₂CH₂CO-
84: R₁ =R₂= C₆H₅CH₂-; R₃= H
85: R₁ =R₂= C₆H₅CH₂-; R₃= CH₃CO-
86: R₁ =R₂= C₆H₅CH₂-; R₃= C₆H₅CO-
87: R₁ =R₂= H; R₃= CH₃CO-
88: R₁ =R₂= H; R₃= C₆H₅CO-
89: R₁ =R₂= H; R₃= Pyridine-3-carbonyl-

Figure 4: Différents dérivés de la ryanodine et du ryanodol.



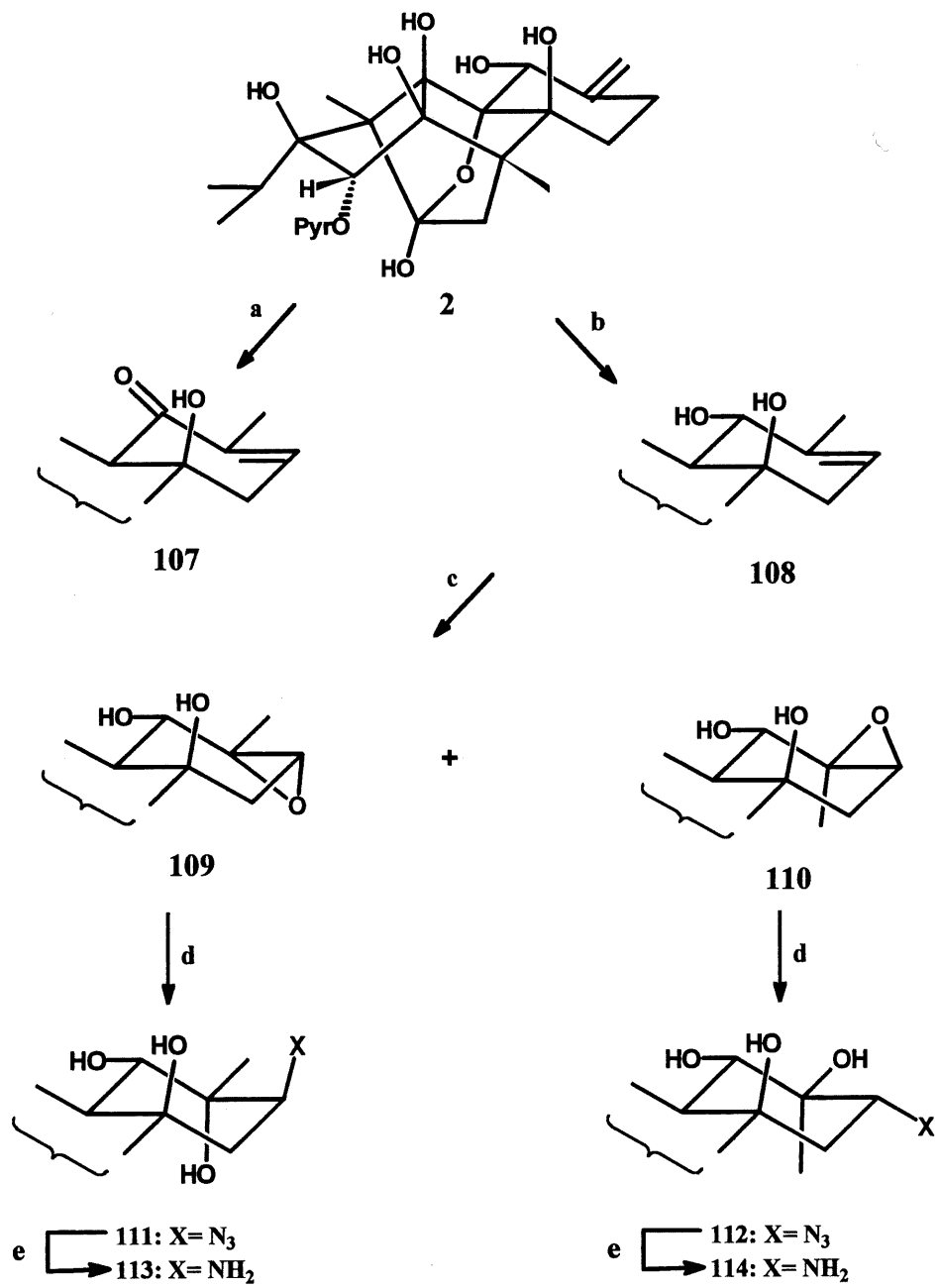
Conditions de réactions: a: CF₃CO₃H, (CH₂Cl)₂, NaHCO₃; b: OsO₄, THF, H₂O; c: NaN₃, CH₃OCH₂CH₂OH; d: H₂, Pd, EtOH

Schéma 8



Conditions de réactions: a: RSH, AIBN, THF, (Bu₃Sn)₂O; b: acide 4-azido benzoïque, THF, DCC, DMAP; c: chlorure de 3,3,3-trifluoro-2-diazopropionyl, THF, pyridine

Schéma 9



Conditions de réactions: a: DMSO, ClCOCOCl; b: Pd, xylène; c: CF₃CO₃H, NaHCO₃, (CH₂Cl)₂; d: NaN₃, CH₃OCH₂CH₂OH; e: H₂, Pd, EtOH

Schéma 10

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. PRODUITS NATURELS: Identification de cinq nouveaux ryanoides

Comme nous l'avons vu précédemment, la synthèse du squelette carboné des ryanoides est complexe (6). Donc, pour les besoins de notre étude, le matériel de départ utilisé sera constitué des différents ryanoides que l'on retrouve dans l'arbuste *Ryania speciosa* Vahl. La méthode d'extraction utilisée est celle décrite par Rogers (3) comportant quelques modifications. La poudre de *Ryania speciosa* Vahl (Agri-system) est mouillée avec de l'eau distillée. La pâte ainsi obtenue est placée dans un extracteur et extraite avec du chloroforme sur une période de 10 jours. Le volume de solvant est par la suite réduit au cinquième et l'extrait est fractionné entre le chloroforme et l'eau. La phase aqueuse est ensuite saturée avec du chlorure de sodium et extraite avec de l'acétate d'éthyle. Après séchage et évaporation du solvant, on obtient un extrait solide très riche en ryanoides.

Une première séparation est effectuée sur colonne de gel de silice avec un mélange de chloroforme et de méthanol comme éluant. L'extrait est ainsi fractionné en trois parties. La première contient les produits moins polaires que la ryanodine, incluant les ryanoides connus comme les différents esters A (23), B (25), C1 (21), C2 (28), D (26) et G (22) (figure 1) (9, 11).

La fraction intermédiaire contient majoritairement la 9,21-didéhydroryanodine (2) et la ryanodine (1). Cette fraction est recristallisée à deux reprises dans un mélange d'acétone et d'hexane pour nous donner un solide contenant la 9,21-didéhydroryanodine et la ryanodine dans un rapport d'environ 60:40. Ces deux ryanoides majeurs peuvent être séparés sur plaque de gel de silice avec un éluant constitué de chloroforme, de méthanol et de méthylamine

aqueuse (11). Par contre, l'utilisation de la technique de CLHP avec une colonne phase inverse C18 et un éluant constitué d'eau et de méthanol dans un rapport 3:2 s'avère la méthode de choix pour la purification de ces deux constituants. La ryanodine (**1**) ainsi purifiée a été cristallisée et sa structure analysée par diffraction de rayons X (voir figure 5). Au cours de la séparation par CLHP des eaux mères récupérées lors des étapes de recristallisations, nous avons constaté que ces dernières contiennent majoritairement la 9,21-didéhydroryanodine et la ryanodine, mais également des produits de polarité similaire comme les esters D (**26**) (11, 13) et F (**27**) (12, 14), la 9-hydroxyryanodine (**19**) (14) et un produit inconnu ayant un temps de rétention intermédiaire entre la 9-hydroxyryanodine et la 9,21-didéhydroryanodine. Le spectre RMN de ce nouveau produit diffère du spectre de la ryanodine en ce sens que l'on remarque l'absence d'un méthyle doublet. Par découplage sélectif on constate que le signal manquant est celui du méthyle en position 9. De plus, le proton en position 10 ne subit aucun couplage et on retrouve un motif de type AB situé à 2.55 ppm. La masse de ce produit est 507, ce qui correspond à la 9,21-didéhydroryanodine possédant un atome d'oxygène supplémentaire. Nous sommes donc venus à la conclusion qu'il s'agissait de la 9,21-époxyryanodine et par comparaison avec les spectres des époxydes synthétiques (**27**) **90** et **91** (schéma 8) obtenus auparavant nous sommes venus à la conclusion qu'il s'agissait de l'isomère α **90**. Ce produit est probablement le précurseur biologique de la 9-hydroxyryanodine.

Nous avons également remarqué que la ryanodine obtenue lors de la purification de ce mélange contient un composé de polarité identique. En effet, le spectre RMN proton révèle la présence d'un produit qui est relié aux ryanoides mais dont le groupement pyrrole-2-carbonyle est remplacé par un groupement benzoyle. Toutes nos tentatives de séparer ce nouveau composé de la ryanodine par les méthodes usuelles (plaque de gel de silice, CLHP, cristallisation) sont demeurées sans résultats. Tout au plus, nous avons réussi à enrichir l'inconnu dans les eaux mères en cristallisant la ryanodine dans un mélange d'acétone et d'hexane. Nous avons

finalement exploité la réactivité du groupement pyrrole de la ryanodine face à l'ozone (10) pour transformer celle-ci en produits de polarités différentes et laisser inchangé le produit inconnu qui peut être maintenant aisément purifié sur plaque de gel de silice. Les études de spectrométrie de masse nous informent que le nouveau composé (ou un de ses fragments), possède une masse de 502. Puisque toutes tentatives de cristalliser le produit sont demeurées vaines, la structure du produit est déduite par RMN de proton. Dans la région des aromatiques, on remarque la présence de cinq protons appartenant à un groupement phényle relié à un carbonyle. À environ 3.90 ppm, nous remarquons la présence d'un motif mal défini, qui intègre pour deux protons, et l'absence d'un des trois méthyles secondaire habituels. De plus, on remarque que le proton sur le carbone 13 est affecté et qu'il ne donne plus l'heptuplet habituel mais un motif plus complexe. A partir des études de RMN en 2 dimensions nous apprenons que le doublet situé à 0.88 ppm est attribuable au méthyle situé en position 19 et que le signal à 3.91 ppm est couplé avec le signal du proton en position 13. A la lumière de ces données, il est possible de postuler que le produit est le 18-hydroxy-3-O-benzoylryanodol (115). L'attribution de la stéréochimie sur l'isopropyle sera justifiée plus loin dans le texte.

La troisième fraction contient les produits plus polaires que la 9,21-déhydroryanodine (2). Dans ce mélange, nous avons isolé l'ester F (27) dont nous avons confirmé la structure par diffraction de rayons X (figure 5), la 9-hydroxyryanodine (19) et trois autres produits qui nous étaient inconnus. Les deux produits de moindre polarité nous donnent exactement le même spectre de masse et ne diffèrent que par deux éléments au niveau de leur spectre RMN de proton. Le moins polaire des deux possède un méthylène montrant un motif ABX situé à 3.90 ppm et un méthyle secondaire à 0.90 ppm. Le second comporte les mêmes motifs, mais ceux-ci ont des déplacements différents. En effet, on retrouve cette fois-ci le méthylène ABX à 3.45 ppm et le doublet du méthyle à 1.27 ppm. L'un de ces produit à déjà été rapporté par Casida et ses collaborateurs en 1987 (10) comme étant la 18-hydroxyryanodine (20). La description du

spectre rapporté par ces derniers correspond au spectre de notre produit le plus polaire. Nous avons donc voulu nous assurer de la stéréochimie du carbone 13 en cristallisant ce ryanolide et analysant sa diffraction de rayons X (figure 5). Les résultats obtenus nous démontrent que ce produit est en fait la 19-hydroxyryanodine (**116**) (figure 6). Par conséquent, le produit le moins polaire est la 18-hydroxyryanodine (**20**). Grâce à ces informations très utiles, il nous est maintenant possible d'expliquer les différences spectrales observées. En effet, dans le cas de la 18-hydroxyryanodine (**20**), le méthyle en position 19 se retrouve dans le cône de blindage du pyrrole, ce qui explique son déplacement chimique à 0.90 ppm, tandis que le méthylène porteur de l'hydroxyle n'est pas affecté. Par contre, on observe la situation inverse pour la 19-hydroxyryanodine (**119**) alors qu'on retrouve le méthylène dans le cône de blindage du cycle aromatique et le méthyle à sa position normale. Finalement le troisième produit polaire est identifié comme étant la 18-hydroxy-9,21-didéhydroryanodine (**117**), et cela grâce aux arguments apportés plus hauts.

Maintenant, en utilisant adéquatement les renseignements recueillis avec l'analyse précédente, il nous a été possible d'assigner la stéréochimie en C13 du benzoate **115**. On observe que le méthyle doublet en position 13 se retrouve à haut champ et que le méthylène porteur de l'hydroxyle ne subit aucun blindage. Ces données nous montrent clairement que le benzoate **115** est hydroxylé en position 18.

L'accès sélectif aux positions 18 et 19 de la ryanodine par l'intermédiaire de ces composés naturels **20**, **115**, **116** et **117**, nous a permis de façon préliminaire de synthétiser quelques dérivés en ces positions comme nous le verrons plus loin au chapitre 3.

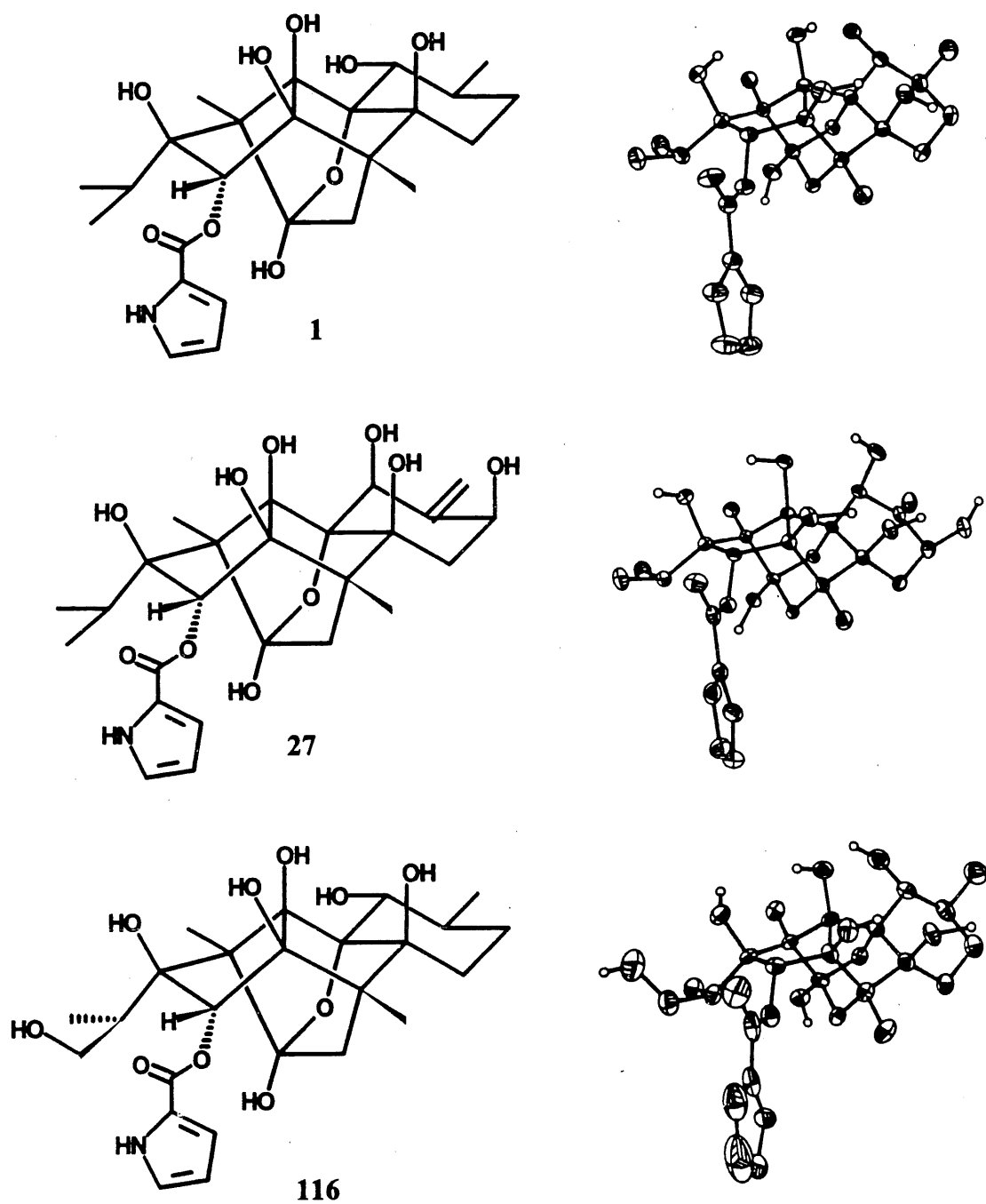
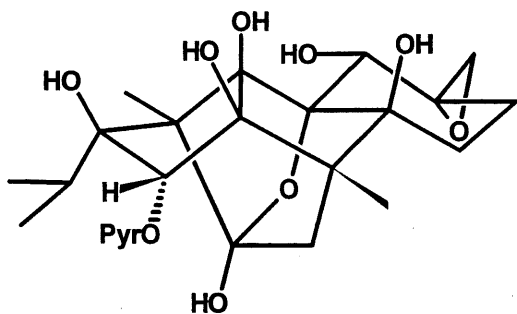
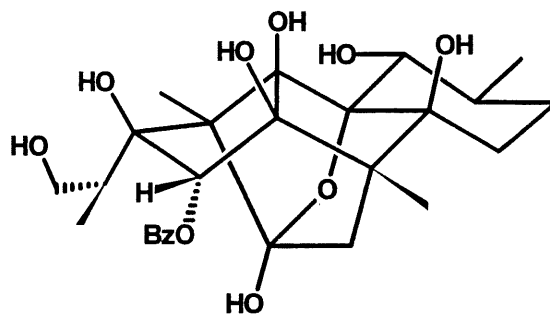


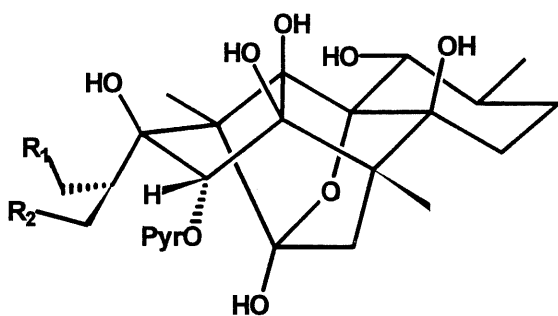
Figure 5: Représentation ORTEP des produits cristallins 1, 27 et 116.



90: 9,21 α -époxyryanodine

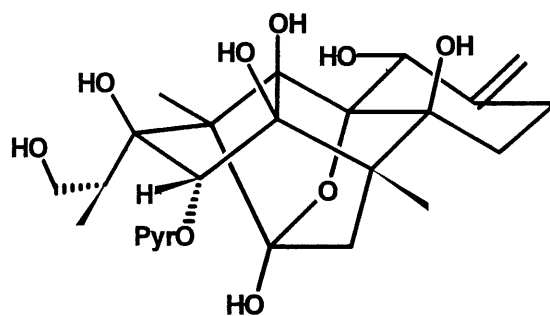


115: 18-hydroxy-3-O-benzoylryanodol



20: R₁= OH; R₂= H: 18-hydroxyryanodine

116: R₁= H; R₂= OH: 19-hydroxyryanodine



117: 18-hydroxy-9,21-didéhydroryanodine

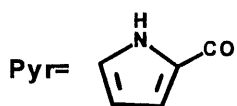


Figure 6: Structures de cinq nouveaux ryanoides naturels.

2. MODIFICATION DU CYCLE A

Des travaux récemment menés par Jefferies (23) sur la modification du diol cis en position 4,12 de la ryanodine tendent à démontrer que la polarité et la dimension des groupements en ces positions sont des éléments importants pour l'affinité au site récepteur. De plus, d'après les données recueillies à l'aide des divers ryanoides naturels et synthétiques, il semble que de légères modifications au niveau du cycle C influencent grandement l'affinité de ces dérivés. Dans le cadre de notre étude portant sur l'évaluation des facteurs polaires importants pour l'activité biologique des ryanoides, il semble donc tout indiqué de mettre au point des moyens chimiques de modifier le caractère hydrophile des ryanoides, en particulier au niveau des positions 2, 3 et 17, positions qui n'ont été que très peu étudiées précédemment.

La synthèse de la 3-épiryanodine (18) (7), comporte la formation d'un intermédiaire très intéressant qui peut être utilisé comme point de départ pour effectuer certaines modifications au niveau du cycle A. Ce composé, le $\Delta^{2,3}$ -2,3-didéoxyryanodol (15) (schéma 5) est obtenu en une étape à partir de l'anhydroryanodine ou de l'anhydroryanodol. La grande particularité de ce dernier composé est sa réactivité vis-à-vis l'attaque d'un électrophile en position 3. Cette grande réactivité provient principalement du relâchement de tension de cycle occasionné par le bris de la liaison entre le carbone 1 et le carbone 15. Nous avons exploité cette réactivité dans la synthèse suivante.

-Synthèse du cinnzeylanol (32) et de la cinnzeylanine (33)

Nous avons trouvé qu'en traitant le composé 15 avec de l'acide sulfurique concentré dans le méthanol à reflux, on obtient l'anhydrocinnzeylanol (17), qui est en fait le 3-déoxyanhydroryanodol (118) provenant de l'addition d'un proton en position 3 et de

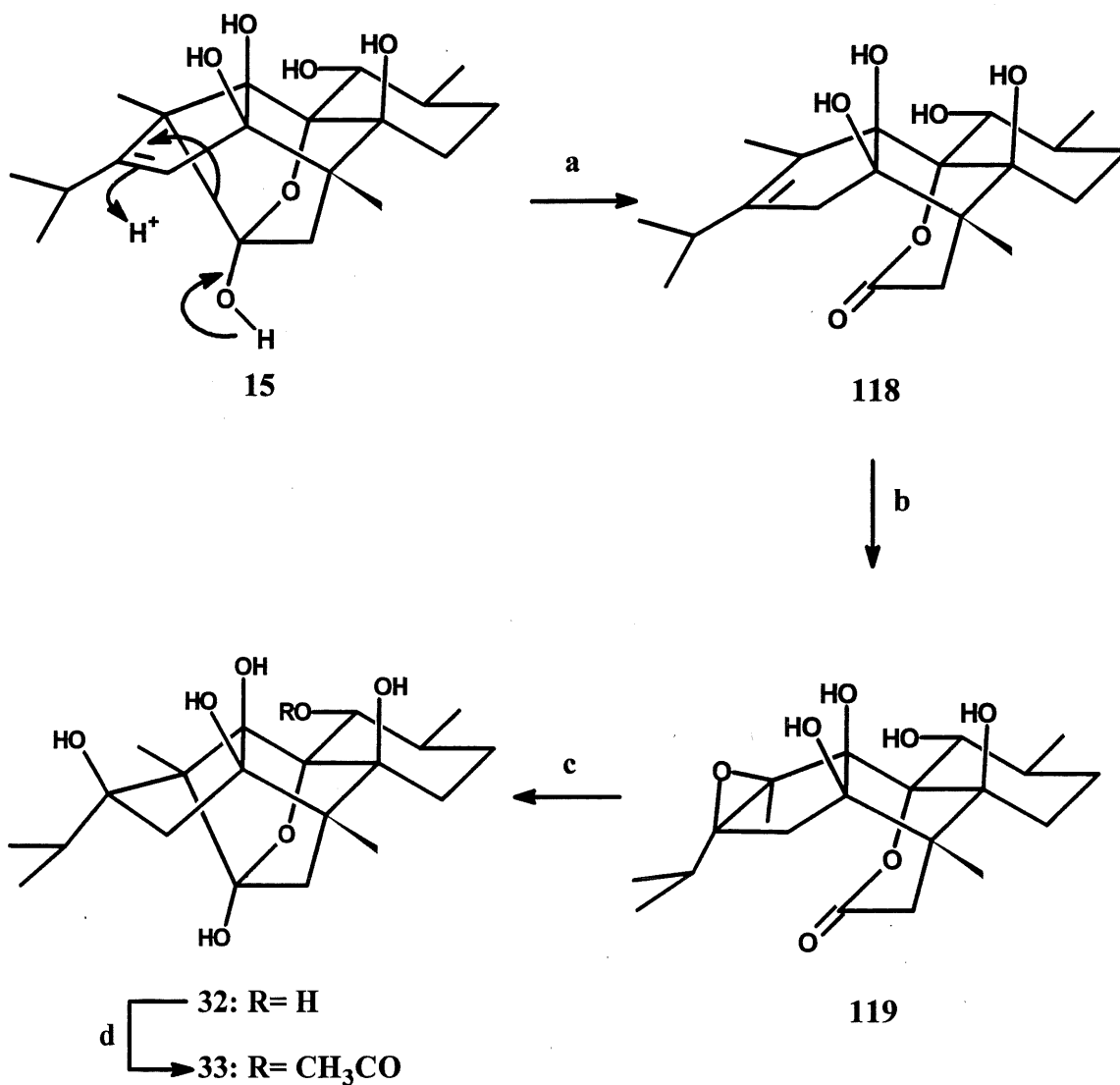
l'ouverture bien connue (4) de la fonction hémiacétal (schéma 11). L'époxydation de **118** avec l'acide trifluoroperacétique (7) nous donne le 1,2-époxy-3-déoxyanhydroryanodol (**119**) et ce dernier subit une cyclisation réductive par le lithium dans l'ammoniac à - 78°C pour donner le 3-déoxyryanodol (**32**), aussi appelé cinnzeylanol (16). La structure de ce produit a été confirmée par diffraction de rayons X (figure 7). L'acétylation de l'alcool secondaire en position 10 du cinnzeylanol (**32**) dans des conditions classiques a donné la cinnzeylanine (**33**), accompagné des produits de déshydratation (série anhydro). Ces dernières étapes représentent la première synthèse connue de ces produits naturels isolés de la cannelle (16, 17), et de la plante *Persea indica* (18).

-Synthèse du 2,3-didéoxyryanodol (120)

Lorsque l'anhydrocinnzeylanol (**118**) est traité dans les conditions réductrices décrites plus haut, on obtient un produit unique déoxygené en position 2 (schéma 12). Puisque la stéréochimie en position 2 de ce composé est difficile à déterminer par RMN de protons, nous avons profité de l'aisance avec laquelle il forme de beaux cristaux pour en faire l'étude par diffraction des rayons X (figure 7). Du point de vue mécanisme, on peut invoquer une attaque de la double liaison non-activée par le radical anion formé au carbonyle de la lactone et la réduction rapide de l'intermédiaire **118A** pour donner l'anion alkyle très basique **118B**, suivie de la protonation au dépens de l'ammoniac par la face la moins encombrée de ce dernier. Il serait intéressant d'étudier plus en profondeur cette hypothèse de mécanisme. Ainsi ce composé représente un dérivé qui comporte une modification majeure de la face hydrophile de la ryanodine et du ryanodol.

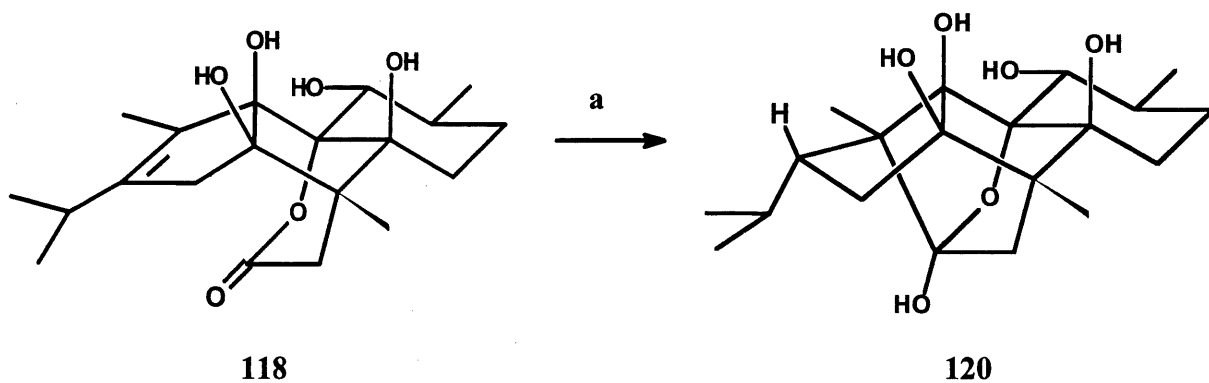
-Synthèse de la 2-déoxy-3-épiryanodine (124)

L'alcool allylique en position 3 de l'anhydroryanodol (**10**) est facilement oxydable sélectivement en présence de l'alcool secondaire en position 10. Cette réaction a déjà été réalisée par Deslongchamps et ses collaborateurs lors de la synthèse totale du ryanodol (**6**). Nous avons répété cette oxydation avec le dioxyde de manganèse activé dans le chloroforme à la température ambiante pour obtenir la cétone α,β -insaturée **121**. L'énone ainsi obtenue est ensuite traitée directement dans le milieu réducteur lithium-ammoniac pour donner un produit contenant un groupement hydroxyle en position 3 et déoxygéné en position 2: en effet, l'étude du spectre RMN de proton montre que le proton en position 3 forme un doublet. La détermination de la stéréochimie n'étant pas claire, nous avons utilisé la diffraction de rayons X pour confirmer qu'il s'agit bien du 2-déoxy-3-épiryanodol (**122**) (figure 7). Pour expliquer la stéréochimie en position 2, on suppose que la protonation de l'énolate **121A** doit se faire par la face β celle-ci étant la moins encombrée, ce qui donne la cétone **121B**. Cette cétone est rapidement réduite dans les conditions réactionnelles pour donner l'alcool **122**. La stéréochimie «*exo*» de cet hydroxyle n'est pas surprenante car il est bien connu que la réduction «*chimique*» d'une cyclanone, en particulier une cyclohexanone, conduit normalement à l'alcool le plus stable (équatorial), ceci est sûrement valable dans le cas présent avec une cyclopentanone. De plus, nous sommes en présence du produit le plus stable, c'est à dire celui dont les groupements en position 2 et 3 sont «*anti*» l'un par rapport à l'autre. Cette hypothèse est appuyée par le résultat obtenu lors du traitement du 3-épihydroryanodol (**123**) disponible au laboratoire, dans les mêmes conditions réductrices qui nous donne l'alcène **15** bien connu et l'alcool **122** uniquement (schéma 14). L'estérification sélective (29) de la fonction alcool en position 3 du composé **122** avec l'acide 2-pyrrole carboxylique conduit à la 2-déoxy-3-épiryanodine (**124**).



Conditions de réaction: a: H₂SO₄, MeOH; b: CF₃CO₃H, NaHCO₃, (CH₂Cl₂)₂; c: Li, NH₃, -78°C; d: Ac₂O, THF, Et₃N, DMAP

Schéma 11



Conditions de réaction: a: Li, NH₃, -78°C

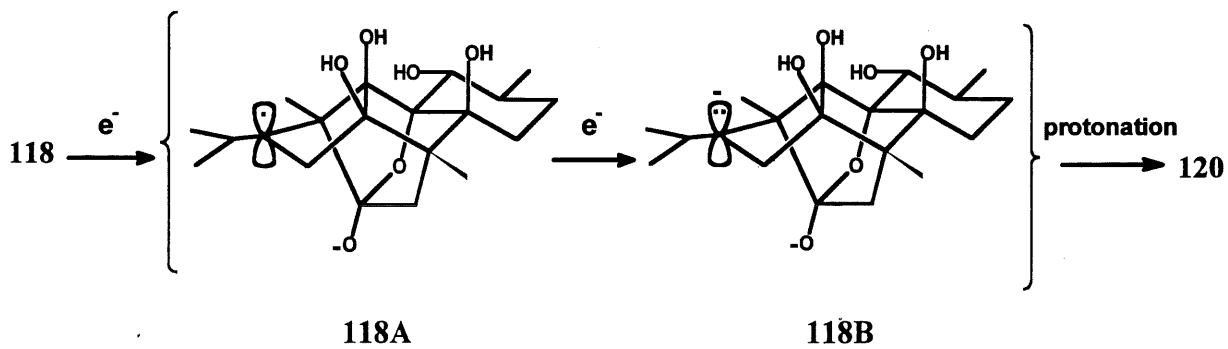


Schéma 12

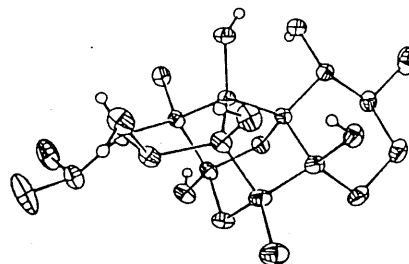
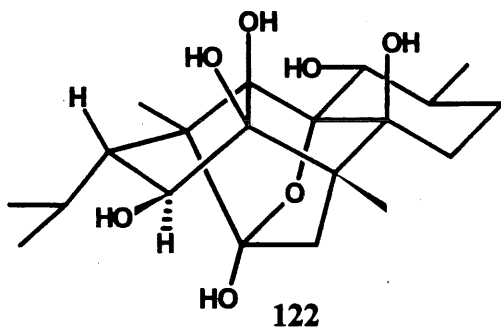
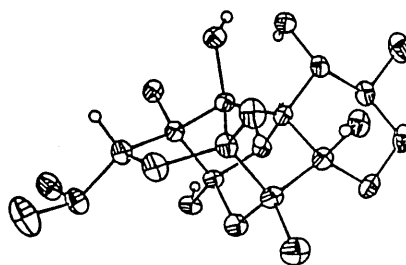
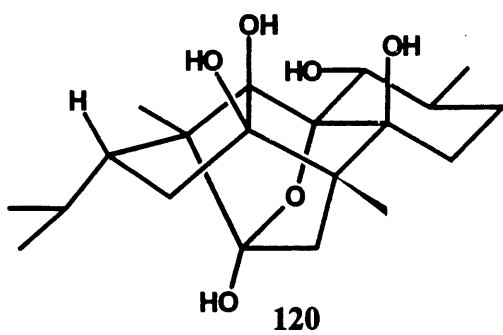
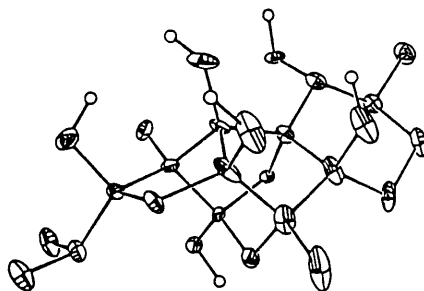
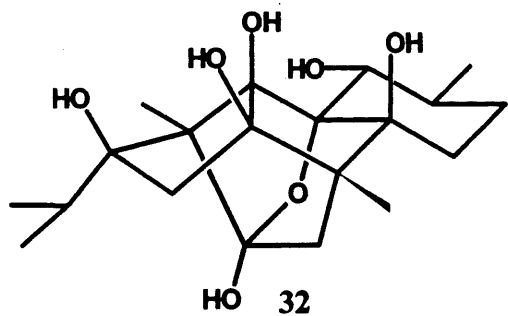
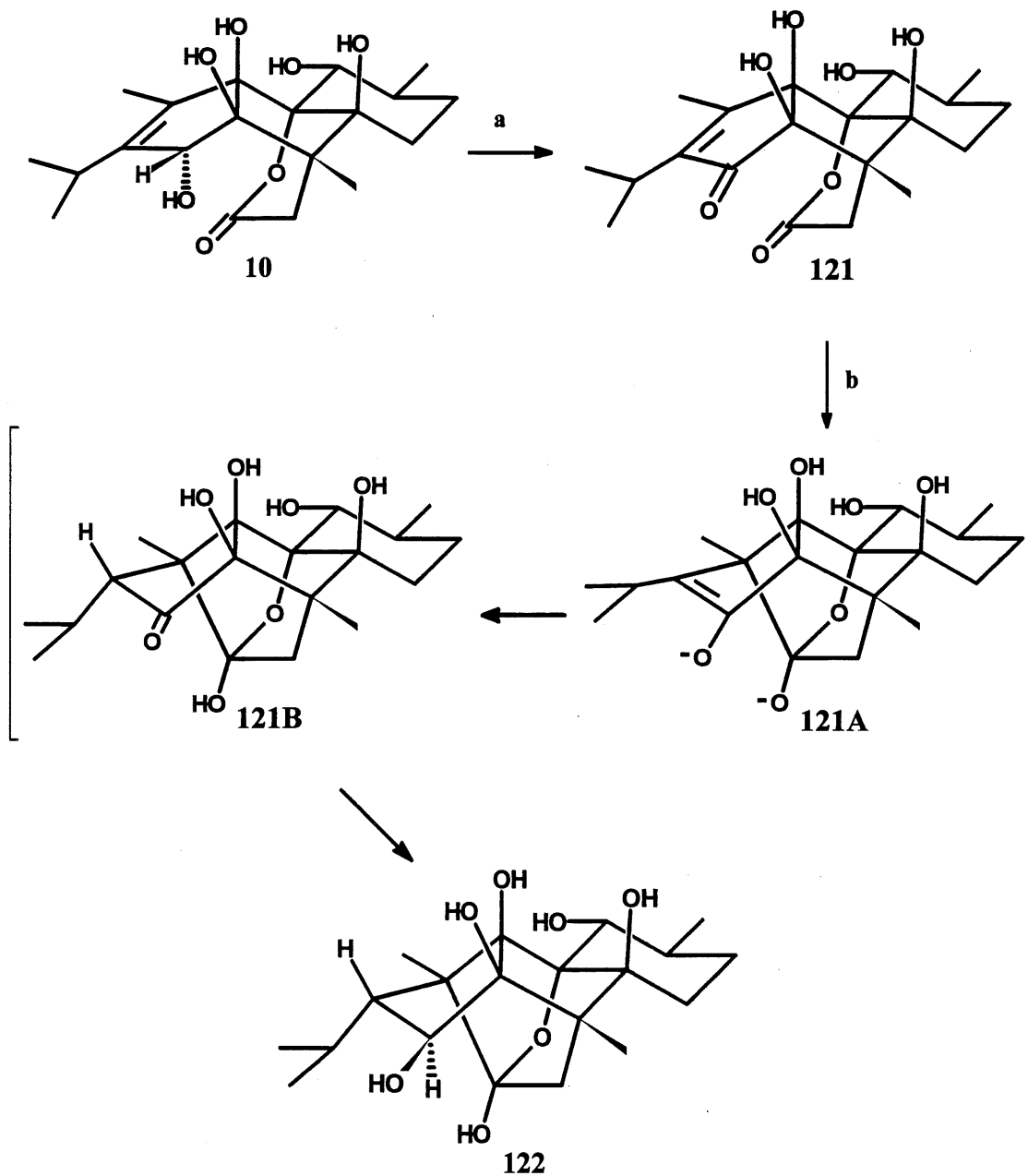
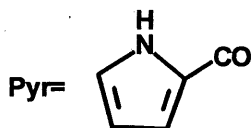
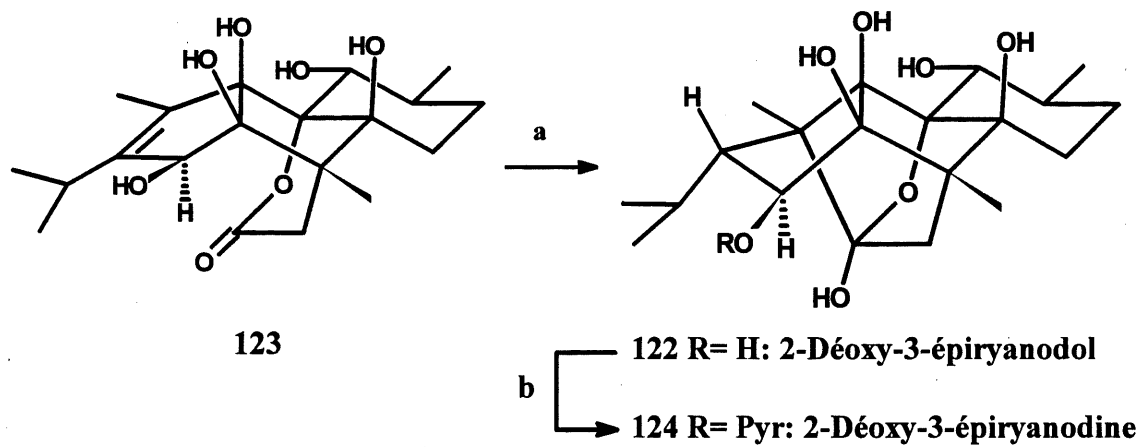


Figure 7: Représentation ORTEP des produits cristallins 32, 120 et 122.



Conditions de réaction: a: MnO_2 , CHCl_3 ; b: Li , NH_3 , -78°C

Schéma 13



Conditions de réaction a: Li, NH₃, -78°C b: acide 2-pyrrole carboxylique, DMF, Et₃N, DPPA

Schéma 14

-Synthèse du 2-Déoxyryanodol et du 2-épi-2-déoxyryanodol

Lorsque l'on traite l'anhydroryanodol ou l'anhydroryanodine par le lithium dissous dans l'ammoniac, on observe la formation de l'alcène **15** et de 2 produits secondaires plus polaires. Ces produits, de polarité et de masse identique se retrouvent en proportion égale et correspondent au mélange des épimères en position 2 du 2-déoxyryanodol **125** et **126** (schéma 15). La formation de ces composés est probablement attribuable à la présence d'une certaine quantité d'anhydroryanodol (**10**) dont l'hydroxyle en position 3 est déprotoné (le milieu réactionnel étant suffisamment basique pour générer un alkoxyde), celui-ci perdant ainsi sa qualité de groupe partant. Cet alkoxyde **10A** est réduit au radical anion **10B** rendant ainsi possible l'attaque de la double liaison non-activée pour conduire au radical **10C** qui est rapidement réduit à l'anion **10D**. En se basant sur les arguments stériques, cet espèce devrait normalement épimériser (voir **10E**) pour conduire principalement par protonation au dépens de l'ammoniac, au produit « anti » **126**. En effet, des calculs effectués à l'aide du programme MOPAC démontrent que la différence d'énergie entre les deux épimères est supérieure à 2 Kcal/mol en faveur du produit « anti » **126** (voir figure 8). On peut suggérer une explication à la présence du produit de géométrie « syn » **125** en si grande quantité en invoquant les arguments stéréoélectroniques. En effet, la délocalisation de la charge négative en C2 dans l'orbitale anti-liante de la liaison C-O en position 3 (de type $n-\sigma^*$), stabilise ainsi l'anion **10D** qui, par protonation conduit au 2-déoxyryanodol (**125**). Cet effet électronique n'est présent que dans ce cas précis, ce qui explique l'absence de produits analogues possédant les substituants « syn » en positions 2 et 3 lors des autres cas de cyclisation réductive présentés plus haut. Un seul des deux isomères **125** a été isolé par cristallisation et sa stéréochimie en position 2 a été déterminée par étude de diffraction de rayons X (figure 8). La structure de l'autre isomère **126** a été déduite par analyse du spectre RMN de proton effectué sur le mélange.

-Progrès vers la synthèse de ryanoïdes 17-hydroxylés

Dans le cadre de notre étude, nous avons cherché un moyen de fonctionnaliser le méthyle en position 1. Ainsi, l'oxydation allylique du méthyle sur la double liaison de l'anhydroryanodol (10) avec le dioxyde de sélénium pour donner 127 a échoué tout comme nos tentatives d'ouverture de la fonction oxirane du 1,2-époxyanhydroryanodol (11) pour conduire à l'alcool allylique 128 (schéma 16). Par contre, nous avons remarqué que lorsque l'on introduit un groupe partant en position 3 sur un produit ayant une structure de type anhydro 129, il est possible d'effectuer une élimination de type 1,4 transformant de cette façon le méthyle en méthylène. Suite à plusieurs essais décevants, nous avons finalement trouvé des conditions de réactions convenables pour la synthèse du produit 130. Celles-ci consistent à traiter l'alcène 15 dissous dans un mélange de THF et de 1,2-dichloroéthane par une solution de N-bromosuccinimide dans le 1,2-dichloroéthane (schéma 17). De cette façon, on obtient le diène 130 dont la structure a été confirmée par diffraction de rayons X (figure 9), avec un rendement satisfaisant (75%) et aussi une certaine quantité de 3-épianhydroryanodol (123) qui peut être recyclé en alcène 15 par traitement avec le lithium dans l'ammoniac. L'oxydation sélective du diène 130 avec l'acide trifluoroperacétique conduit à l'époxyde 1,17 131 qui subit la réduction par le lithium dissous dans l'ammoniac pour donner le 17-hydroxy- $\Delta^{2,3}$ -2,3-didéoxyryanodol (132). Malheureusement, toutes nos tentatives pour époxyder la double liaison du produit 132 ont échoué. Ce produit démontre une très grande sensibilité aux conditions acides ou basiques et perd une molécule d'eau dans les conditions d'oxydation habituelles pour redonner le produit 130 qui réagit pour donner l'époxyde 131. Nous avons donc tenté l'oxydation dans un milieu neutre avec le diméthyldioxirane (30) dans l'acétone: dans ces conditions, aucune réaction n'a été observée. Nous avons arrêté ici nos tentatives d'accès à la position 17. La route suivie semble logique d'après nos travaux précédents, mais il faudra peut-être revoir l'approche. Par contre, la formation du composé 132 a démontré que l'hydroxylation du carbone 17 est possible; la suite des opérations reste à mettre au point.

Dans le chapitre suivant nous décrirons la synthèse de différents analogues de la ryanodine qui mettent à profit certains éléments discutés dans les chapitres 1 et 2.

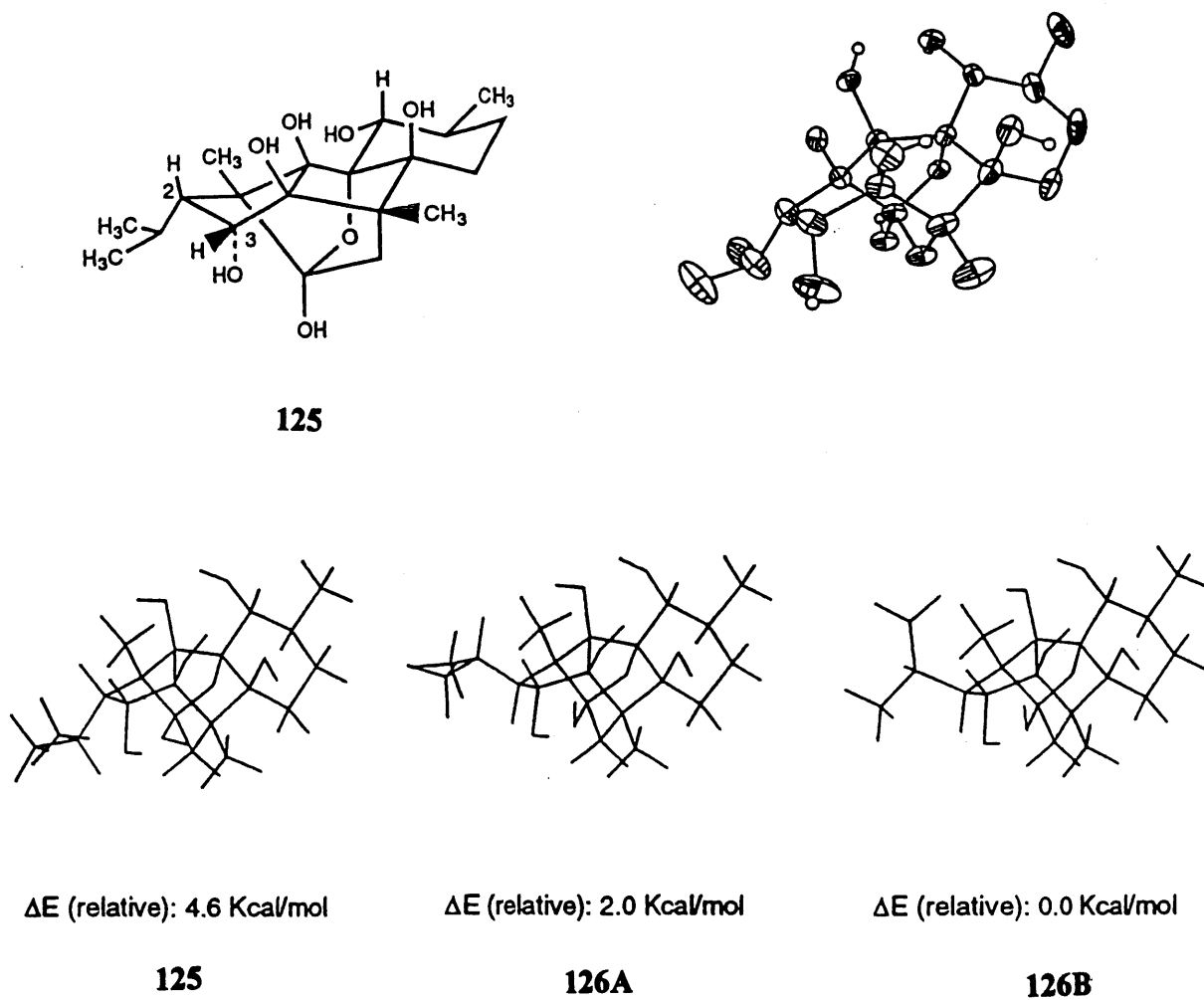


Figure 8: Vue ORTEP de 125 et représentation des conformations d'énergie minimum de 125 et 126. L'optimisation géométrique et les calculs d'énergie sont réalisés à l'aide du programme MOPAC par la méthode semiempirique AM1.

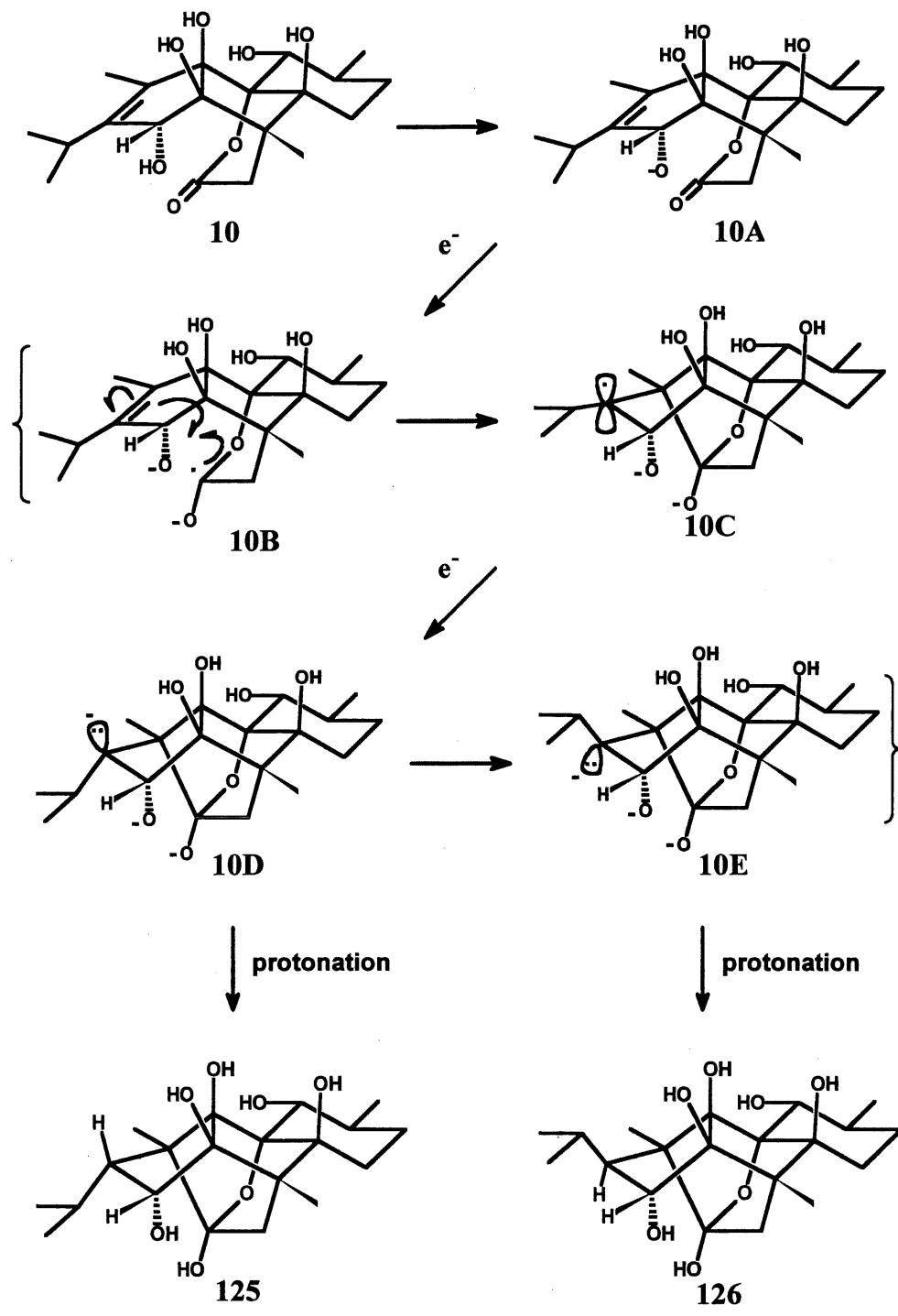


Schéma 15

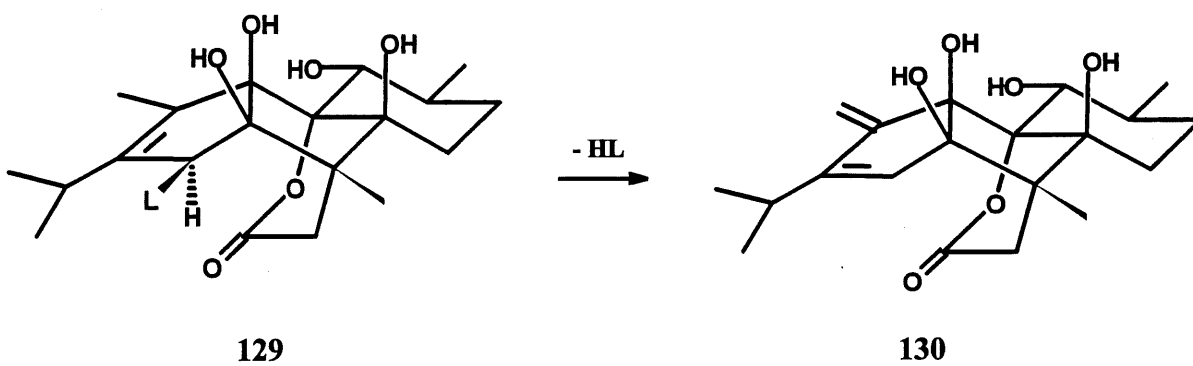
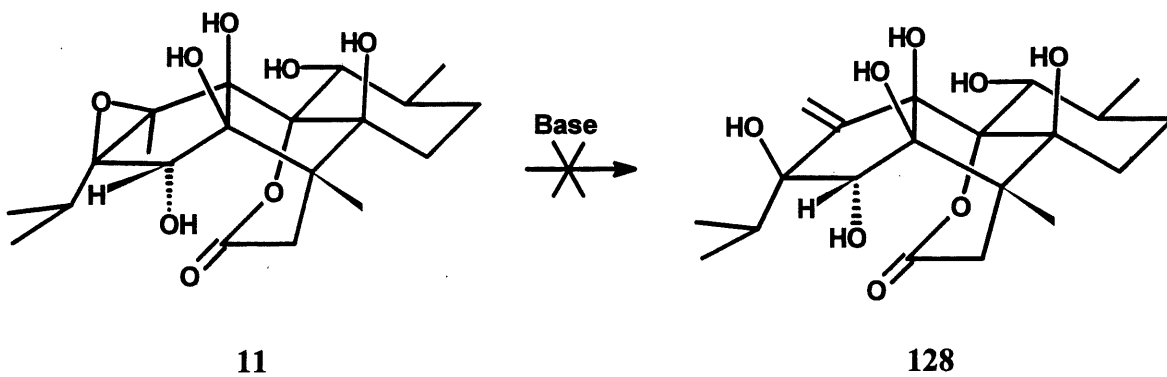
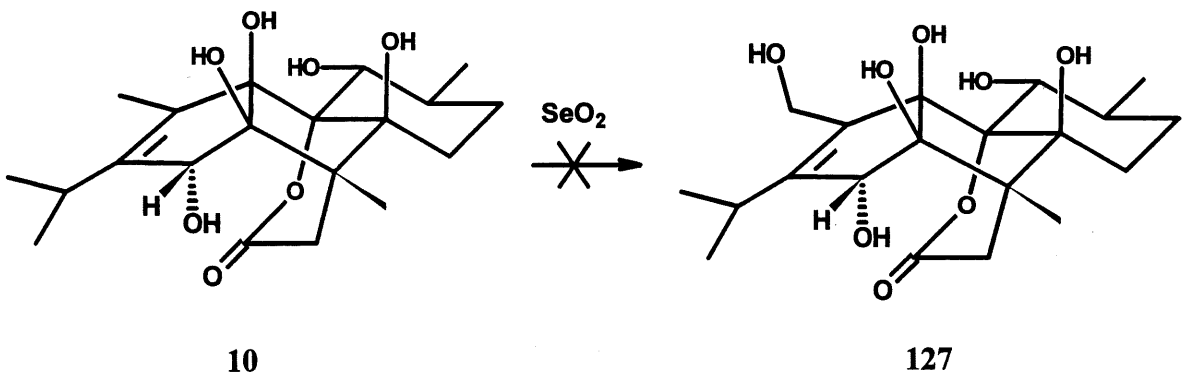
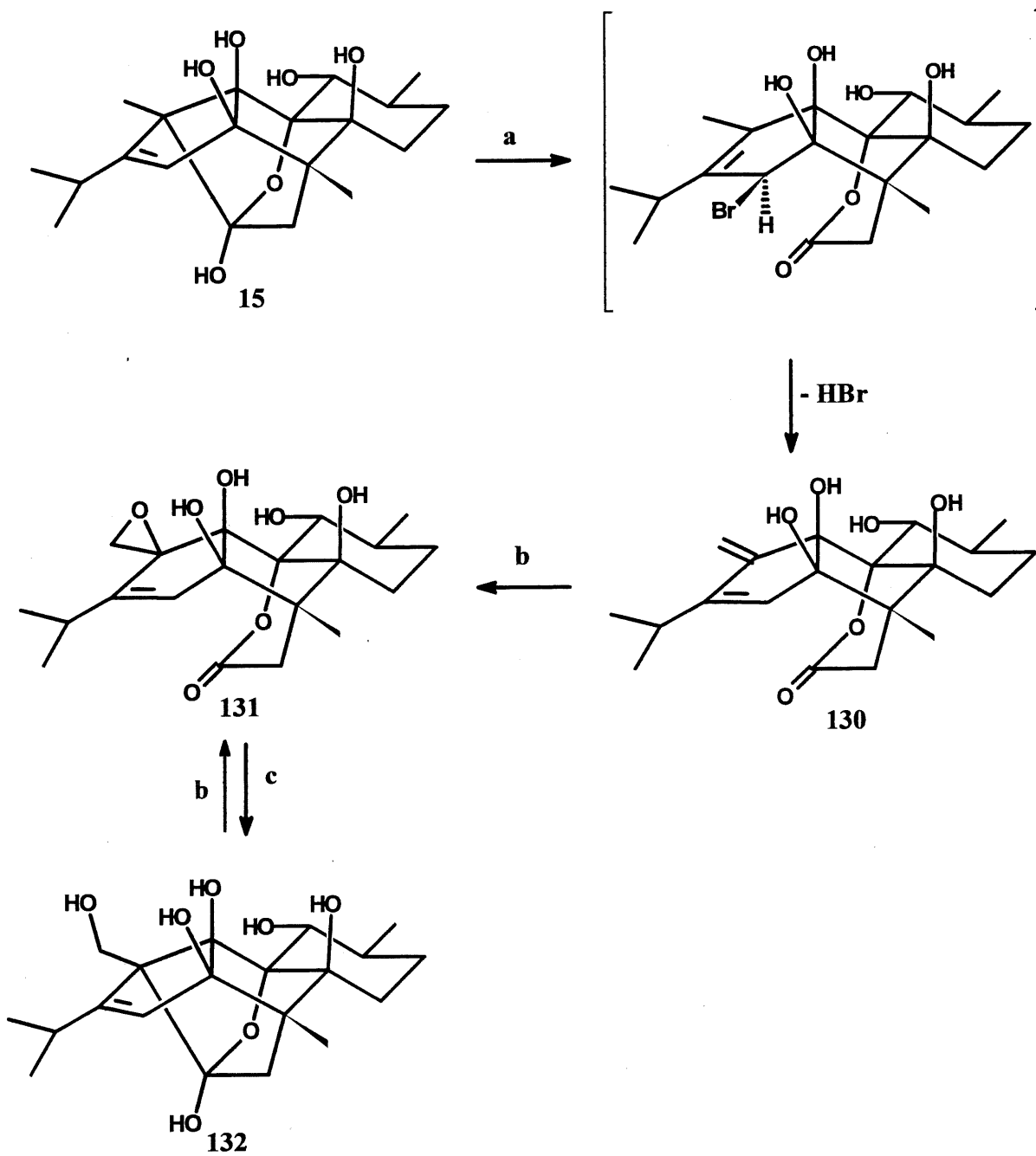


Schéma 16



Conditions de réaction: a: N-bromosuccinimide, NaHCO_3 , $(\text{CICH}_2)_2$, THF; b: $\text{CF}_3\text{CO}_3\text{H}$, NaHCO_3 , $(\text{CICH}_2)_2$; c: Li, NH_3 , -78°C .

Schéma 17

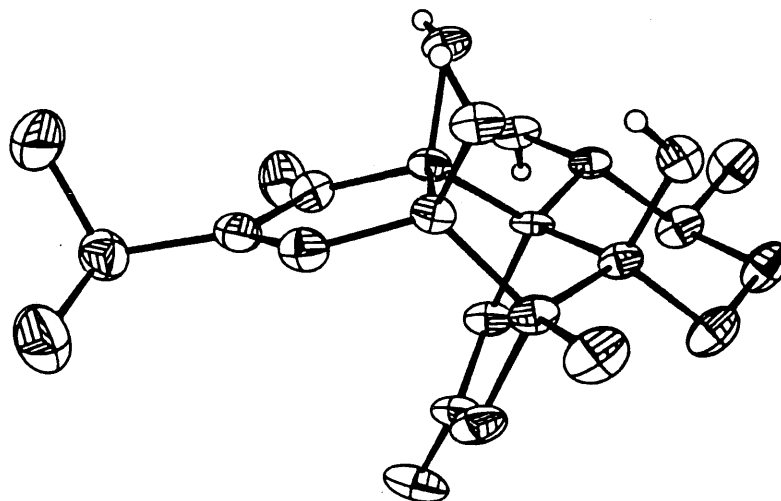


Figure 9: Représentation ORTEP du produit cristallin 130.

3. DÉRIVÉS

Certains résultats démontrent que la nature ainsi que l'orientation du groupement en positions 3 et 10 des ryanoides influencent de façon significative l'affinité de ceux-ci au site récepteur de la ryanodine (8-10, 14, 20, 24, 27). Pour fournir de nouvelles données expérimentales permettant une meilleure compréhension de l'influence des facteurs stériques et polaires sur l'activité biologique des ryanoides, nous avons utilisé certains produits naturels ainsi que les outils synthétiques développés pour réaliser la synthèse de quelques dérivés. Ces dérivés ont été obtenus par estérification sélective, réalisée à l'aide d'agents de couplage comme le dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (31) ou l'azidure de diphénylphosphoryle (DPPA) (29) qui servent à activer l'acide en rendant le carbonyle plus électrophile. L'utilisation du DCC a le désavantage de produire de la dicyclohexylurée qui est difficile à éliminer et qui cause certains problèmes au niveau de la purification. Ces deux réactifs se sont avérés complémentaires suivant l'acide carboxylique utilisé ou l'alcool à estérifier. Le choix des différents acides est basé sur des critères de polarité, d'hydrophilie et d'encombrement stérique. Par comparaison avec les ryanoides naturels, il sera sans doute possible d'établir des corrélations et des constantes entre certaines structures et les activités des dérivés.

-Dérivés de la série 3-épi.

Nous avons vu précédemment que l'oxygène endo en position 3 du ryanodol (4) ne peut être utilisé pour la fonctionnalisation de cette position. Par contre, l'alcool en position 3 du 3-épiryanodol (17) est facilement accessible comme il a été démontré dans la synthèse de la 3-épiryanodine (7). Nous avons donc exploité la grande réactivité de cet alcool en position 3-épi pour réaliser une série d'analogues de la 3-épiryanodine par estérification sélective. Le tableau 1 décrit les différents acides carboxyliques et agents de couplage utilisés pour la synthèse des dérivés. La déprotection du composé 138 et 139 est réalisée par hydrogénolyse du groupement

benzyloxycarbonyle à l'aide du palladium sur charbon dans le THF pour donner l'amine libre **142** et **143** (schéma 19). Le produit **143** s'est avéré instable en solution, le carbonyle de la fonction ester subissant probablement l'attaque nucléophile intramoléculaire de l'amine primaire pour redonner le 3-épiryanodol (**17**) de départ.

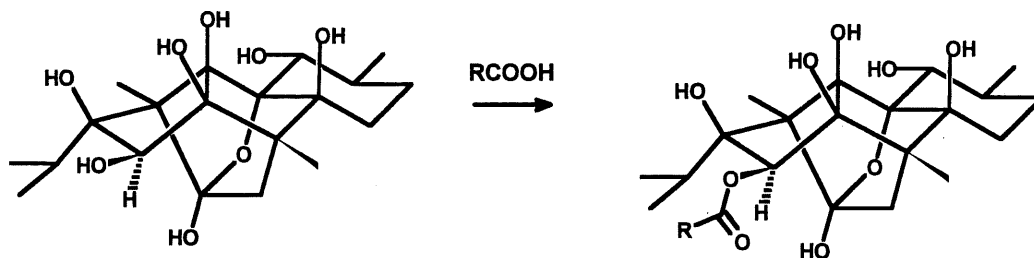
-Dérivé acide

Pour déterminer l'effet occasionné par la présence d'une charge négative en position 10 sur les ryanoides, nous avons introduit un groupement acide carboxylique sur le ryanodol sachant que dans le milieu biologique, celui-ci se retrouve en équilibre avec sa forme déprotonée. La séquence des réactions (schéma 20) utilisées pour la formation d'un tel produit débute par la monoprotection d'un diacide, dans ce cas-ci de l'acide succinique (**144**), sous forme d'ester benzylique par estérification de Fischer avec l'alcool benzylique qui donne le produit **145**. Ce dernier est couplé avec le ryanodol par la méthode de Steglich (31) ce qui nous permet d'obtenir le diester **146**. Par hydrogénolyse on obtient le dérivé 10-O-succinoylryanodol (**147**) avec un bon rendement.

-Autres dérivés

Les produits synthétiques développés ainsi que les produits naturels identifiés par nous et les autres groupes, possèdent des fonctions alcools primaires où secondaires qui semblent, à première vue d'excellentes portes d'entrée pour fonctionnaliser la molécule. Dans cette dernière partie, nous avons effectué l'estérification sélective de quelques uns de ces produits pour vérifier, de façon préliminaire, les possibilités offertes par ceux-ci et du même coup mesurer l'impact de ces modifications pour tenter de mieux cerner les secteurs de la molécule qui devront faire l'objet d'études plus approfondies. Ainsi, l'ester F (**27**), le cinnzeylanol (**32**) la 18-hydroxyryanodine (**20**), et la ryanodine (**1**) furent estérifiés sélectivement avec l'acide 2-pyrrole carboxylique pour donner les produits **148**, **149**, **150** et **151** respectivement (figure 10). Nous

avons aussi introduit un groupement pyridine sur le 2-déoxy-3-épiryanodol (**122**) pour obtenir le produit **152**, un analogue de la 2-déoxy-3-épiryanodine (**124**).



17

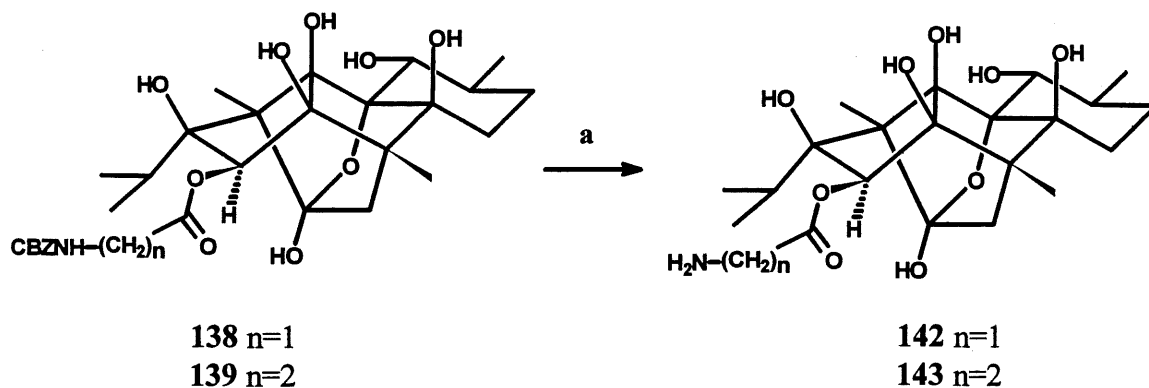
Schéma 18

Tableau 1: Estérification du 3-épiryanodol.

Produit	agent de couplage ¹	rendement ²
133 R=Méthyle	DPPA	75%
134 R=Phényle	DPPA	42%
135 R=3-Pyridine	DPPA	98%
136 R=2-Indole	DCC	15%
137 R=3-Indole	DCC	47%
138 R=N-CBZ-Glycine	DPPA	23%
139 R=N-CBZ-β-Alanine	DPPA	40%
140 R=Thiophène	DPPA	37%
141 R=Furane	DPPA	20%

1- DPPA= Azidure de diphenylphosphoryle, DCC= Dicyclohexylcarbodiimide. 2- Non-optimisé.

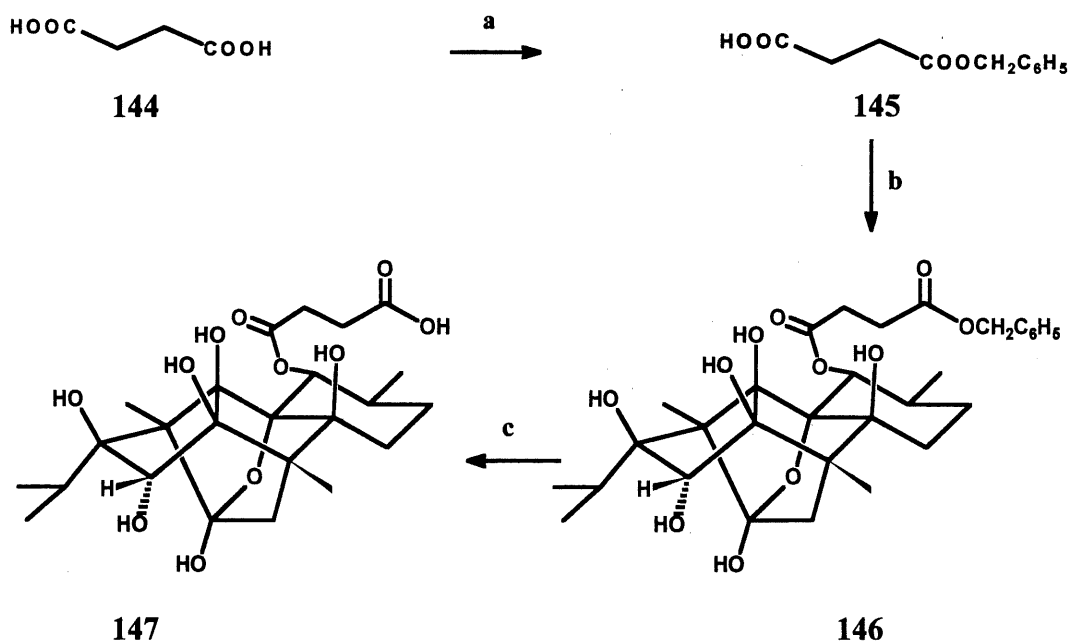
CBZ= C₆H₅CH₂OOC-



CBZ= C₆H₅CH₂OOC-

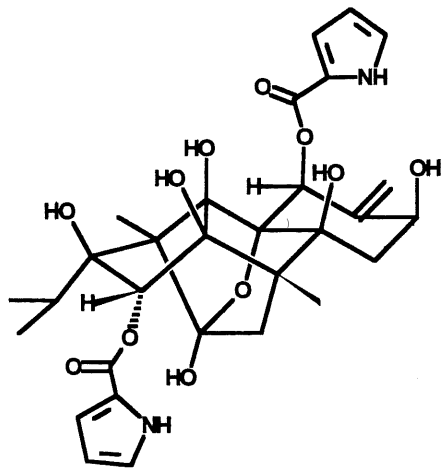
Conditions de réaction: a: Pd, H₂, THF.

Schéma 19

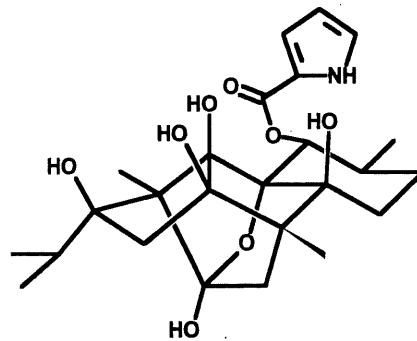


Conditions de réaction: a: C₆H₅CH₂OH, H₂SO₄, THF; b: 4, DCC, DMAP, THF;
c: Pd, H₂, THF.

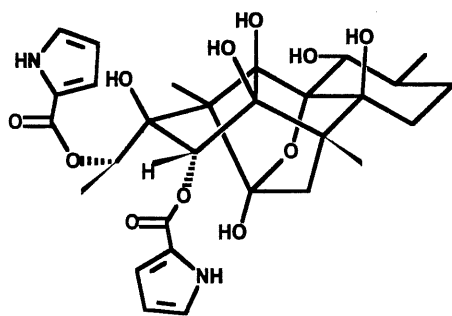
Schéma 20



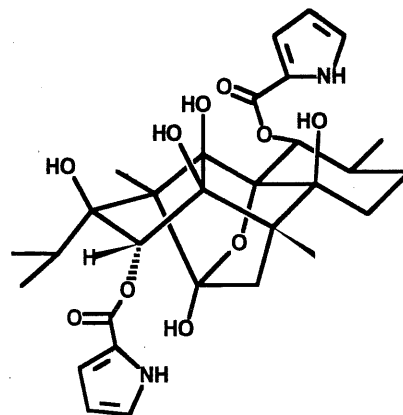
148



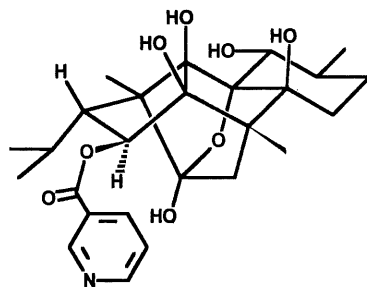
149



150



151



152

Figure 10: Quelques ryanoides synthétiques spécifiques.

4. ACTIVITÉS BIOLOGIQUES

Dans les chapitres précédents, nous avons décrit l'identification et la synthèse de plusieurs analogues de la ryanodine. Dans ce dernier chapitre, nous voulons rapporter les résultats des études d'affinité pour le site récepteur de la ryanodine de ces différents ryanoïdes. Ces études sont réalisées par le professeur John Sutko et ses collaborateurs, du département de pharmacologie de l'université du Nevada à Reno. Les essais sont réalisés par déplacement de ryanodine radioactive sur des récepteurs provenant de muscles de lapin selon une méthodologie bien connue (14, 32). Les résultats, rapportés sous forme de constantes de dissociation, se retrouvent au tableau 2. Pour des fins de comparaisons, nous avons inclus dans ce tableau les constantes de dissociation de la ryanodine (1) et de la 3-épiryanodine (18). En se basant seulement sur ces résultats, il est difficile de tirer de grandes conclusions sur l'identification des facteurs déterminants pour l'activité biologique des ryanoïdes, mais nous pouvons tout de même souligner certains points intéressants. Ainsi, on remarque que la présence d'un groupement aromatique en position 3 est de façon générale, favorable pour l'affinité au site récepteur et spécialement si celui-ci contient un atome d'azote (voir 18, 136, 137, tableau 2). Également, l'augmentation des facteurs stériques du groupement à cette position semble n'avoir que très peu d'influence sur les interactions entre le site récepteur et le composé, comme le démontrent les résultats obtenus avec les produits 136, 137 et 139. En examinant les valeurs des constantes de dissociation des composés 20, 116 et 150, il est raisonnable de penser que les interactions entre le récepteur et la région occupée par l'isopropyle sur la molécule sont de nature hydrophobe et que cette partie du récepteur est sensible aux modifications d'ordre stérique. En effet, les modifications réalisées à l'isopropyle de ces produits se sont montrées nuisibles pour l'affinité de ceux-ci au site récepteur. Finalement, les résultats obtenus avec le composé 148 concordent avec certains résultats déjà publiés (8, 14, 24, 33) qui démontrent que

la position 10 des ryanoides peut être impliquée dans les phénomènes d'affinité entre ce type de composés et le récepteur.

TABLEAU 2

CONSTANTE DE DISSOCIATION

#	COMPOSÉS	MUSCLE CARDIAQUE ¹	MUSCLE SQUELETTIQUE ¹
1	Ryanodine	2 nM	4 nM
18	3-Épiryanodine	182 nM	432 nM
20	18-Hydroxyryanodine	79 nM	129 nM
32	Cinnzeylanol	1388 nM	4028 nM
33	Cinnzeylanine	-----	4000 nM
115	18-Hydroxy-3-O-benzoylryanodol	1436 nM	4547 nM
116	19-Hydroxyryanodine	58 nM	167 nM
120	2,3-Didéoxyryanodol	-----	2237 nM
122	2-Déoxy-3-épiryanodol	445 nM	4550 nM
124	2-Déoxy-3-épiryanodine	869 nM	1663 nM
133	3-O-Acétyle-3-épiryanodol	1644 nM	5510 nM
134	3-O-Benzoyl-3-épiryanodol	943 nM	2873 nM
135	3-O-(3-Pyridinecarbonyl)-3-épiryanodol	737 nM	2986 nM
136	3-O-(2-Indolecarbonyl)-3-épiryanodol	481 nM	1521 nM
137	3-O-(3-Indolecarbonyl)-3-épiryanodol	236 nM	576 nM
138	3-O-N-CBZ-Glycyl-3-épiryanodol	-----	9575 nM
139	3-O-N-CBZ-β-Alanyl-3-épiryanodol	388 nM	1809 nM
140	3-O-(2-Thiophenecarbonyl)-3-épiryanodol	839 nM	3054 nM
141	3-O-(2-furanecarbonyl)-3-épiryanodol	1000 nM	2755 nM
142	3-O-Glycyl-3-épiryanodol	-----	852 nM
148	10-O-Pyrrolocarbonyl-8 _{ax} -hydroxy-9,21-didéhydro-10-épiryanodine	8 nM	17 nM
150	18-O-Pyrrolocarbonyl-18-hydroxyryanodine	110 nM	227 nM

1-Muscle de lapin d'où proviennent les récepteurs.

CONCLUSION

Nous avons identifié cinq nouveaux ryanoides des extraits de la plante *Ryania speciosa*. Nous avons aussi développé des moyens chimiques de modifier sélectivement les positions 2, 3 et 17 des ryanoides, ce qui nous a conduits entre autres résultats, à la synthèse de 2 produits naturels, le cinnzeylanol (32) et la cinnzeylanine (33). Les différents produits obtenus de source naturelle ou par synthèse ont été utilisés pour produire une série de dérivés qui ont été évalués pour leur affinité au site récepteur de la ryanodine. Tous ces produits ont démontré une affinité inférieure à celle de la ryanodine pour son récepteur mais fournissent des renseignements utiles sur certains facteurs essentiels pour l'affinité des ryanoides au site récepteur de la ryanodine. De plus, les méthodes et résultats présentées dans ce travail seront utiles pour l'exploration future des aspects fonctionnels et structuraux du récepteur de la ryanodine. Ils pourront aussi être utiles à la compréhension des phénomènes reliés aux contractions musculaires. En effet, il sera intéressant de vérifier la nature de l'activité biologique de ces dérivés et voir s'ils démontrent un profil d'activité pharmacologique biphasique tel que l'on observe avec la ryanodine (34, 35). Ces résultats seront utiles pour la compréhension du mode d'action de la ryanodine (1) nécessaire à l'élaboration d'agents pouvant activer et désactiver efficacement le canal calcique du réticulum sarcoplasmique. De tels produits auront possiblement certaines applications pour le traitement de pathologies reliées aux contractions musculaires.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

1. REMARQUE GÉNÉRALE

- 1) Toutes les réactions sont effectuées sous atmosphère inerte (argon) dans un appareillage sec.
- 2) Les solvants utilisés pour les réactions décrites dans la partie expérimentale sont traités de la façon suivante:
 - diméthylformamide: distillation sous vide (25mm Hg) sur une suspension d'hydrure de sodium;
 - tétrahydrofurane: distillation en présence de sodium et de benzophénone;
 - méthanol: distillation en présence de sulfate de magnésium;
 - dichloroéthane: distillation en présence de pentoxyde de phosphore;
 - chloroforme: distillation en présence de sulfate de calcium;
 - acétate d'éthyle: distillation en présence de carbonate de potassium;
 - diméthylesulfoxyde, dichlorométhane et acétonitrile: distillation en présence d'hydrure de calcium.
- 3) La chromatographie-éclair est réalisée avec du gel de silice Merck de grosseur 200-400 μm .
- 4) La chromatographie sur couche mince est effectuée sur des plaques de gel de silice Merck 60 de 0.25 mm, 0.50 mm et de 1 mm d'épaisseur.
- 5) La chromatographie liquide à haute performance est réalisée à l'aide d'un appareillage constitué d'une pompe Waters modèle 510 et d'un détecteur U.V. Waters 484. La fréquence de détection utilisée est 254 nm. La colonne utilisée est de marque Vydac octadécyle de 2.5 cm de diamètre et 25 cm de long. Les éluants sont l'eau et le méthanol.

- 6) Les spectres de résonance magnétique nucléaire sont effectués avec un spectromètre de marque Brüker AC-300 (300.13 MHz pour le ^1H et 75.47 MHz pour le ^{13}C) avec le méthanol deutérié ou l'acétone deutériée comme solvant et référence interne.
- 7) Les spectres infrarouges sont réalisés sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer model 1600 série FTIR.
- 8) Les points de fusion sont déterminés à l'aide d'un appareil Reichert.
- 9) Les spectres de masse (SM) et les résultats de masse exacte sont obtenus à partir d'un appareil ZAB-1F de la compagnie VG Mass Spectrometer. L'ion moléculaire est représenté par l'abréviation M^+ .
- 10) Les spectres IR et RMN ^1H sont représentés en annexe.
- 11) Pour la description des signaux en RMN, les abréviations suivantes sont utilisées:
 - s: singulet
 - d: doublet
 - t: triplet
 - q: quadruplet
 - h: heptuplet
 - m: multiplet
 - J: constante de couplage
 - l: large
 - app: apparent

2. PRODUITS NATURELS

L'extraction de la poudre de *Ryania speciosa* est réalisée comme il a été décrit par Rogers (3) sur une période moyenne de 11 jours. L'extrait est fractionné en trois fractions par chromatographie-éclair (MeOH/CHCl₃): dans la fraction la moins polaire, nous n'avons pas observé de nouveaux ryanoides. La fraction intermédiaire, contenant majoritairement le mélange ryanodine-9,21-didéhydroryanodine a été recristallisé dans un mélange d'acétone et d'hexane pour donner le mélange de ryanodine (1) et de 9,21-didéhydroryanodine (2) cristallin. Les eaux mères provenant de cette cristallisation sont enrichies en époxyde 90 et en benzoate 115. La séparation de ces eaux mères a été réalisée par CLHP en phase inverse utilisant un mélange de méthanol et d'eau (40:60) comme éluant, pour donner (polarité décroissante) l'époxyde 90 pur, la 9,21-didéhydroryanodine (2) et un mélange 5:1 de ryanodine (1) et de benzoate 115. Par cristallisation de la ryanodine dans un mélange acétone-hexane, on enrichit les eaux mères jusqu'à un rapport de 3:2 pour 1 et 115 respectivement. Ce mélange est traité par l'ozone selon une méthode connue (10) pour donner un mélange de plusieurs produits duquel le produit 115 est facilement séparé par chromatographie sur plaque de gel de silice (0.5 mm, 10% de méthanol dans le chloroforme). De la troisième fraction nous avons isolé, en plus des ryanoides déjà connus, les produits 20, 116 et 117 (polarité croissante) par purification à l'aide de la CLHP dans les mêmes conditions décrites plus haut.

18-Hydroxyryanodine (20)

Formule brute: C₂₅H₃₅O₁₀N

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD, δ ppm): 7.03 (m, 1H, pyrrole H), 6.87 (m, 1H, pyrrole H), 6.23 (m, 1H, pyrrole H), 5.59 (s, 1H, HC3), 3.94 (dd, 1H, J_{AB}=10.3Hz, J_{AX}=5.4Hz, H_AC18), 3.85 (dd, 1H, J_{AB}=10.3Hz, J_{BX}=3.9Hz, H_BC18), 3.79 (d, 1H, J=10.2Hz, HC10), 2.50 (d, 1H, J=13.8Hz, H_AC14), 2.21 (m, 1H, HC13), 2.09 (m, 1H, H_{ax}C7), 1.94 (d, 1H, J=13.8Hz,

H_BC14), 1.89 (m, 1H, HC9), 1.50 (m, 2H, H_{éq}C7 et H_{ax}C8), 1.41 (s, 3H, CH₃C1), 1.23 (m, 1H, H_{éq}C8), 1.00 (d, 3H, J=6.4Hz, CH₃C9), 0.90 (d, 3H, J=7.3Hz, CH₃C13), 0.88 (s, 3H, CH₃C5).

SM (m/e): 491 (M⁺ - H₂O)

SMHR: théorique: 491.2155 (M⁺ - H₂O)

 expérimentale: 491.2148

9,21α-Époxyryanodine (90)

Formule brute: C₂₅H₃₃O₁₀N

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD, δ ppm): 7.03 (m, 1H, pyrrole H), 6.87 (m, 1H, pyrrole H), 6.23 (m, 1H, pyrrole H), 5.64 (s, 1H, HC3), 4.38 (s, 1H, HC10), 2.84 (d, 1H, J=5.2Hz, H_AC21), 2.58 (d, 1H, J=13.8Hz, H_AC14), 2.40 (td, 1H, J=13.7Hz et J=4.7Hz, HC7), 2.37 (d, 1H, J=5.2Hz, H_BC21), 1.96 (d, 1H, J=13.8Hz, H_BC14), 1.35 (s, 3H, CH₃C1), 1.10 (d, 3H, J=6.7Hz, CH₃C13), 0.92 (s, 3H, CH₃C5), 0.75 (d, 3H, J=6.4Hz, CH₃C13).

SM (m/e): 507 (M⁺), 489 (M⁺ - H₂O), 471 (M⁺ - 2H₂O).

SMHR: théorique: 507.2104 (M⁺)

 expérimentale: 507.2097

18-Hydroxy-3-O-benzoylryanodol (115)

Formule brute: C₂₇H₃₆O₁₀

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD, δ ppm): 8.06 (m, 2H, ArH), 7.66 (m, 1H, ArH), 7.53 (m, 1H, ArH), 5.72 (s, 1H, HC3), 3.91 (d, 2H, J=4.8Hz, H₂C18), 3.79 (d, 1H, J=10.1Hz, HC10), 2.51 (d, 1H, J=13.7Hz, H_AC14), 2.25 (m, 1H, HC13), 2.10 (m, 1H, H_{ax}C7), 1.98 (d, 1H, J=13.7Hz, H_BC14), 1.85 (m, 1H, HC9), 1.50 (m, 2H, H_{ax}C8 et H_{éq}C7), 1.42 (s, 3H, CH₃C1), 1.22 (m, 1H, H_{éq}C8), 1.01 (d, 3H, J=6.5Hz, CH₃C9), 0.88 (d, 3H, J=6.5Hz, CH₃C13), 0.82 (s, 3H, CH₃C5),

SM (m/e): 502 (M⁺ - H₂O), 484 (M⁺ - 2H₂O), 466 (M⁺ - 3H₂O).

SMHR: théorique: 502.2203 (M⁺ - H₂O)

expérimentale: 502.2198

19-Hydroxyryanodine (116)

Ce ryanoïde a été comparé à celui déjà signalé par Casida (10): les données spectrales sont à peu près identiques. Nous avons constaté que le motif ABX du méthylène porteur de l'hydroxyle en C19 est signalé à 3.64 ppm par Casida, le solvant utilisé étant un mélange non défini de deutérochloroforme et de méthanol deutérié. Dans le méthanol deutérié, nous observons ce motif centré à 3.50 ppm. L'ajout graduel de deutérochloroforme déplace ce signal vers la valeur de 3.64 ppm publiée par Casida. Ce composé a donné des cristaux adéquats pour la diffraction de rayons X.

Formule brute: $C_{25}H_{35}O_{10}N$

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 6.98 (m, 1H, pyrrole H), 6.91 (m, 1H, pyrrole H), 6.21 (m, 1H, pyrrole H), 5.55 (s, 1H, HC3), 3.78 (d, 1H, $J=10.2Hz$, HC10), 3.54 (dd, 1H, $J_{AB}=10.8Hz$, $J_{AX}=4.6Hz$, $H_A C19$), 3.46 (dd, 1H, $J_{AB}=10.8Hz$, $J_{BX}=2.4Hz$, $H_B C19$), 2.33 (d, 1H, $J=13.8Hz$, $H_A C14$), 2.18 (m, 1H, HC13), 1.98 (m, 1H, $H_{ax} C7$), 1.87 (d, 1H, $J=13.8Hz$, $H_B C14$), 1.77 (m, 1H, HC9), 1.50 à 1.35 (m, 2H, $H_{eq} C7$ et $H_{ax} C8$), 1.34 (s, 3H, $CH_3 C1$), 1.27 (d, 3H, $J=6.8Hz$, $CH_3 C13$), 0.97 (d, 3H, $J=6.5Hz$, $CH_3 C9$), 0.81 (s, 3H, $CH_3 C5$).

PF: 153-155°C (MeOH)

SM (m/e): 491 ($M^+ - H_2O$), 473 ($M^+ - 2H_2O$)

SMHR: théorique: 491.2155 ($M^+ - H_2O$)

expérimentale: 491.2148

18-Hydroxy-9,21-didéhydroryanodine (117)

Formule brute: $C_{25}H_{33}O_{10}N$

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 7.03 (m, 1H, pyrrole H), 6.88 (m, 1H, pyrrole H), 6.23 (m, 1H, pyrrole H), 5.61 (s, 1H, HC3), 5.05 (m, 1H, HC21), 4.86 (m, 1H, HC21), 4.74 (sl, 1H,

HC10), 3.94 (dd, 1H, $J_{AB}=10.4\text{Hz}$, $J_{AX}=5.3\text{Hz}$, $H_A C18$), 3.89 (dd, 1H, $J_{AB}=10.4\text{Hz}$, $J_{BX}=3.8\text{Hz}$, $H_B C18$), 2.49 (d, 1H, $J=13.8\text{Hz}$, $H_A C14$), 2.29 à 2.07 (m, 3H, HC13, HC7 et HC8), 1.92 (d, 1H, $J=13.8\text{Hz}$, $H_B C14$), 1.42 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{C1}$), 1.38 à 1.26 (m, 2H, HC7 et HC8), 0.91 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{C5}$), 0.90 (d, 3H, $J=6.4\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{C13}$).

SM (m/e): 489 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}$), 471 ($M^+ - 2\text{H}_2\text{O}$), 453 ($M^+ - 3\text{H}_2\text{O}$).

SMHR: théorique: 489.1999 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}$)

 expérimentale: 489.2010

3.MODIFICATIONS STRUCTURALES

Anhydrocinnzeylanol (118)

À une solution de 2,3-didéoxy-2,3-didéhydroryanodol (15) (26 mg) dans le méthanol (10 mL) est additionné à la température de la pièce l'acide sulfurique concentré (0.1 mL). Le mélange est agité à reflux pour une période de 40 h. On ajoute une solution aqueuse de bicarbonate de sodium à 5%. La phase aqueuse résultante est extraite avec de l'acétate d'éthyle (5 X 10 mL). Les phases organiques combinées sont lavées avec une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium (15 mL), séchées avec du sulfate de magnésium anhydre et filtrées. Le solvant est évaporé à sec et le produit est purifié sur plaque de gel de silice (2 plaques 0.5 mm, 10% de méthanol dans le chloroforme). On isole ainsi le produit pur (23 mg).

Rendement: 89%

Formule brute: $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_6$

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 4.02 (d, 1H, $J=10.0\text{Hz}$, HC10), 2.70 (h, 1H, $J=7\text{Hz}$, HC13), 2.61 (dq, 1H, $J=1.7\text{Hz}$ et $J=17.5\text{Hz}$, $H_A\text{C3}$), 2.45 (d, 1H, $J=19.5\text{Hz}$, $H_A\text{C14}$), 2.36 (d, 1H, $J=19.5\text{Hz}$, $H_B\text{C14}$), 2.10 (dq, 1H, $J=2.6\text{Hz}$ et $J=17.5\text{Hz}$, $H_B\text{C3}$), 1.80 (m, 1H, HC9), 1.72

(sl, 3H, CH₃C1), 1.63 à 1.48 (m, 4H, H₂C8 et H₂C7), 1.07 (d, 3H, J=6.4Hz, CH₃C9), 1.02 (s, 3H, CH₃C5), 1.00 (d, 3H, J=7.0Hz, CH₃C13), 0.94 (d, 3H, J=7.0Hz, CH₃C13).

RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD, δ ppm): 173.2, 148.6, 137.6, 87.1, 75.6, 43.3, 39.9, 37.6, 31.4, 30.9, 29.3, 23.3, 23.0, 21.4, 16.1, 14.5.

IR (film, ν cm⁻¹): 3389, 2922, 1732, 1461.

PF: 110-112°C (MeOH)

SM (m/e): 349 (M⁺ - OH), 348 (M⁺ - H₂O), 330 (M⁺ - 2H₂O).

SMHR: théorique: 349.2015 (M⁺ - OH).

expérimentale: 349.2008.

1,2-Époxyanhydrocinnzeylanol (119)

L'alcène **118** (0.07 mmol, 27 mg) est dissous dans un mélange de 1,2-dichloroéthane (2 mL) et d'acétonitrile (1 mL). À cette solution à 0°C, on ajoute du bicarbonate de sodium (2 mg) et une solution d'acide trifluoroperacétique (1M) dans le 1,2-dichloroéthane (0.12 mmol, 120 µL, 1.7 éq.). Le mélange est agité 20 h à la température de la pièce puis on ajoute une solution de thiosulfate de sodium (0.1M, 2 mL). On sépare les phases et la phase aqueuse est extraite avec de l'acétate d'éthyle (4X5 mL). Les phases organiques sont combinées, sont lavées avec une solution de bicarbonate de sodium 5% (10 mL) et séchées avec du sulfate de magnésium anhydre. Le solvant est évaporé et le produit est purifié par chromatographie-éclair (5%→10% de méthanol dans le chloroforme). On obtient finalement le produit désiré (19 mg),

Rendement: 71%

Formule brute: C₂₀H₃₀O₇

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD, δ ppm): 4.04 (d, 1H, J=10.5Hz, HC10), 2.78 (d, 1H, J=20.0Hz, H_AC3), 2.63 (d, 1H, J=20.0Hz, H_BC3), 2.25 (d, 1H, J=15.6Hz, H_AC14), 1.83 à 1.70 (m, 1H, HC9), 1.60 (d, 1H, J=15.6Hz, H_BC14), 1.65 à 1.50 (m, 4H, H₂C7 et H₂C8), 1.54 (s, 3H,

CH₃C1), 1.06 (d, 3H, J=6.3Hz, CH₃C9), 1.00 (d, 3H, J=6.9Hz, CH₃C13), 0.96 (d, 3H, J=5.9Hz, CH₃C13), 0.94 (s, 3H, CH₃C5).

RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD, δ ppm): 173.2, 95.4, 87.5, 78.9, 75.4, 43.8, 38.1, 37.4, 33.1, 29.4, 21.2, 20.7, 17.3, 16.4.

IR (film, ν cm⁻¹): 3426, 2968, 1731.

PF: 182-184°C (MeOH)

SM (m/e): 382 (M⁺), 367 (M⁺ - CH₃), 365 (M⁺ - OH), 349 (M⁺ - (CH₃ + H₂O)), 339 (M⁺ - C₃H₇).

SMHR: théorique: 382.1991 (M⁺)

 expérimentale: 382.1989

Cinnzeylanol (32)

Une solution de l'époxyde **119** (0.07 mmol, 29 mg) dans le tétrahydrofurane (3 mL) est canulée à une solution de lithium (50 mg) dans l'ammoniac (10 mL) à -78°C. Le mélange résultant est agité 30 minutes puis on y ajoute du chlorure d'ammonium solide (100 mg) et on agite à -78°C jusqu'à disparition de la coloration. L'ammoniac est évaporée, et de l'eau (10 mL) est ajoutée pour dissoudre le solide. Cette phase aqueuse est extraite avec de l'acétate d'éthyle (5X10 mL), la phase organique est lavée avec une solution aqueuse de chlorure de sodium (20 mL), séchée sur sulfate de magnésium anhydre, filtrée et évaporée à sec. Le produit brut est purifié par chromatographie-éclair (10% de méthanol dans le chloroforme). On obtient ainsi l'alcool pur (22 mg). Ce dernier a donné des cristaux adéquats pour la diffraction de rayons X.

Rendement: 75%

Formule brute: C₂₀H₃₂O₇

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD, δ ppm): 3.79 (d, 1H, J=10.2Hz, HC10), 2.41 (d, 1H, J=15.5Hz, H_AC3), 2.10 (td, 1H, J=12.5Hz et J=5.8Hz, H_{ax}C7), 1.92 (h, 1H, J=6.7Hz, HC13), 1.84 (d, 1H, J=13.6Hz, H_AC14), 1.80 (m, 1H, HC9), 1.76 (d, 1H, J=15.5Hz, H_BC3), 1.73 (d, 1H, J=13.6Hz, H_BC14), 1.60 à 1.40 (m, 2H, H_{ax}C8 et H_{eq}C7), 1.31 (s, 3H, CH₃C1), 1.32 à 1.23 (m,

1H, H_{eq}C8), 1.00 (d, 3H, J=6.4Hz, CH₃C9), 0.99 (d, 3H, J=6.7Hz, CH₃C13), 0.95 (d, 3H, J=6.7Hz, CH₃C13), 0.86 (s, 3H, CH₃C5).

RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD, δ ppm): 102.4, 98.3, 90.2, 87.3, 86.3, 72.8, 43.4, 35.3, 34.2, 29.5, 27.3, 19.1, 18.9, 18.8, 11.1, 9.7.

IR (film, ν cm⁻¹): 3366, 2937, 1469, 1017.

PF: 140-142°C (MeOH) litt.: 140-141°C (19), 139-142°C (17)

SM (m/e): 366 (M⁺ - H₂O), 348 (M⁺ - 2H₂O), 330 (M⁺ - 3H₂O).

SMHR: théorique: 366.2042 (M⁺ - H₂O)
 expérimentale: 366.2050

Cinnzeylanine (33)

L'alcool **32** (0.065 mmol, 25 mg) est dissous dans le tétrahydrofurane sec (10 mL) fraîchement distillé. On refroidit à 0°C et on ajoute la triéthylamine (0.14 mmol, 19μL, 2.2 éq.), l'anhydride acétique (0.10 mmol, 1 mL, 0.1M dans le tétrahydrofurane, 1.5 éq.) et la 4-diméthylaminopyridine (3 mg). La solution est agitée à la température de la pièce (25°C) pour une période de 48 h. On ajoute une solution aqueuse de bicarbonate de sodium à 5% (10 mL), et on extrait cette phase aqueuse avec de l'acétate d'éthyle (5X10 mL). Les phases organiques sont combinées, séchées avec du sulfate de magnésium anhydre et évaporées à sec. On obtient un mélange de 4 produits qui sont séparés sur plaque de gel de silice (2 plaques 0.5 mm, 10% de méthanol dans le chloroforme). On isole de cette façon la cinnzeylanine (4.9 mg), l'anhydrocinnzeylanol (2.9 mg), l'anhydrocinnzeylanine (2.4 mg), ainsi que le produit **32** inchangé (11 mg).

Rendement: 18%

Formule brute: C₂₂H₃₄O₈

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD, δ ppm): 5.26 (d, 1H, J=10.7Hz, HC10), 2.39 (d, 1H, J=15.5Hz, H_AC3), 2.20 à 2.04 (m, 1H, HC9), 2.05 (s, 3H, CH₃ acétyle), 1.92 (td, 1H, J=13.5Hz et

J=6.6Hz, H_{ax}C7), 1.89 (m, 1H, HC13), 1.85 (d, 1H, J=13.7Hz, H_AC14), 1.74 (d, 1H, J=13.7Hz, H_BC14), 1.72 (d, 1H, J=15.5Hz, H_BC3), 1.60 à 1.52 (m, 2H, H_{ax}C8 et H_{eq}C7), 1.36 à 1.31 (m, 1H, H_{eq}C8), 1.33 (s, 3H, CH₃C1), 1.00 (d, 3H, J=6.6Hz, CH₃C9), 0.94 (d, 3H, J=6.9Hz, CH₃C13), 0.87 (s, 3H, CH₃C5), 0.84 (d, 3H, J=6.6Hz, CH₃C13).

SM (m/e): 426 (M⁺), 408 (M⁺ - H₂O), 390 (M⁺ - 2H₂O).

SMHR: théorique: 408.2148 (M⁺ - H₂O)

 expérimentale: 408.2142

2,3-didéoxy-2,3-dihydroryanodol (120)

Une solution d'anhydrocinnzeylanol (**118**) (0.05 mmol, 18 mg) dans le tétrahydrofurane (2 mL) est canulée à une solution de lithium (20 mg) dans l'ammoniac (10 mL) à -78°C. Le mélange résultant est agité à -78°C pour une période de 30 minutes. Par la suite, on ajoute du chlorure d'ammonium solide (30 mg) et on agite jusqu'à disparition de la coloration bleue. L'ammoniac est évaporée et de l'eau (10 mL) est ajoutée pour dissoudre le solide. Cette phase aqueuse est extraite avec de l'acétate d'éthyle (4X10 mL), la phase organique est lavée avec une solution aqueuse de chlorure de sodium (10 mL), séchée sur du sulfate de sodium anhydre, filtrée et évaporée à sec. On obtient ainsi le produit désiré (17 mg). Ce produit a donné des cristaux de bonne qualité pour la diffraction de rayons X.

Rendement: 92%

Formule brute: C₂₀H₃₂O₆

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD, δ ppm): 3.80 (d, 1H, J=10.2Hz, HC10), 2.13 (td, 1H, J=12.3Hz et 5.9Hz, H_{ax}C7), 1.90 à 1.70 (m, 7H, HC13, HC9, H₂C14, H₂C3 et HC2), 1.55 à 1.43 (m, 2H, H_{ax}C8 et H_{eq}C7), 1.28 (m, 1H, H_{eq}C8), 1.21 (s, 3H, CH₃C1), 1.03 (d, 3H, J=5.7Hz, CH₃C13), 1.00 (d, 3H, J=6.5Hz, CH₃C9), 0.90 (d, 3H, J=5.7Hz, CH₃C13), 0.86 (s, 3H, CH₃C5).

RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD, δ ppm): 103.5, 97.5, 90.8, 87.2, 73.1, 61.9, 50.9, 43.4, 39.0, 35.4, 30.4, 29.5, 27.4, 24.1, 23.7, 18.9, 11.2.

IR (film, ν cm^{-1}): 3282, 2944, 1459, 1005.

PF: 217-220°C (MeOH)

SM (m/e): 368 (M^+), 350 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 332 ($\text{M}^+ - 2\text{H}_2\text{O}$).

SMHR: théorique: 368.2199 (M^+)

 expérimentale: 368.2192

3-Cétoanhydroryanodol (121)

L'anhydroryanodol (**10**) (17 mg, 0.045 mmol) dissous dans le chloroforme (10 mL) est oxydé en présence de dioxyde de manganèse activé (25 mg) à la température de la pièce pendant trois heures. Le catalyseur est filtré sur célite et lavé avec du méthanol. Le brut est purifié par chromatographie-éclair (5% de méthanol dans le chloroforme) pour donner l'énone (11 mg) pure.

Rendement: 66%

Formule brute: $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_7$

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 4.04 (d, 1H, $J=10.4\text{Hz}$, HC10), 2.75 (h, 1H, $J=7.0\text{Hz}$, HC13), 2.58 (d, 1H, $J=19.8\text{Hz}$, $\text{H}_\text{A}\text{C14}$), 2.23 (d, 1H, $J=19.8\text{Hz}$, $\text{H}_\text{B}\text{C14}$), 2.21 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{C1}$), 1.76 (m, 1H, HC9), 1.61 à 1.46 (m, 4H, $\text{H}_2\text{C7}$ et $\text{H}_2\text{C8}$), 1.15 (d, 3H, $J=7.1\text{Hz}$, CH_3 sur CH), 1.13 (d, 3H, $J=6.9\text{Hz}$, CH_3 sur CH), 1.09 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{C5}$), 1.08 (d, 3H, $J=6.5\text{Hz}$, CH_3 sur CH).

IR (film, ν cm^{-1}): 3439, 2966, 1745, 1696, 1622, 1021.

SM (m/e): 380 (M^+), 362 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 344 ($\text{M}^+ - 2\text{H}_2\text{O}$).

SMHR: théorique: 380.1835 (M^+)

 expérimentale: 380.1826

2-Déoxy-3-épiryanodol (122)

L'énone **121** (50 mg, 0.13 mmole) dissoute dans le tétrahydrofurane (5 mL) est canulée à une solution de lithium (25 mg) dans l'ammoniac (10 mL) à -78°C. La solution résultante est agitée pendant 30 minutes puis est traitée par du chlorure d'ammonium solide (30 mg) et agitée à -78°C jusqu'à disparition de la coloration. L'ammoniac est évaporée et de l'eau (10 mL) est ajoutée pour dissoudre le solide. Cette phase aqueuse est extraite avec de l'acétate d'éthyle (5X10 mL), la phase organique est lavée avec une solution aqueuse de chlorure de sodium (10 mL), séchée sur sulfate de magnésium anhydre, filtrée et évaporée à sec. Suite à la purification par chromatographie-éclair (10% de méthanol dans le chloroforme), on obtient le composé **122** (34 mg). Le produit a donné des cristaux adéquats pour la diffraction de rayons X.

Rendement: 69%

Formule brute: C₂₀H₃₂O₇

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD, δ ppm): 3.81 (d, 1H, J=10Hz, HC10), 3.59 (d, 1H, J=5.2Hz, HC3), 2.15 à 2.00 (m, 1H, H_{ax}C7), 2.00 à 1.90 (m, 1H, HC13), 1.90 à 1.75 (m, 1H, HC9), 1.81 (d, 1H, J=13.7Hz, H_AC14), 1.58 (d, 1H, J=13.7Hz, H_BC14), 1.55 à 1.43 (m, 3H, HC2, H_{ax}C8 et H_{eq}C7), 1.24 (s, 3H, CH₃C1), 1.08 (d, 3H, J=6.4Hz, CH₃C13), 1.07 (d, 3H, J=6.6Hz, CH₃C13), 1.00 (d, 3H, J=6.4Hz, CH₃C9), 0.87 (s, 3H, CH₃C5).

RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD, δ ppm): 103.0, 87.6, 86.2, 75.3, 73.1, 61.8, 42.1, 35.4, 29.6, 27.1, 24.3, 23.7, 18.9, 14.9, 11.3.

IR (film, ν cm⁻¹): 3396, 2929, 1634, 1453.

PF: 304-308°C (décomposition) (MeOH)

SM (m/e): 384 (M⁺), 366 (M⁺ - H₂O), 348 (M⁺ - 2H₂O), 330 (M⁺ - 3H₂O).

SMHR: théorique: 384.2148 (M⁺)

expérimentale: 384.2139

2-Déoxy-3-épiryanodine (124)

L'alcool **122** (0.046 mmol, 18 mg) dissous dans le N,N-diméthylformamide sec (1.5 mL) est estérifié avec l'acide 2-pyrrole carboxylique (0.069 mmol, 7.6 mg) selon la méthode B (voir p.66). Suite au traitement, le brut est purifié sur plaque de gel de silice (0.5 mm, 10% méthanol dans le chloroforme) pour donner l'alcool **122** non réagi (15 mg) et le produit de couplage **124** (3 mg).

Rendement: 13%

Formule brute: C₂₅H₃₅O₈N

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD, δ ppm): 6.95 (m, 1H, pyrrole H), 6.90 (m, 1H, pyrrole H), 6.18 (m, 1H, pyrrole H), 5.16 (d, 1H, J=5.7Hz, HC3), 3.79 (d, 1H, J=10.2Hz, HC10), 2.13 (td, 1H, J=12.5Hz et 6.1Hz, H_{ax}C7), 2.04 (m, 1H, HC13), 1.94 (dd, 1H, J=10.6Hz et 5.7Hz, HC2), 1.92 (d, 1H, J=14.2Hz, H_AC14), 1.84 (m, 1H, HC9), 1.74 (d, 1H, J=14.2Hz, H_BC14), 1.52 (m, 2H, H_{ax}C8 et H_{éq}C7), 1.32 (s, 3H, CH₃C1), 1.23 (m, 1H, H_{éq}C8), 1.07 (d, 3H, J=6.2Hz, CH₃C13), 1.01 (s, 3H, CH₃C5), 1.00 (d, 3H, J=6.1Hz, CH₃C9), 0.91 (d, 3H, J=6.4Hz, CH₃C13).

IR (film, ν cm⁻¹): 3391, 2935, 1693, 1412, 1324, 1148.

SM (m/e): 477 (M⁺), 459 (M⁺ - H₂O), 441 (M⁺ - 2H₂O).

SMHR: théorique: 477.2362 (M⁺)

 expérimentale: 477.2365

2-Déoxyryanodol (125) et 2-déoxy-2-épiryanodol (126)

L'anhydroryanodol (13 mg, 0.034 mmol.) dissous dans le tétrahydrofurane (3 mL) est canulé à une solution de lithium (20 mg) dans l'ammoniac (10 mL) à -78°C. Le mélange est agité 1 heure à -78°C et du chlorure d'ammonium solide (25 mg) est ajouté. L'ammoniac est évaporée et de l'eau (20 mL) est ajouté pour dissoudre le solide. La phase aqueuse est extraite avec de l'acétate d'éthyle (5X10 mL). Les phases organiques combinées sont lavées avec une solution

aqueuse de chlorure de sodium, séchées sur du sulfate de sodium anhydre et évaporée. Le brut est purifié sur plaque de gel de silice (0.5 mm, 10% de méthanol dans le chloroforme) pour donner l'alcène **15** (6.7 mg) et un mélange à part égale des produits **125** et **126** (3.1 mg). Par recristallisation dans le méthanol, on obtient le 2-déoxyryanodol (**125**) pur. Les cristaux ainsi obtenus sont de bonne qualité pour la diffraction de rayons X.

2-Déoxyryanodol (**125**)

Rendement: 14%

Formule brute: $C_{20}H_{32}O_7$

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 4.34 (d, 1H, $J=11.4Hz$, HC3), 3.78 (d, 1H, $J=10.2Hz$, HC10), 2.52 (d, 1H, $J=13.2Hz$, $H_A C14$), 2.14 à 2.00 (m, 2H, $H_{ax} C7$ et HC9), 1.90 à 1.76 (m, 1H, HC13), 1.81 (t (app.), 1H, $J=11.4Hz$, HC2), 1.72 (d, 1H, $J=13.2Hz$, $H_B C14$), 1.58 à 1.40 (m, 2H, $H_{ax} C8$ et $H_{eq} C7$), 1.24 (m, 1H, $H_{eq} C8$), 1.20 (s, 3H, $CH_3 C1$), 1.12 (s, 3H, $CH_3 C5$), 1.09 (d, 3H, $J=6.6Hz$, $CH_3 C9$), 1.01 (d, 3H, $J=5.2Hz$, $CH_3 C13$), 0.99 (d, 3H, $J=5.8Hz$, $CH_3 C13$).

PF: 243°C (décomposition) (MeOH)

SM (m/e): 384 (M^+), 366 ($M^+ - H_2O$), 348 ($M^+ - 2H_2O$), 330 ($M^+ - 3H_2O$).

SMHR: théorique: 384 2148 (M^+)

 expérimentale: 384.2143

2-Épi-2-déoxyryanodol (**126**)

Rendement: 14%

Formule brute: $C_{20}H_{32}O_7$

Les données de RMN pour ce composé sont obtenues à partir d'un mélange de **125** et **126**.

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 4.22 (d, 1H, $J=6.7Hz$, HC3), 3.75 (d, 1H, $J=10.2Hz$, HC10), 2.32 (d, 1H, $J=13.4Hz$, $H_A C14$), 2.15 à 2.00 (m, 2H, $H_{ax} C7$ et HC9), 1.90 à 1.76 (m, 1H, HC13), 1.72 (d, 1H, $J=13.4Hz$, $H_B C14$), 1.62 (dd, 1H, $J=6.7Hz$ et $J=3.5Hz$, HC2), 1.59 à

1.40 (m, 2H, H_{ax}C8 et H_{eq}C7), 1.27 (m, 1H, H_{eq}C8), 1.20 (s, 3H, CH₃C1), 1.11 (s, 3H, CH₃C5).

$\Delta^{1(17)}$, $\Delta^{2,3}$ -3-Déoxyanhydroryanodol (130)

Le $\Delta^{2,3}$ -2,3-didéoxyryanodol (15) (0.096 mmol, 35 mg) est dissous dans un mélange de 1,2-dichloroéthane (15 ml) et de tétrahydrofurane (3 ml) contenant du bicarbonate de sodium (5 mg). À cette solution est ajoutée le N-bromosuccinimide (0.11 mmol, 20 mg) dissous dans le 1,2-dichloroéthane (2 ml). On agite le mélange 15 minutes à la température de la pièce. Par la suite, on ajoute une solution de bicarbonate de sodium 5% et la phase organique est décantée. La phase aqueuse est extraite avec de l'acétate d'éthyle (4X10 mL), les phases organiques réunies sont lavées avec une solution aqueuse de chlorure de sodium, séchées sur du sulfate de sodium anhydre, filtrées et évaporées à sec. Le brut est purifié sur colonne de gel de silice (5% de méthanol dans le chloroforme) pour donner le diène **130** (27 mg) et le 3-épianhydroryanodol (**123**) (6.8 mg). Ce produit donne facilement de beaux cristaux pour la diffraction de rayons X.

Rendement: 78%

Formule brute: C₂₀H₂₈O₆

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD, δ ppm): 5.82 (d, 1H, J=1.7Hz, HC17), 5.72 (sl, 1H, HC17) 5.36 (s, 1H, HC3), 4.08 (d, 1H, J=10.3Hz, HC10), 2.56 (d, 1H, J=19.2Hz, H_AC14), 2.54 (m, 1H, HC13), 1.72 (m, 1H, HC9), 1.60 à 1.42 (m, 4H, 2HC₈ et 2HC7), 1.15 (d, 3H, J=6.7Hz, CH₃C13), 1.07 (d, 3H, J=6.4Hz, CH₃C9), 1.06 (s, 3H, CH₃C5), 1.05 (d, 3H, J=6.9Hz, HC₃C13),

RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD, δ ppm): 171.7, 154.6, 152.0, 129.9, 112.6, 92.2, 92.0, 84.8, 73.3, 42.5, 35.5, 28.7, 26.9, 22.3, 21.7, 18.6, 14.3.

IR (film, ν cm⁻¹): 3424, 2961, 1716, 1245, 1041.

PF: 226-230°C (décomposition) (MeOH)

SM (m/e): 364 (M^+), 346 ($M^+ - H_2O$), 328 ($M^+ - 2H_2O$).

SMHR: théorique: 364.1886 (M^+)

expérimental: 364.1891

1,17-Époxy, $\Delta^{2,3}$ -3-déoxyanhydroryanodol (131)

À une solution du diène **130** (0.093 mmol, 34 mg) dans le 1,2-dichloroéthane (25 mL), est ajouté le bicarbonate de sodium (2 mg) et une solution d'acide trifluoroperacétique (1M) dans le dichloroéthane (0.112 mmol, 112 μ L). On agite 1 heure à 25°C. On ajoute une solution de thiosulfate de sodium 0.1M (1 mL) et une solution de bicarbonate de sodium 5% (25 mL). On met de côté la phase organique et la phase aqueuse est extraite avec de l'acétate d'éthyle (8X10 mL) puis les phases organiques combinées sont séchées sur du sulfate de sodium anhydre. Après filtration et évaporation, le brut est purifié sur plaque de gel de silice (0.5 mm, 10% méthanol dans le chloroforme). On obtient de cette façon l'époxyde pur (15 mg).

Rendement: 42%

Formule brute: $C_{20}H_{28}O_7$

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 4.42 (s, 1H, HC3), 4.40 (d, 1H, $J=13.2Hz$, $H_A C17$), 4.32 (d, 1H, $J=13.2Hz$, $H_B C17$), (4.08 (d, 1H, $J=10.2Hz$, HC10), 2.80 (h, 1H, $J=7.0Hz$, HC13), 2.48 (d, 1H, $J=19.7Hz$, $H_A C14$), 2.32 (d, 1H, $J=19.7Hz$, $H_B C14$), 1.80 m, 1H, HC9), 1.54 (m, 4H, H_2C8 et H_2C7), 1.20 (d, 3H, $J=7.1Hz$, $CH_3 C13$), 1.10 (d, 3H, $J=6.9Hz$, $CH_3 C9$), 1.07 (d, 3H, $J=6.3Hz$, $CH_3 C13$), 1.02 (s, 3H, $CH_3 C5$).

RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD , δ ppm): 171.2, 151.6, 142.5, 92.9, 84.8, 72.9, 72.2, 58.4, 39.6, 35.1, 28.8, 28.6, 26.8, 23.0, 22.9, 21.1, 21.0, 18.7, 13.7.

IR (film, ν cm^{-1}): 3379, 2053, 1725, 1245, 1032.

PF: 243-246°C (MeOH)

SM (m/e): 380 (M^+), 362 ($M^+ - H_2O$), 344 ($M^+ - 2H_2O$).

SMHR: théorique: 380.1835 (M^+)

expérimental: 380.1833

17-Hydroxy- $\Delta^{2,3}$ -2,3-didéoxyryanodol (132)

L'époxyde **131** (17 mg, 0.045 mmol) dissous dans le THF (2 mL) est canulé à une solution de lithium (20 mg) dans l'ammoniac (10 mL) à -78C. Après une heure à cette température, on ajoute du chlorure d'ammonium (20 mg) solide et suite à la disparition de la coloration bleue, on laisse évaporer l'ammoniac. De l'eau est ajouté (5 mL) pour dissoudre le solide et la phase aqueuse résultante est extraite avec de l'acétate d'éthyle (4X5 mL). La phase organique résultante est lavée avec une solution aqueuse de chlorure de sodium saturée. Le brut est purifié sur plaque de gel de silice (0.5 mm, 10% méthanol dans le chloroforme).

Rendement: 52%

Formule brute: $C_{20}H_{30}O_7$

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 5.29 (d, 1H, $J=1.3Hz$, HC3), 4.28 (d, 1H, $J=11.5Hz$, $H_A C17$), 4.16 (d, 1H, $J=11.5Hz$, $H_B C17$), 3.80 (d, 1H, $J=10.2Hz$, HC10), 2.49 (m, 1H, HC13), 2.15 (td app., 1H, $J=12.0Hz$ et $J=6.1Hz$, $H_{ax} C7$), 1.83 (m, 1H, HC13), 1.76 (d, 1H, $J=12.9Hz$, $H_A C14$), 1.69 (d, 1H, $J=12.9Hz$, $H_B C14$), 1.50 (m, 2H, $H_{ax} C8$ et $H_{eq} C7$), 1.30 (m, 1H, $H_{eq} C8$), 1.15 (d, 3H, $J=6.8Hz$, $CH_3 C13$), 1.10 (d, 3H, $J=6.9Hz$, $CH_3 C9$), 1.01 (d, 3H, $J=6.4Hz$, $CH_3 C13$), 0.88 (s, 3H, $CH_3 C5$).

RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD , δ ppm): 153.0, 124.1, 105.9, 102.1, 94.9, 88.6, 86.2, 72.7, 68.6, 60.3, 58.3, 47.3, 45.1, 35.5, 29.2, 28.2, 27.1, 23.3, 19.0, 12.1.

IR (film, ν cm^{-1}): 3335, 2961, 1717, 1459, 1263, 1112, 1014.

SM (m/e): 364 ($M^+ - H_2O$), 346 ($M^+ - 2H_2O$), 328 ($M^+ - 3H_2O$).

SMHR: théorique: 364.1886 ($M^+ - H_2O$)

expérimental: 364.1877

4.DÉRIVÉS

Méthode d'estérification A

L'alcool (1 éq.) est dissous dans un mélange de tétrahydrofurane et de dichlorométhane. À cette solution est ajouté le dicyclohexylcarbodiimide (1.5 à 3 éq), une quantité catalytique de diméthylaminopyridine (0.2 éq) et l'acide carboxylique (1.3 à 3 éq). Le mélange est ensuite agité à la température de la pièce pour une période de 72 heures. On ajoute une solution aqueuse de bicarbonate de sodium 5% et de l'acétate d'éthyle. Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite à 4 reprises avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques combinées sont lavées avec une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium et séchées avec du sulfate de sodium.

Méthode d'estérification B

L'alcool (1 éq.) et l'acide carboxylique (3 éq.) sont dissous dans le N,N-diméthylformamide. On y ajoute l'azidure de diphénylphosphoryle (2 éq.) et la triéthylamine (6 éq.). Le mélange résultant est agité 48 heures à la température de la pièce. On ajoute une solution aqueuse de bicarbonate de sodium 5% et de l'acétate d'éthyle puis on sépare les phases. La phase aqueuse est extraite 4 fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques combinées sont lavées à l'aide d'une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium et séchées sur du sulfate de sodium anhydre.

3-O-Acétyle-3-épiryanodol (133)

Le 3-épiryanodol (17) (0.022 mmol, 9 mg) est estérifié avec l'acide acétique glacial (0.029 mmol, 1.7 µL) selon la méthode B. Après extraction et évaporation du solvant, le produit est

purifié sur plaque de gel de silice (0.5 mm, 10% méthanol dans le chloroforme). De cette façon, on obtient ainsi l'ester pur (7.5 mg) et on évite de manipuler ce dernier dans le méthanol car il est facilement transestérifié.

Rendement: 75%

Formule brute: $C_{22}H_{34}O_9$

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 5.07 (s, 1H, HC3), 3.78 (d, 1H, $J=10.1Hz$, HC10), 2.12 (s, 3H, CH_3 acétyl), 2.05 (m, 1H, $H_{ax}C7$), 2.00 (m, 1H, HC13), 1.92 (d, 1H, $J=14.3Hz$, $H_A C14$), 1.82 (m, 1H, HC9), 1.74 (d, 1H, $J=14.3Hz$, $H_B C14$), 1.50 (m, 2H, $H_{ax}C8$ et $H_{eq}C7$), 1.37 (s, 3H, CH_3C1), 1.30 (m, 1H, $H_{eq}C8$), 1.02 (d, 3H, $J=6.6Hz$, CH_3C13), 1.00 (d, 3H, $J=6.6Hz$, CH_3C9), 0.95 (s, 3H, CH_3C5), 0.82 (d, 3H, $J=6.9Hz$, CH_3C13).

IR (film, ν cm^{-1}): 3425, 2951, 1731, 1256.

SM (m/e): 442 (M^+), 424 ($M^+ - H_2O$), 399 ($M^+ - CH_3CO$), 381 ($M^+ - (CH_3CO + H_2O)$), 363 ($M^+ - (CH_3CO + H_2O)$).

SMHR: théorique: 442.2203 (M^+)
expérimentale: 442.2200

3-O-Benzoyl-3-épiryanodol (134)

L'acide benzoïque (0.13 mmol, 5.5 mg) et le 3-épiryanodol (17) (0.03 mmol, 12 mg) sont couplés selon la méthode B. Le brut est purifié sur plaque de gel de silice (0.5 mm, 10% méthanol dans le chloroforme) pour donner l'ester (6.3 mg) et l'alcool non réagi (3.5 mg).

Rendement: 42%

Formule brute: $C_{27}H_{36}O_9$

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 8.12 (m, 2H, ArH), 7.60 (m, 1H, ArH), 7.48 (m, 2H, ArH), 5.32 (s, 1H, HC3), 3.78 (d, 1H, $J=10.2Hz$, HC10), 2.10 (m, 2H, $H_{ax}C7$ et HC13), 1.97 (d, 1H, $J=14.2Hz$, $H_A C14$), 1.84 (d, 1H, $J=14.2Hz$, $H_B C14$), 1.82 (m, 1H, HC9) 1.52 (m, 2H,

H_{ax}C8 et H_{eq}C7), 1.42 (s, 3H, CH₃C1), 1.28 (m, 1H, H_{eq}C8), 1.06 (d, 3H, J=6.6Hz, CH₃C13), 1.05 (s, 3H, CH₃C5), 1.00 (d, 3H, J=6.5Hz, CH₃C9), 0.85 (d, 3H, J=6.8Hz, CH₃C13).

IR (film, ν cm⁻¹): 3426, 2929, 1725, 1454, 1273.

SM (m/e): 504 (M⁺), 486 (M⁺ - H₂O), 461 (M⁺ - C₃H₇), 443 (M⁺ - (C₃H₇ + H₂O)), 425 (M⁺ - (C₃H₇ + 2H₂O)).

SMHR: théorique: 504.2359 (M⁺)
 expérimentale: 504.2350

3-O-(3-pyridinecarbonyl)-3-épiryanodol (135)

Le 3-épiryanodol (17) (0.01 mmol, 4 mg) et l'acide nicotinique (0.013 mmol, 1.6 mg) sont traités selon la méthode d'estérification B. Suite à la purification du produit sur plaque de gel de silice (0.5 mm, 10% méthanol dans le chloroforme), on récolte le produit pur (4.9 mg).

Rendement: 98%

Formule brute: C₂₆H₃₅O₉N

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD, δ ppm): 9.23 (m, 1H, pyridine H), 8.73 (m, 1H, pyridine H), 8.50 (m, 1H, pyridine H), 7.56 (m, 1H, pyridine H), 5.34 (s, 1H, HC3), 3.78 (d, 1H, J=10.1Hz, HC10), 2.20 à 2.00 (m, 2H, H_{ax}C7 et HC13), 1.97 (d, 1H, J=14.1Hz, H_AC14), 1.90 à 1.75 (m, 1H, HC9), 1.83 (d, 1H, J=14.2Hz, H_BC14), 1.60 à 1.46 (m, 2H, H_{ax}C8 et H_{eq}C7), 1.43 (s, 3H, CH₃C1), 1.30 à 1.20 (m, 1H, H_{eq}C8), 1.06 (d, 3H, J=6.6Hz, CH₃C9), 1.04 (s, 3H, CH₃C5), 1.00 (d, 3H, J=6.5Hz, CH₃C13), 0.86 (d, 3H, J=6.8Hz, CH₃C13).

IR (film, ν cm⁻¹): 3344, 2922, 1725.

SM (m/e): 506 (M⁺ + H), 505 (M⁺), 487 (M⁺ - H₂O), 462 (M⁺ - C₃H₇), 444 (M⁺ - (C₃H₇ + H₂O)), 426 (M⁺ - (C₃H₇ + 2H₂O)).

SMHR: théorique: 505.2312 (M⁺)
 expérimentale: 505.2308

3-O-(2-indolecarbonyl)-3-épiryanodol (136)

L'estérification entre l'acide 2-indole carboxylique (0.018 mmol, 3 mg) et le 3-épiryanodol (17) (5.7 mg, 0.014 mmol) est effectuée par le biais de la méthode B. La purification du produit est réalisée sur plaque de gel de silice (0.5 mm, 10% méthanol dans le chloroforme). On obtient ainsi l'ester désiré (1.2 mg).

Rendement: 15%

Formule brute: $C_{29}H_{37}O_9N$

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 7.64 (m, 1H, ArH), 7.44 (m, 1H, ArH), 7.30 (s, 1H, indole H), 7.04 (m, 1H, ArH), 5.34 (s, 1H, HC3), 3.79 (d, 1H, $J=10.2Hz$, HC10), 2.25 à 2.00 (m, 2H, $H_{ax}C7$ et HC13), 1.98 (d, 1H, $J=14.2Hz$, $H_A C14$), 1.85 (d, 1H, $J=14.2Hz$, $H_B C14$), 1.60 à 1.44 (m, 2H, $H_{eq}C7$ et $H_{ax}C8$), 1.44 (s, 3H, CH_3C1), 1.30 (m, 1H, $H_{eq}C8$), 1.07 (d, 3H, $J=6.7Hz$, CH_3C9), 1.06 (s, 3H, CH_3C5), 1.01 (d, 3H, $J=6.5Hz$, CH_3C13), 0.88 (d, 3H, $J=6.9Hz$, CH_3C13).

IR (film, ν cm^{-1}): 3382, 2923, 1711, 1251, 1191.

SM (m/e): 543 (M^+), 525 ($M^+ - H_2O$), 500 ($M^+ - C_3H_7$).

SMHR: théorique: 543.2468 (M^+)

expérimentale: 543.2572

3-O-(3-indolecarbonyl)-3-épiryanodol (137)

La procédure décrite par la méthode d'estérification A est utilisée pour coupler l'acide 3-indole carboxylique (0.056 mmol, 9 mg) et le 3-épiryanodol (17) (0.055 mmol, 22 mg). La purification du brut se fait sur une plaque de gel de silice (0.5mm, 10% méthanol, 2% méthylamine (40% dans l'eau) dans le chloroforme).

Rendement: 47%

Formule brute: $C_{29}H_{37}O_9N$

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 8.16 (s, 1H, indole H), 8.14 (m, 1H, ArH), 7.43 (m, 1H, ArH), 7.18 (m, 1H, ArH), 5.37 (s, 1H, HC3), 3.80 (d, 1H, $J=10.3\text{Hz}$, HC10), 2.10 (m, 2H, $\text{H}_{\text{ax}}\text{C7}$ et HC13), 1.99 (d, 1H, $J=14.2\text{Hz}$, $\text{H}_{\text{A}}\text{C14}$), 1.88 (d, 1H, $J=14.2\text{Hz}$, $\text{H}_{\text{B}}\text{C14}$), 1.85 (m, 1H, HC9), 1.52 (m, 2H, $\text{H}_{\text{ax}}\text{C8}$ et $\text{H}_{\text{eq}}\text{C7}$), 1.44 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{C1}$), 1.28 (m, 1H, $\text{H}_{\text{eq}}\text{C8}$), 1.09 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{C5}$), 1.06 (d, 3H, $J=6.6\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{C13}$), 1.00 (d, 3H, $J=6.5\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{C9}$), 0.88 (d, 3H, $J=6.9\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{C13}$).

IR (film, ν cm^{-1}): 3397, 2970, 1690, 1432, 1156, 1014.

SM (m/e): 543 (M^+), 525 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 500 ($\text{M}^+ - \text{C}_3\text{H}_7$).

SMHR: théorique: 543.2468 (M^+)

 expérimentale: 543.2477

3-O-(N-CBZ-glycyl)-3-épiryanodol (138)

La N-CBZ-glycine (0.061 mmol, 13 mg) et le 3-épiryanodol (17) (0.047 mmol, 19 mg) sont couplés selon la méthode B. Le brut est purifié sur plaque de gel de silice (0.5 mm, 10% méthanol dans le chloroforme) pour donner l'ester désiré (6.3 mg).

Rendement: 23%

Formule brute: $\text{C}_{30}\text{H}_{41}\text{O}_{11}\text{N}$

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 7.32 (m, 5H, ArH), 5.10 (m, 3H, CH_2 benzylique et HC3), 4.03 et 3.96 (d, 1H, $J_{\text{AB}}=17.9\text{Hz}$, $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COOR}$), 3.78 (d, 1H, $J=10.2\text{Hz}$, HC10), 2.11 à 1.98 (m, 2H, $\text{H}_{\text{ax}}\text{C7}$ et HC13), 1.93 (d, 1H, $J=14.2\text{Hz}$, $\text{H}_{\text{A}}\text{C14}$), 1.85 à 1.78 (m, 1H, HC9), 1.74 (d, 1H, $J=14.2\text{Hz}$, $\text{H}_{\text{B}}\text{C14}$), 1.53 à 1.48 (m, 2H, $\text{H}_{\text{ax}}\text{C8}$ et $\text{H}_{\text{eq}}\text{C7}$), 1.37 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{C1}$), 1.23 (m, 1H, $\text{H}_{\text{eq}}\text{C8}$), 1.02 (d, 3H, $J=6.5\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{C13}$), 1.01 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{C5}$), 0.96 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{C5}$), 0.99 (d, 3H, $J=6.5\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{C9}$), 0.83 (s, 3H, $J=6.8\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{C13}$).

IR (film, ν cm^{-1}): 3342, 2975, 1708.

SM (m/e): 555 ($\text{M}^+ - 2\text{H}_2\text{O}$), 537 ($\text{M}^+ - 3\text{H}_2\text{O}$).

SMHR: théorique: 537.2362 ($\text{M}^+ - 3\text{H}_2\text{O}$)

expérimentale: 537.2367

3-O-(N-CBZ-β-alanyl)-3-épiryanodol (139)

Le 3-épiryanodol (17) (0.025 mmol, 10 mg) est estérifié avec la N-CBZ-β-alanine (0.032 mmol, 7.3 mg) selon la méthode B. Après extraction et évaporation du solvant, le produit est purifié sur plaque de gel de silice (0.5 mm, 15% méthanol dans le chloroforme). De cette façon, on obtient ainsi l'ester pur (6 mg) et l'alcool de départ (3 mg)

Rendement: 40%

Formule brute: C₃₁H₄₃O₁₁N

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD, δ ppm): 7.32 (m, 5H, ArH), 5.11 (s, 1H, HC3), 5.06 (s, 2H, CH₂ benzyl), 3.78 (d, 1H, J=10.2Hz, HC10), 3.44 (t, 2H, J=6.5Hz, -NH-CH₂-CH₂-COOR), 2.63 (t, 2H, J=6.5Hz, -NH-CH₂-CH₂-COOR), 2.09 (m, 1H, H_{ax}C7), 1.99 (m, 1H, HC13), 1.92 (d, 1H, J=14.3Hz, H_AC14), 1.75 (d, 1H, J=14.3Hz, H_BC14), 1.88 à 1.75 (m, 1H, HC9), 1.67 à 1.43 (m, 2H, H_{ax}C8 et H_{eq}C7), 1.37 (s, 3H, CH₃C1), 1.02 (d, 3H, J=6.4Hz, CH₃C9), 1.00 (d, 3H, J=6.4Hz, CH₃C13), 0.96 (s, 3H, CH₃C5), 0.80 (d, 3H, J=6.9Hz, CH₃C13).

IR (film, ν cm⁻¹): 3370, 2975, 1698.

SM (m/e): 587 (M⁺-H₂O), 562 (M⁺ - C₃H₇), 544 (M⁺ -(C₃H₇ + H₂O)).

SMHR: théorique: 587.2730 (M⁺-H₂O)

expérimentale: 587.2726

3-O-(2-thiophenecarbonyl)-3-épiryanodol (140)

La méthode d'estérification B est utilisée pour coupler l'acide-2-thiophénecarboxylique (0.11 mmol, 14 mg) et le 3-épiryanodol (17) (0.0325 mmol, 13 mg) et donner le produit désiré (0.0119 mmol, 6.1 mg) après purification sur plaque préparative (0.5 mm, 15% méthanol dans le chloroforme)

Rendement: 37%

Formule brute: $C_{25}H_{34}O_9S$

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 7.93 (m, 1H, thiophène H), 7.76 (m, 1H, thiophène H), 7.15 (m, 1H, thiophène H), 5.25 (s, 1H, HC3), 3.78 (d, 1H, $J=10.3Hz$, HC10), 2.20 à 2.04 (m, 2H, $H_{ax}C7$ et HC13), 1.97 (d, 1H, $J=14.3Hz$, $H_A C14$), 1.90 à 1.75 (m, 1H, HC9), 1.81 (d, 1H, $J=14.3Hz$, $H_B C14$), 1.52 à 1.49 (m, 2H, $H_{eq}C7$ et $H_{ax}C8$), 1.41 (s, 3H, CH_3C1), 1.30 à 1.27 (m, 1H, $H_{eq}C8$), 1.05 (d, 3H, $J=6.5Hz$, CH_3C13), 1.04 (s, 3H, CH_3C5) 1.00 (d, 3H, $J=6.6Hz$, CH_3C9), 0.86 (d, 3H, $J=6.8Hz$, CH_3C13).

IR (film, ν cm^{-1}): 3355, 3186, 2936, 1657, 1603, 1434.

SM (m/e): 510 (M^+), 492 ($M^+ - H_2O$), 467 ($M^+ - C_3H_7$), 449 ($M^+ - (C_3H_7 + H_2O)$), 431 ($M^+ - (C_3H_7 + 2H_2O)$).

SMHR: théorique: 510.1923 (M^+)

 expérimentale: 510.1931

3-O-(2-furanecarbonyl)-3-épiryanodol (141)

Le produit de couplage est obtenu par réaction entre le 3-épiryanodol (17) (0.037 mmol, 15 mg) et l'acide-2-furanecarboxylique (15 mg) selon la méthode générale B. La purification, réalisée sur plaque de gel de silice, (0.5 mm, 15% méthanol dans le chloroforme) conduit au produit désiré.

Rendement: 20%

Formule brute: $C_{25}H_{34}O_{10}$

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 7.76 (m, 1H, furane H), 7.40 (m, 1H, furane H), 6.61 (m, 1H, furane H), 5.25 (s, 1H, HC3), 3.78 (d, 1H, $J=10.1Hz$, HC10), 2.20 à 2.00 (m, 2H, $H_{ax}C7$ et HC13), 1.96 (d, 1H, $J=14.2Hz$, $H_A C14$), 1.90 à 1.76 (m, 1H, HC9), 1.81 (d, 1H, $J=14.2Hz$, $H_B C14$), 1.53 à 1.48 (m, 2H, $H_{ax}C8$ et $H_{eq}C7$), 1.40 (s, 3H, CH_3C1), 1.29 (m, 1H, $H_{eq}C8$), 1.05 (d, 3H, $J=6.6Hz$, CH_3C13), 1.03 (s, 3H, CH_3C5), 1.00 (d, 3H, $J=6.5Hz$, CH_3C9), 0.84 (d, 3H, $J=6.9Hz$, CH_3C13).

IR (film, ν cm^{-1}): 3337, 2946, 1719, 1470, 1301, 1114.

SM (m/e): 494 (M^+), 476 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 451 ($\text{M}^+ - \text{C}_3\text{H}_7$), 433 ($\text{M}^+ - (\text{C}_3\text{H}_7 + \text{H}_2\text{O})$), 415 ($\text{M}^+ - (\text{C}_3\text{H}_7 + 2\text{H}_2\text{O})$).

SMHR: théorique: 494.2152 (M^+)
 expérimentale: 494.2164

3-O-glycyl-3-épiryanodol (142)

Le 3-O-(N-CBZ-glycyl)-3-épiryanodol (9 mg, 0.015 mmol) dans le THF (3 mL) est traité par le palladium 10% sur charbon en présence d'hydrogène pendant 2 heures. Le catalyseur est filtré sur célite et le solvant est évaporé pour donner le produit pur (5.3 mg).

Rendement: 78%

Formulé brute: $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{O}_9\text{N}$

SM (m/e): 439 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 427 ($\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{NH}_2$), 414 ($\text{M}^+ - \text{C}_3\text{H}_7$)

SMHR: théorique: 439.2206 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$)
 expérimentale: 439.2217

Hémisuccinate de benzyle (145)

L'alcool benzylique (3 gr, 27.8 mmol) est ajouté à une solution d'acide succinique (4 gr, 33.9 mmol) dans le tétrahydrofurane (140 mL). De l'acide sulfurique est ajouté (0.5 mL) et le mélange est chauffé à reflux pour un période de 24 heures. De l'eau (50 mL) est ajouté et le THF est évaporé. La phase aqueuse est extraite avec de l'éther (3X50 mL). Les phases organiques combinées sont lavées avec une solution aqueuse de bicarbonate de sodium (3X50 mL). Ces phases aqueuses basiques sont combinées, acidifiées (pH=1) avec du HCl (concentré) et extraites avec de l'éther (3X50 mL). La phase organique résultante est lavée avec une solution de chlorure de sodium saturée, séchée avec du sulfate de magnésium et évaporée. Le brut est purifié par chromatographie-éclair (45% d'acétate d'éthyle, 50% d'hexane et 3%

d'acide acétique). Le produit (538 mg) est ensuite recristallisé dans un mélange d'éther et d'hexane pour donner le produit **145** cristallin (319 mg).

Rendement: 5%

Formule brute: $C_{11}H_{12}O_4$

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 7.33 (m, 5H, ArH), 5.12 (s, 2H, CH_2 benzyl), 2.61 (m, 4H, Bz-OOC- $\underline{CH_2}$ - $\underline{CH_2}$ -COOH).

RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD , δ ppm): 176.9, 174.0, 129.5, 129.1, 67.4, 30.0, 29.7.

IR (film, ν cm^{-1}): 3033, 2686, 1725, 1432, 1245, 1183, 952.

PF: 59-60°C (éther\hexane)

SM (m/e): 208 (M^+), 190 ($M^+ - H_2O$), 162 ($M^+ - HCOOH$)

SMHR: théorique: 208.0736 (M^+)

expérimental: 208.0731

10-O-Benzylsuccinoylryanodol (146)

Le ryanodol (**4**) (30 mg, 0.075 mmol) est couplé avec l'acide **145** (80 mg, 0.380 mmol) selon la méthode d'estérification A. Suite au traitement, le produit est purifié par chromatographie-éclair (10% d'acétone dans l'éther et 0.5% d'acide acétique) pour donner le diester **146** pur (5.6 mg).

Rendement: 13%

Formule brute: $C_{31}H_{40}O_{11}$

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 7.33 (m, 5H, ArH), 5.26 (d, 1H, $J=10.6Hz$, HC10), 5.12 (s, 2H, CH_2 Benzyl), 4.07 (s, 1H, HC3), 2.67 (m, 4H, Bz-OOC- $\underline{CH_2}$ - $\underline{CH_2}$ -COOR), 2.53 (d, 1H, $13.4Hz$, $H_A C_{14}$), 2.20 à 1.93 (m, 3H, HC7, HC13 et HC9), 1.74 (d, 1H, $13.4Hz$, $H_B C_{14}$), 1.54 (m, 2H, HC7 et HC8), 1.34 (s, 3H, $CH_3 C_1$), 1.31 (m, 1H, HC8), 1.12 (s, 3H, $CH_3 C_5$), 1.07 (d, 3H, $J=6.7Hz$, CH_3 sur CH), 0.98 (d, 3H, $J=6.4Hz$, CH_3 sur CH), 0.80 (d, 3H, $J=6.6Hz$, CH_3 sur CH).

IR (film, ν cm^{-1}): 3400, 2937, 1728, 1390, 1257, 1168, 999.

SM (m/e): 572 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 554 ($\text{M}^+ - 2\text{H}_2\text{O}$), 529 ($\text{M}^+ - (\text{C}_3\text{H}_7 + \text{H}_2\text{O})$)

SMHR: théorique: 572.2621 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$)

expérimental: 572.2614

10-O-Succinoylryanodol (147)

L'ester **146** (5 mg, 0.0085 mmol) dissous dans le THF (1.5 mL) est traité par le palladium sur charbon (5 mg) en présence d'hydrogène. Après 2 heures d'agitation, le catalyseur est filtré sur célite et le solvant est évaporé. On obtient ainsi l'acide **147** pur (4.1 mg).

Rendement: 96%

Formule brute: $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_{11}$

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 5.26 (d, 1H, $J=10.6\text{Hz}$, HC10), 4.07 (s, 1H, HC3), 2.61 (m, 4H, $\text{HOOC}-\underline{\text{CH}_2}-\underline{\text{CH}_2}-\text{COOR}$), 2.52 (d, 1H, $J=13.4\text{Hz}$, $\text{H}_\text{A}\text{C14}$), 2.15 à 1.98 (m, 3H, HC7, HC13 et HC9), 1.74 (d, 1H, $J=13.4\text{Hz}$, $\text{H}_\text{B}\text{C14}$), 1.58 (m, 2H, HC8 et HC7), 1.34 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{C1}$), 1.11 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{C5}$), 1.07 (d, 3H, $J=6.9\text{Hz}$, CH_3 sur CH), 0.97 (d, 3H, $J=6.9\text{Hz}$, CH_3 sur CH), 0.84 (d, 3H, $J=6.6\text{Hz}$, CH_3 sur CH).

IR (film, ν cm^{-1}): 3426, 2937, 1719, 1390, 1239, 1168, 999.

SM (m/e): 482 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 464 ($\text{M}^+ - 2\text{H}_2\text{O}$), 446 ($\text{M}^+ - 3\text{H}_2\text{O}$), 421 ($\text{M}^+ - (\text{C}_3\text{H}_7 + 2\text{H}_2\text{O})$).

SMHR: théorique: 482.2152 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$)

expérimental: 482.2149

10-O-Pyrrolecarbonyl-8_{ax}-hydroxy-9,21-didéhydro-10-épiryanodine (148)

L'ester F (**27**) (0.037 mmol, 19 mg) est estérifié par l'acide 2-pyrrole carboxylique (0.037 mmol, 4 mg) selon la méthode générale A. Suite au traitement, le produit est purifié sur plaque

de gel de silice (0.5 mm, 15% de méthanol dans le chloroforme) pour donner le produit désiré pur (8 mg).

Rendement: 36%

Formule brute: $C_{30}H_{36}O_{11}N_2$

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 7.03, 6.86 et 6.23 (m, 3H, pyrrole H en C3), 6.96, 6.78 et 6.17 (m, 3H, pyrrole H en C10), 5.78 (s, 1H, HC10), 5.60 (s, 1H, HC3), 5.40 (d, 1H, $J=1.7Hz$, HC21), 5.32 (d, 1H, $J=1.7Hz$, HC21), 4.53 (m, 1H, HC8), 2.63 (d, 1H, $J=13.8Hz$, $H_A C14$), 2.39 (dd, 1H, $J=13.5Hz$ et $3.8Hz$, $H_{eq} C7$) 2.23 (h, 1H, $J=6.6Hz$, HC13), 1.89 (d, 1H, $J=13.8Hz$, $H_B C14$), 1.84 (dd, 1H, $J=13.5Hz$ et $2.3Hz$, $H_{eq} C7$), 1.37 (s, 3H, $CH_3 C1$), 1.06 (d, 3H, $J=6.7Hz$, $CH_3 C13$), 1.01 (s, 3H, $CH_3 C5$), 0.71 (d, 3H, $J=6.4Hz$, $CH_3 C13$).

IR (film, ν cm^{-1}): 3344, 2926, 1699, 1405, 1325, 1165.

SM (m/e): 600 (M^+), 582 ($M^+ - H_2O$), 564 ($M^+ - 2H_2O$).

SMHR: théorique: 582.2213 ($M^+ - H_2O$)

expérimental: 582.2216

10-O-Pyrrolecarbonylcinnzeylanol (149)

Le cinnzeylanol (**32**) (12 mg, 0.031 mmol) est estérifié par l'acide 2-pyrrole carboxylique (7 mg, 0.063 mmol) selon la méthode générale A. Suite à la purification sur plaque de gel de silice (0.5 mm, 10% de méthanol dans le chloroforme) on récupère l'alcool **32** inchangé (8 mg) et le produit de couplage **149** (2 mg) désiré.

Rendement: 14%

Formule brute: $C_{25}H_{35}O_8N$

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 6.95 (m, 1H, pyrrole H), 6.90 (m, 1H, pyrrole H), 6.18 (m, 1H, pyrrole H), 5.45 (d, 1H, $J=10.6Hz$, HC10), 2.39 (d, 1H, $J=15.5Hz$, $H_A C14$), 2.23 à 2.11 (m, 2H, HC9 et $H_{ax} C7$), 1.89 (d, 1H, $J=13.7Hz$, $H_A C3$), 1.90 (m, 1H, HC13), 1.76 (d, 1H, $J=13.7Hz$, $H_B C3$), 1.72 (d, 1H, $J=15.5Hz$, $H_B C14$), 1.62 (m, 2H, $H_{ax} C8$ et $H_{eq} C7$), 1.38 (m,

1H, H_{eq}C8), 1.24 (s, 3H, CH₃C1), 0.96 (d, 3H, J=6.6Hz, CH₃C9), 0.92 (d, 3H, J=6.8Hz, CH₃C13), 0.89 (s, 3H, CH₃C5), 0.86 (d, 3H, J=6.6Hz, CH₃C13).

SM (m/e): 441 (M⁺ - 2H₂O), 416 (M⁺ - (C₃H₇ + H₂O)), 366 (M⁺ - C₃H₄O₂N)

SMHR: théorique: 441.2151 (M⁺ - 2H₂O)

expérimental: 441.2158

18-O-Pyrrrolicarboxyl-18-hydroxyryanodine (150)

La 18-hydroxyryanodine (20) (8 mg, 0.016 mmol) est couplé selon la méthode générale A avec l'acide 2-pyrrole carboxylique (2.6 mg, 0.023 mmol). Le brut est purifié sur plaque de gel de silice (0.5mm, 10% méthanol, 2% méthyle amine (40% dans l'eau) dans le chloroforme).

Rendement: 10%

Formule brute: C₃₀H₃₈O₁₀N₂

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD, δ ppm): 7.04 (m, 1H, pyrrole H), 6.92 (m, 2H, pyrrole H), 6.80 (m, 1H, pyrrole H), 6.25 (m, 1H, pyrrole H), 6.16 (m, 1H, pyrrole H), 5.69 (s, 1H, HC3), 4.84 (dd, 1H, J=10.0Hz et J=3.8Hz, H_AC18), 4.31 (t app., 1H, J=10.0Hz, H_BC18), 3.79 (d, 1H, J=10.1Hz, HC10), 2.57 (d, 1H, J=13.8Hz, H_AC14), 2.58 (m, 1H, HC13), 2.08 (m, 1H, HC7), 1.97 (d, 1H, J=13.8Hz, H_BC14), 1.84 (m, 1H, HC9), 1.50 (m, 2H, HC7 et HC8), 1.39 (s, 3H, CH₃C1), 1.01 (d, 3H, J=6.5Hz, CH₃C9), 0.93 (d, 3H, J=6.3Hz, CH₃C13), 0.91 (s, 3H, CH₃C5).

IR (film, ν cm⁻¹): 3320, 2946, 1692, 1408, 1319, 1168.

SM (m/e): 584 (M⁺ - H₂O), 566 (M⁺ - 2H₂O), 548 (M⁺ - 3H₂O).

SMHR: théorique: 584.2370 (M⁺ - H₂O)

expérimental: 584.2365

10-O-Pyrrolecarbonylryanodine (151)

La ryanodine (1) (43 mg, 0.087 mmol) et l'acide 2-pyrrole carboxylique (19 mg, 0.171 mmol) sont traités selon la méthode d'estérification B. Suite à la purification, on obtient le diester **151** (2 mg) et la ryanodine (1) inchangée (40 mg).

Rendement: 4%

Formule brute: $C_{30}H_{38}O_{10}N_2$

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 7.03 (m, 1H, pyrrole H), 6.96 (m, 1H, pyrrole H), 6.91 (m, 1H, pyrrole H), 6.86 (m, 1H, pyrrole H), 6.23 (m, 1H, pyrrole H), 6.19 (m, 1H, pyrrole H), 5.57 (s, 1H, HC3), 5.44 (d, 1H, $J=10.5Hz$, HC10), 2.59 (d, 1H, $J=13.7Hz$, $H_A C14$), 2.26 à 2.11 (m, 3H, $H_{ax} C7$, HC13 et HC9), 1.98 (d, 1H, $J=13.7Hz$, $H_B C14$), 1.62 (m, 2H, $H_{ax} C8$ et $H_{eq} C7$), 1.34 (m, 1H, $H_{eq} C8$), 1.31 (s, 3H, $CH_3 C1$), 1.08 (d, 3H, $J=6.7Hz$, $CH_3 C13$), 0.91 (s, 3H, $CH_3 C5$), 0.86 (d, 3H, $J=6.6Hz$, $CH_3 C9$), 0.71 (d, 3H, $J=6.4Hz$, $CH_3 C13$).

IR (film, νcm^{-1}): 3329, 2934, 1685, 1415, 1325, 1182.

SM (m/e): 475 ($M^+ - C_5H_5O_2N$), 457 ($M^+ - (C_5H_5O_2N + H_2O)$), 439 ($M^+ - (C_5H_5O_2N + 2H_2O)$).

SMHR: théorique: 475.2206 ($M^+ - C_5H_5O_2N$)

expérimental: 475.2201

3-O-(3-pyridinecarbonyl)-3-épi-2-déoxyryanodol (152)

Le couplage entre l'acide 3-pyridine carboxylique (0.04mmol, 5mg) et le 2-déoxy-3-épi-ryanodol (**122**) (0.026 mmol, 10 mg) est effectué selon le procédé d'estérification B. L'ester est par la suite purifié sur plaque de gel de silice (0.5mm, 10% méthanol dans le chloroforme).

Rendement: 27%

Formule brute: $C_{26}H_{35}O_8N$

RMN 1H (300 MHz, CD_3OD , δ ppm): 9.15 (m, 1H, pyridine H), 8.72 (m, 1H, pyridine H), 8.44 (m, 1H, pyridine H), 7.56 (m, 1H, pyridine H), 5.25 (d, 1H, $J=5.5Hz$, HC3), 3.80 (d, 1H, $J=10.2Hz$, HC10), 2.30 à 1.70 (m, 4H, HC13, HC9, HC2 et $H_{ax} C7$), 1.93 (d, 1H, $J=13.9Hz$,

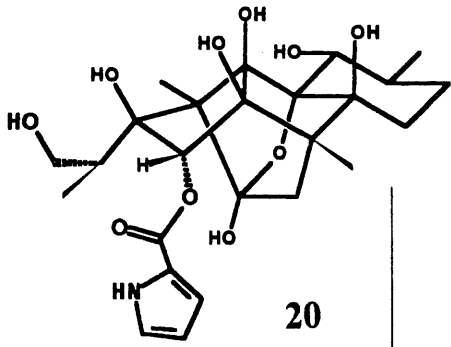
H_AC14), 1.76 (d, 1H, J=13.9Hz, H_BC14), 1.60 à 1.40 (m, 2H, H_{ax}C8 et H_{éq}C7), 1.34 (s, 3H, CH₃C1), 1.09 (d, 3H, J=6.1Hz, CH₃C13), 1.04 (s, 3H, CH₃C5), 1.00 (d, 3H, J=6.4Hz, CH₃C9), 0.91 (d, 3H, J=6.2Hz, CH₃C13).

IR (film, ν cm⁻¹): 3359, 2937, 1725, 1461.

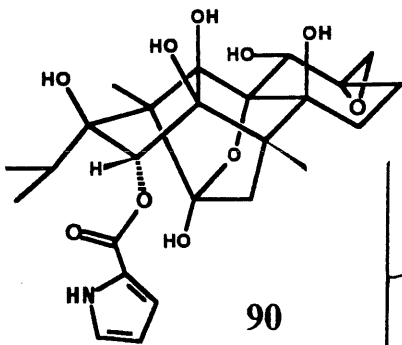
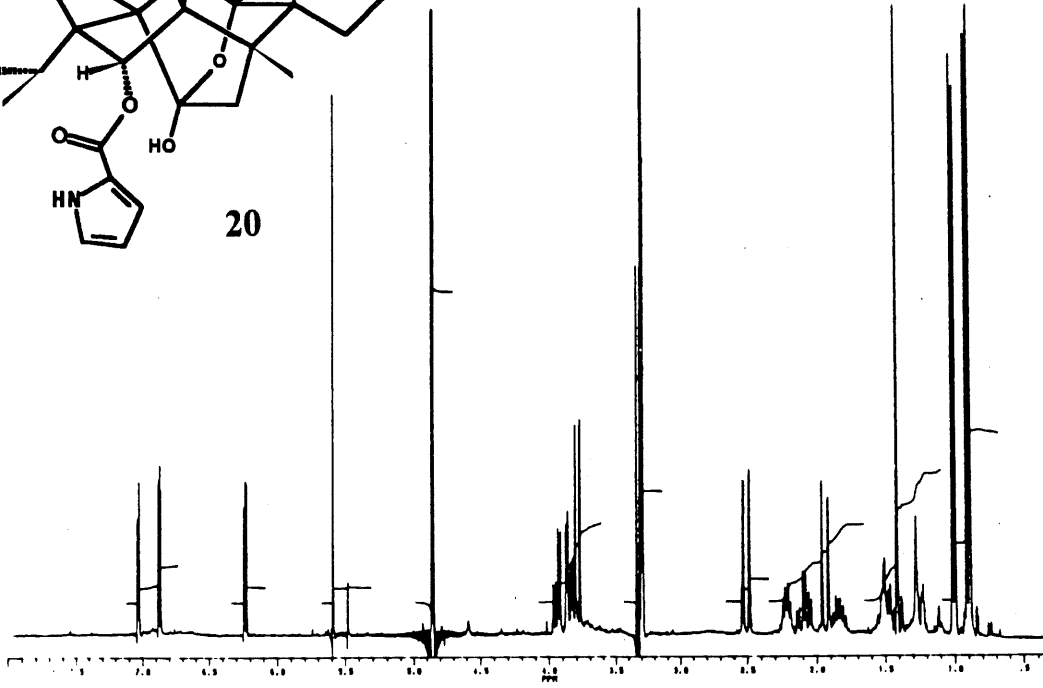
SM (m/e): 490 (M⁺ + H), 471 (M⁺ - H₂O), 453 (M⁺ - 2H₂O), 410 (M⁺ -(C₃H₇ + 2H₂O)).

SMHR: théorique: 489.2363 (M⁺)

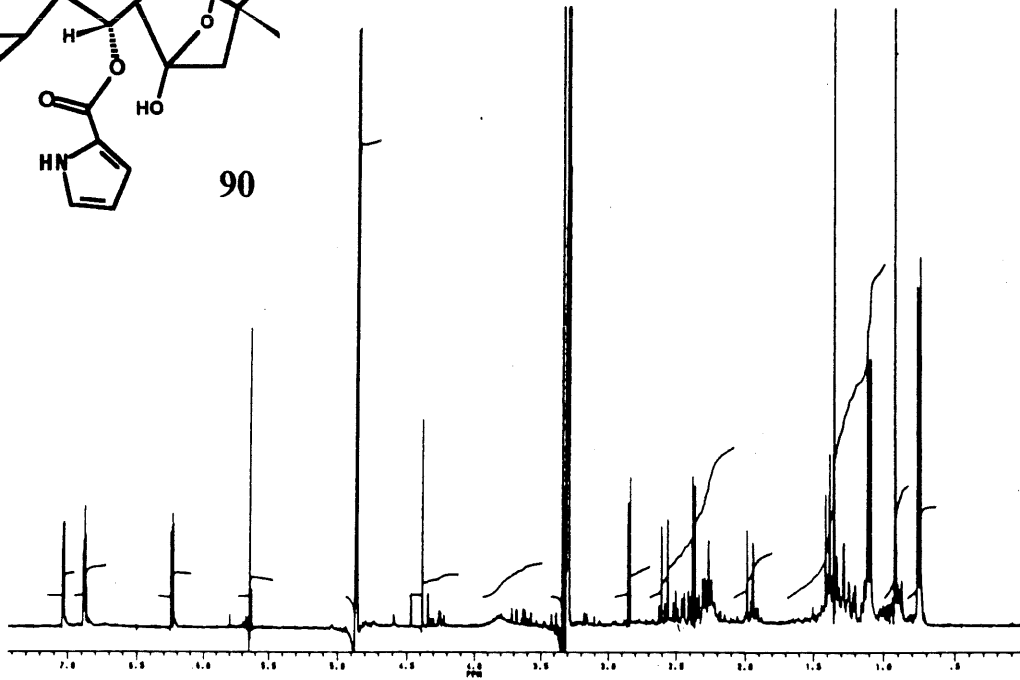
 expérimental: 489.2351

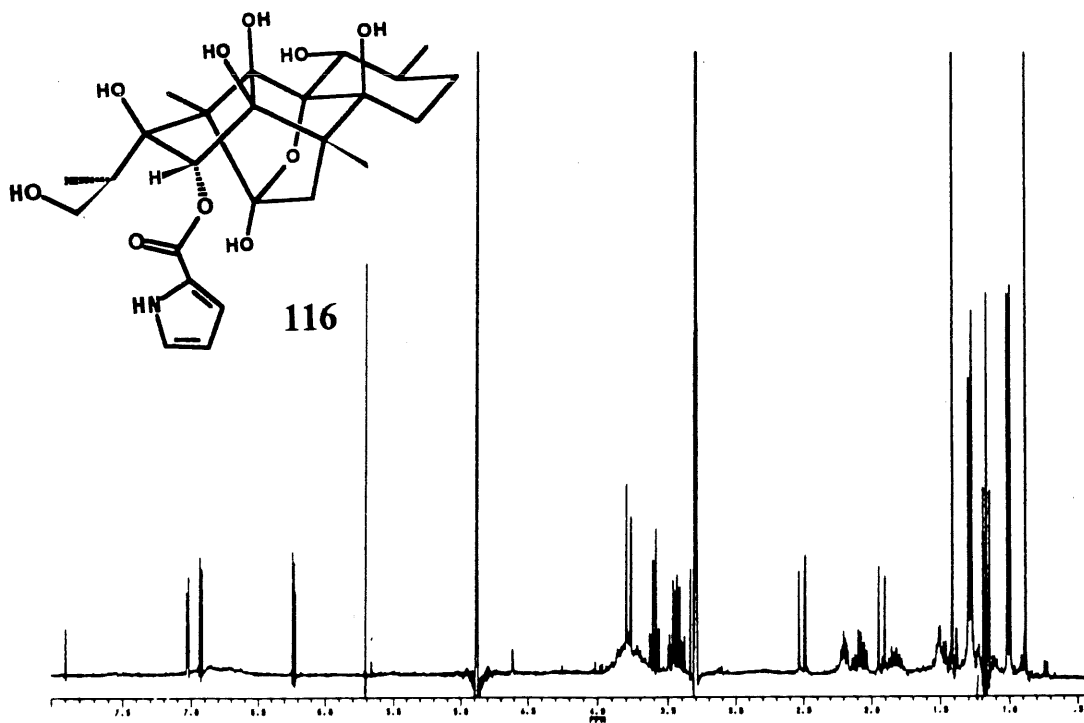
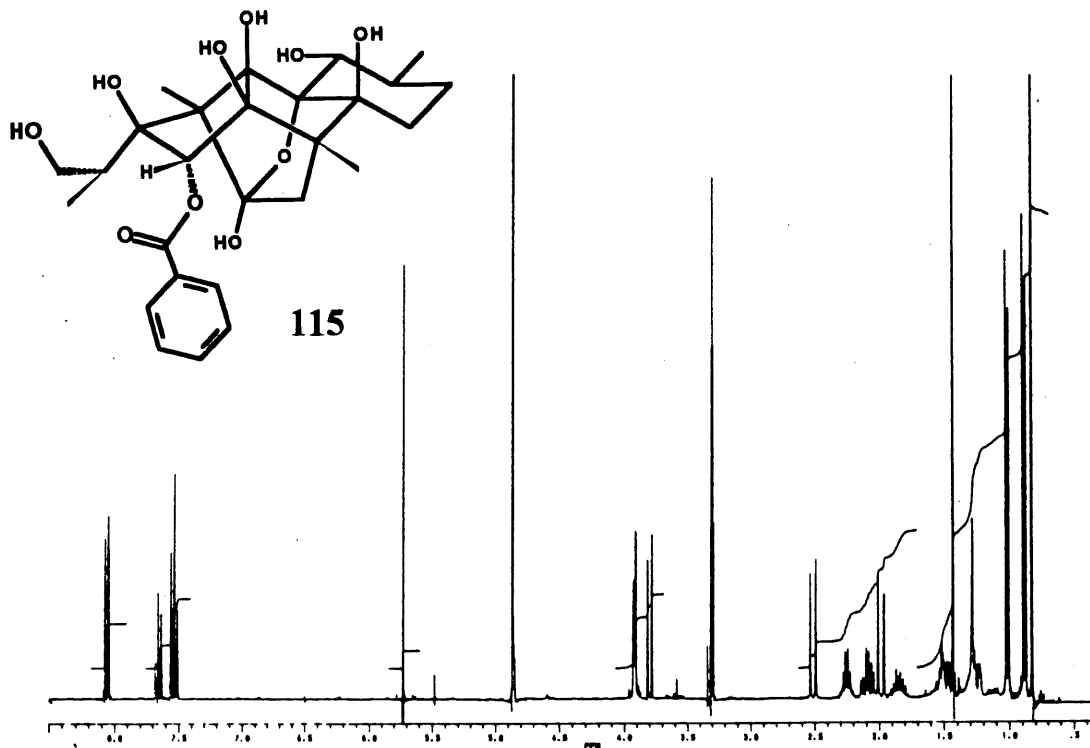


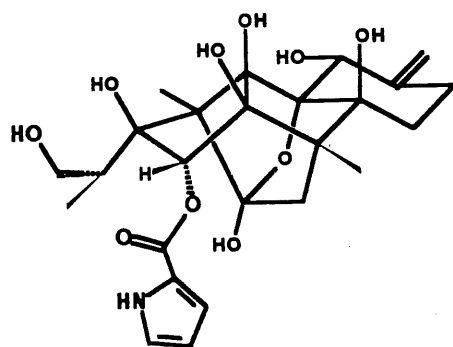
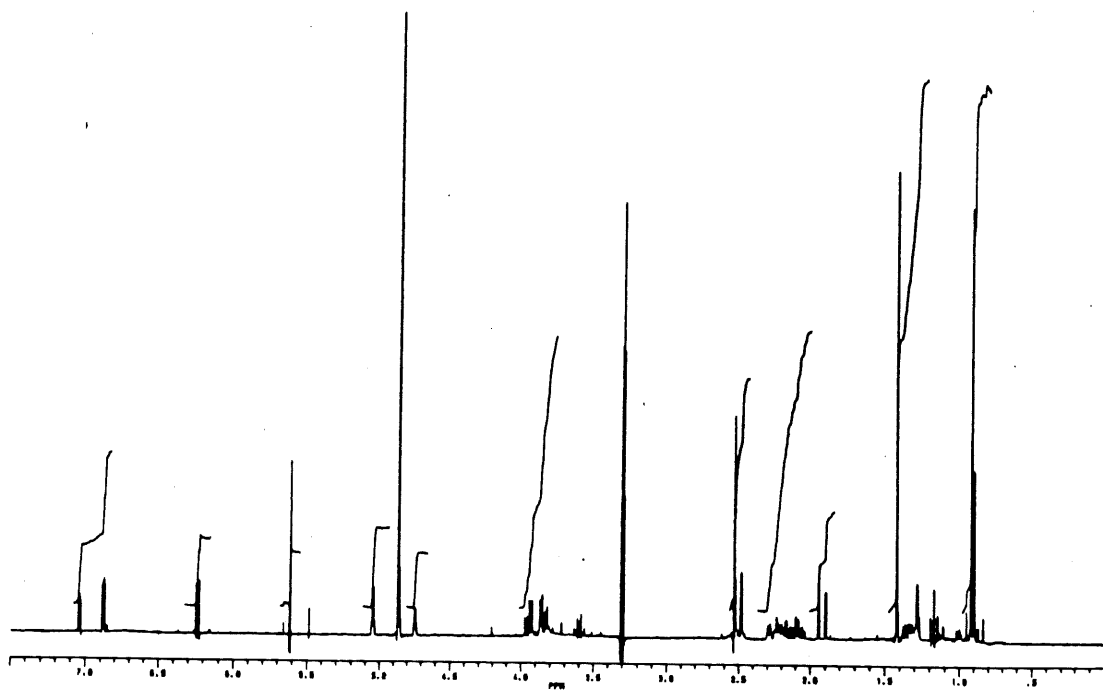
20



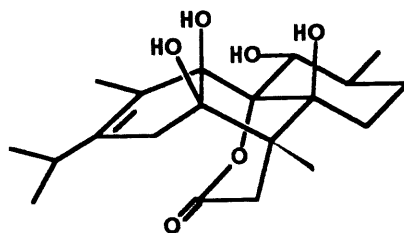
90



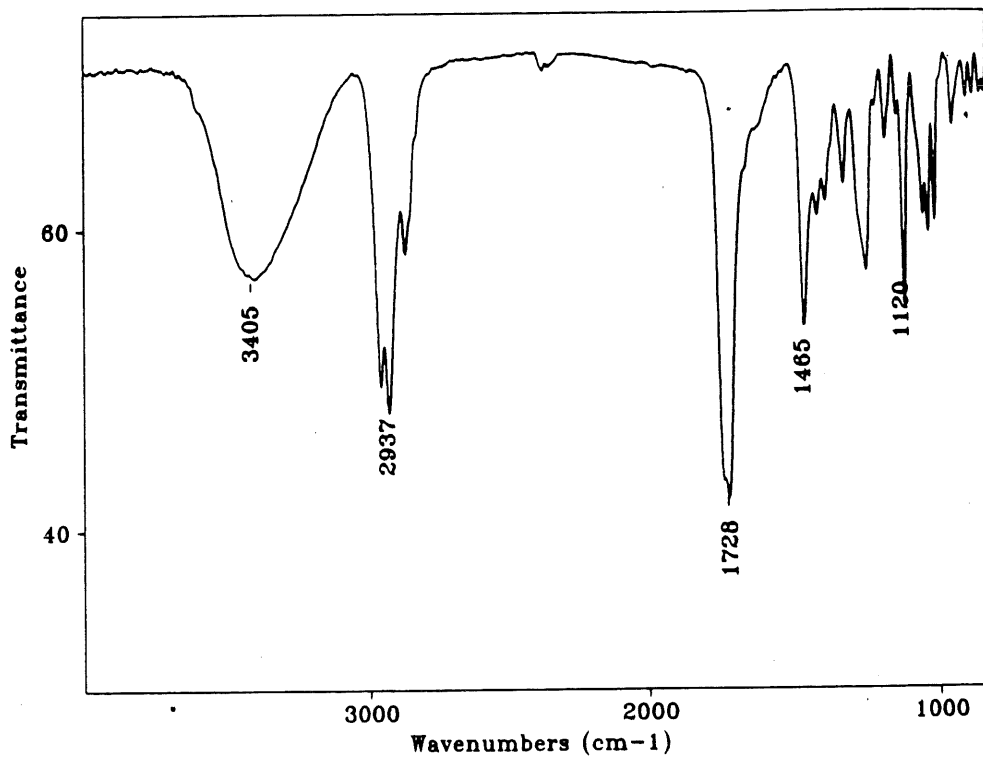
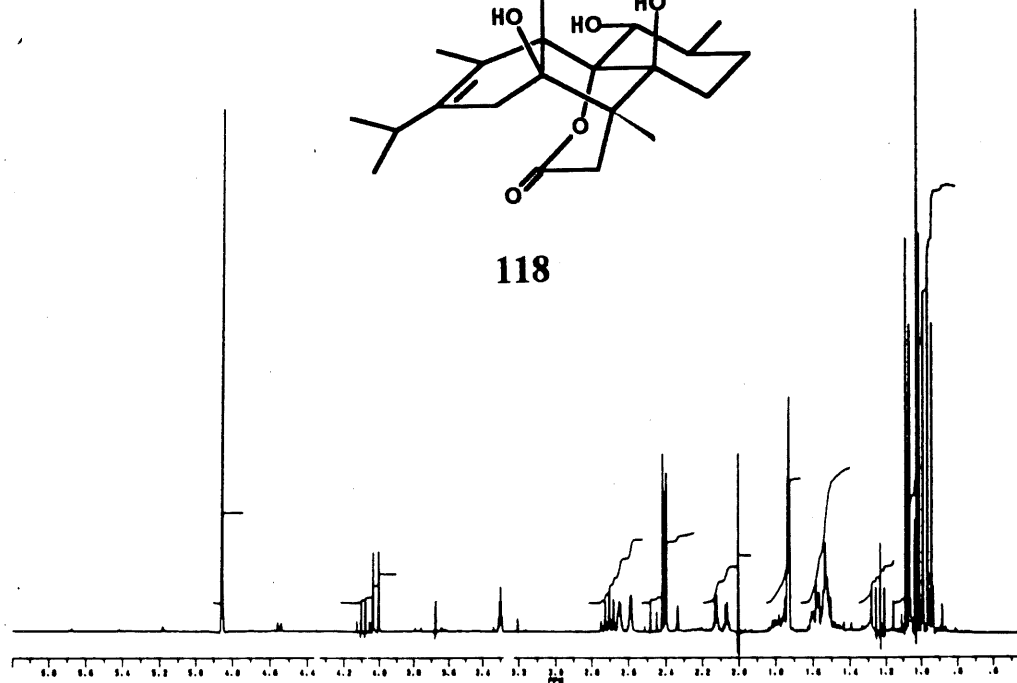


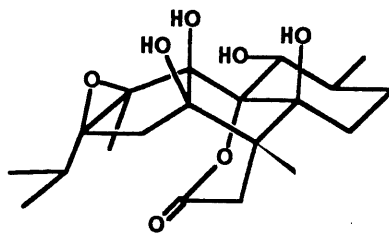


117

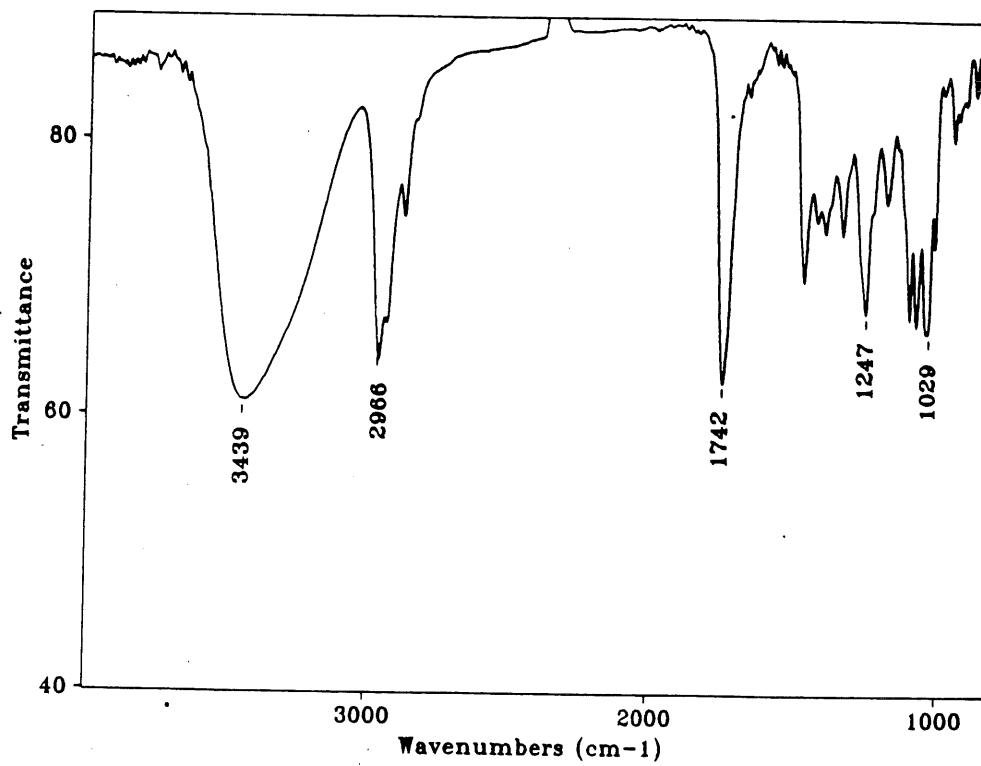
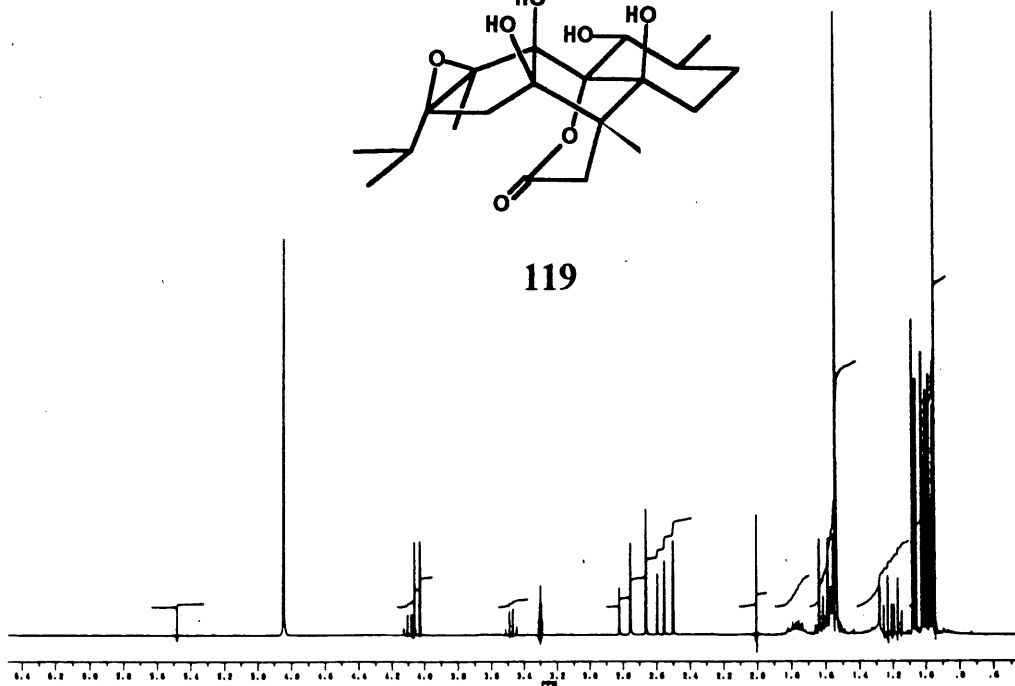


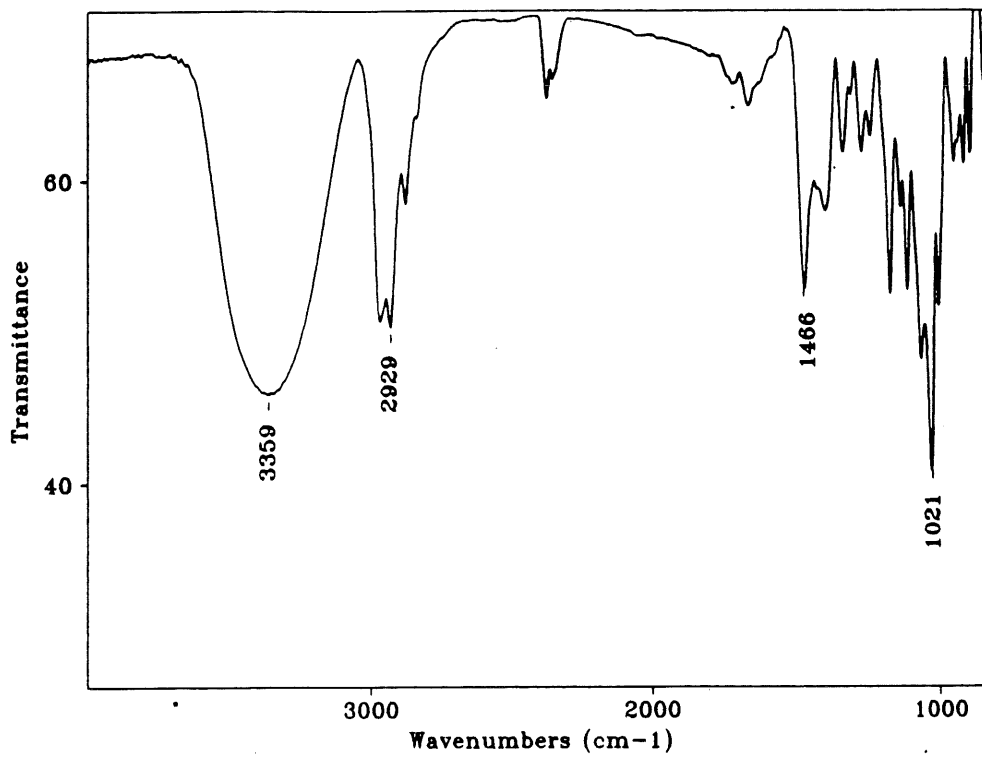
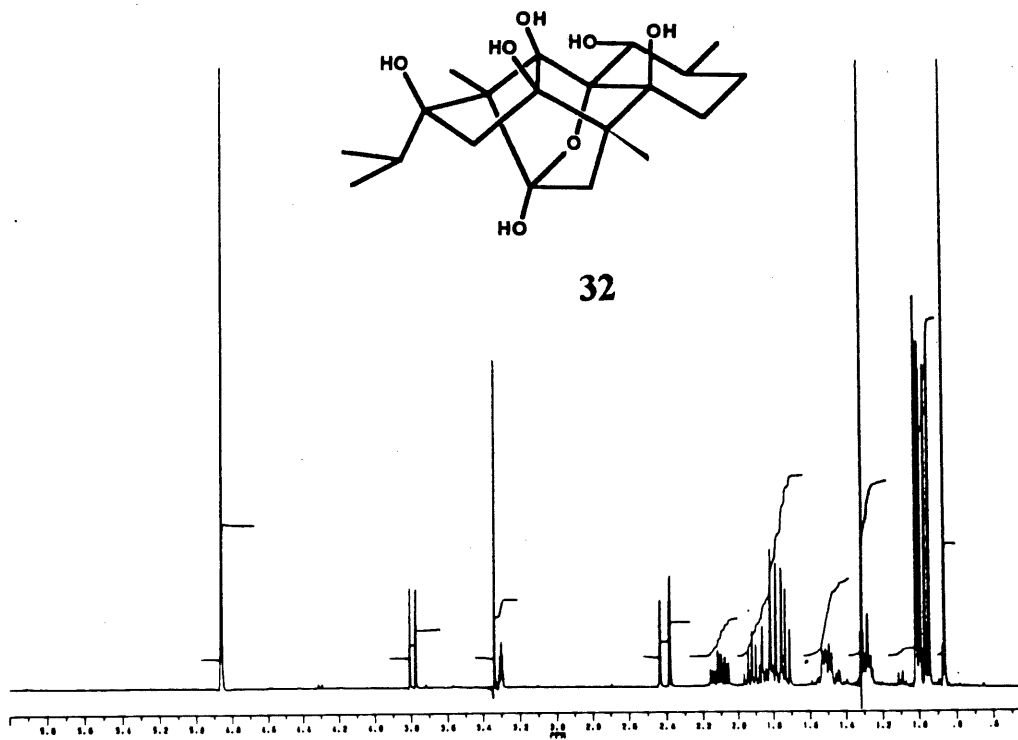
118

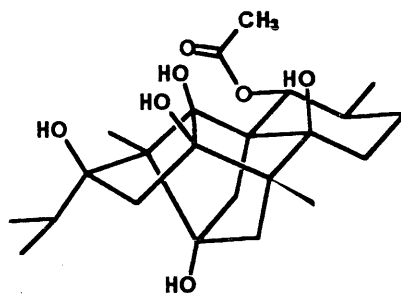
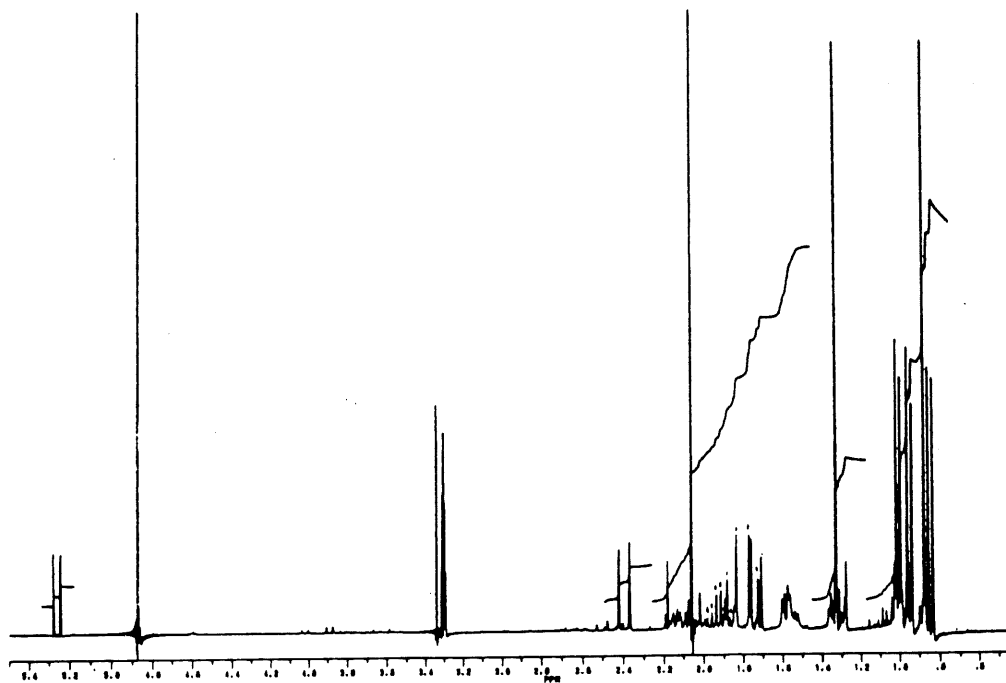




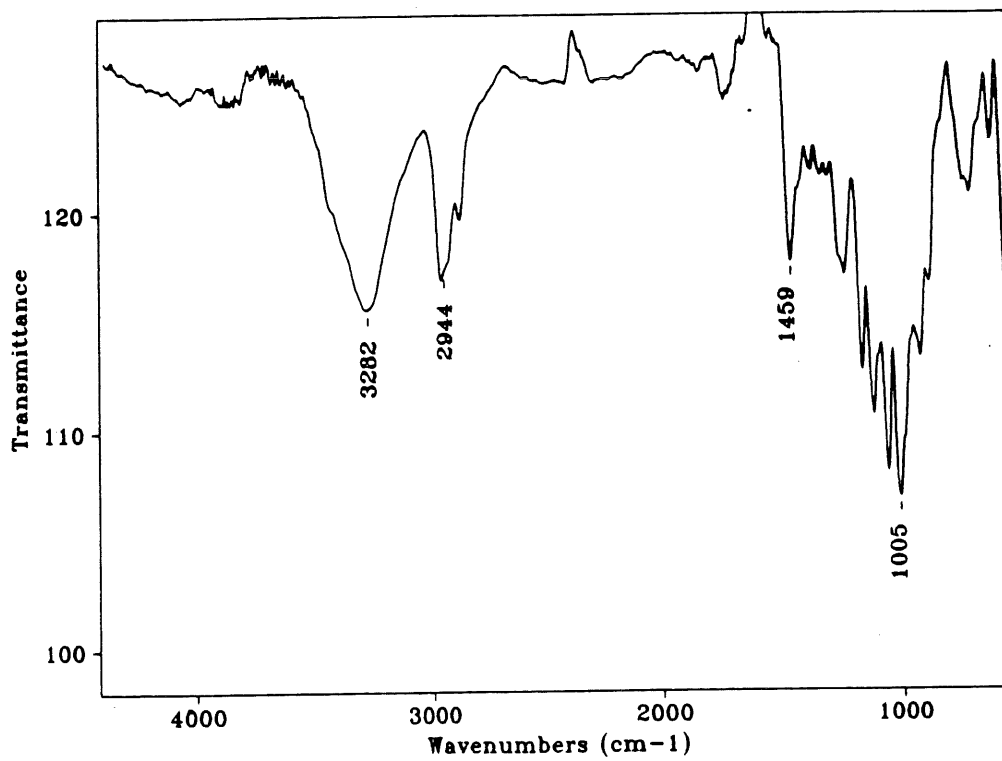
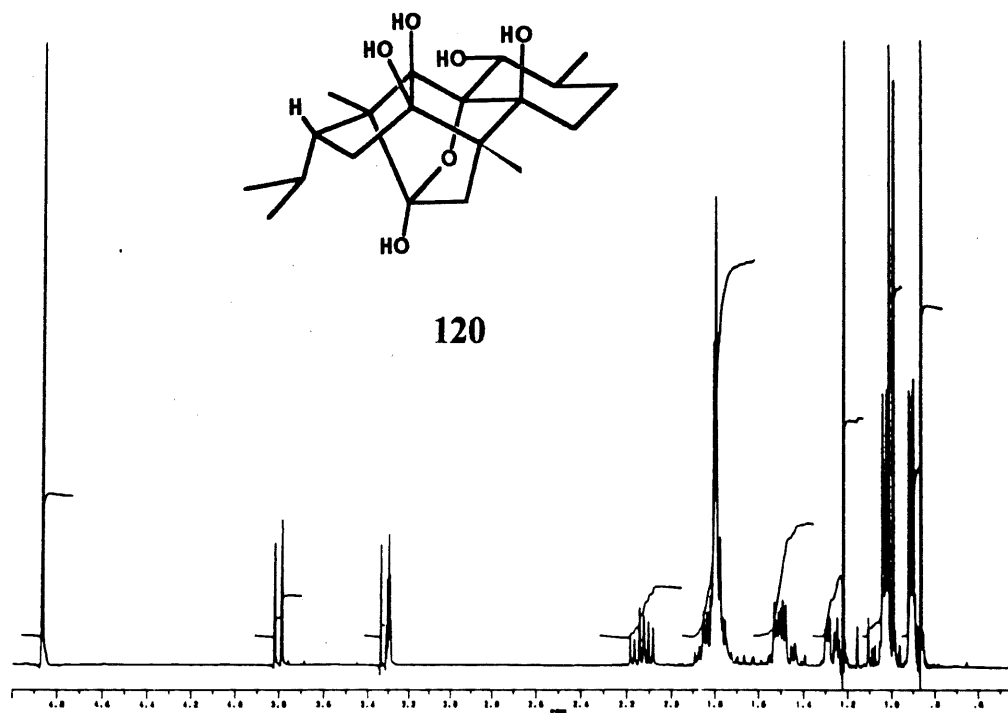
119

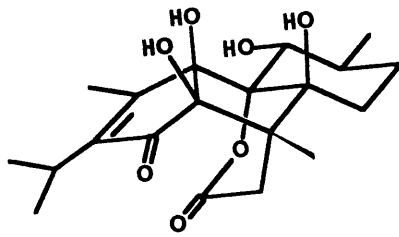




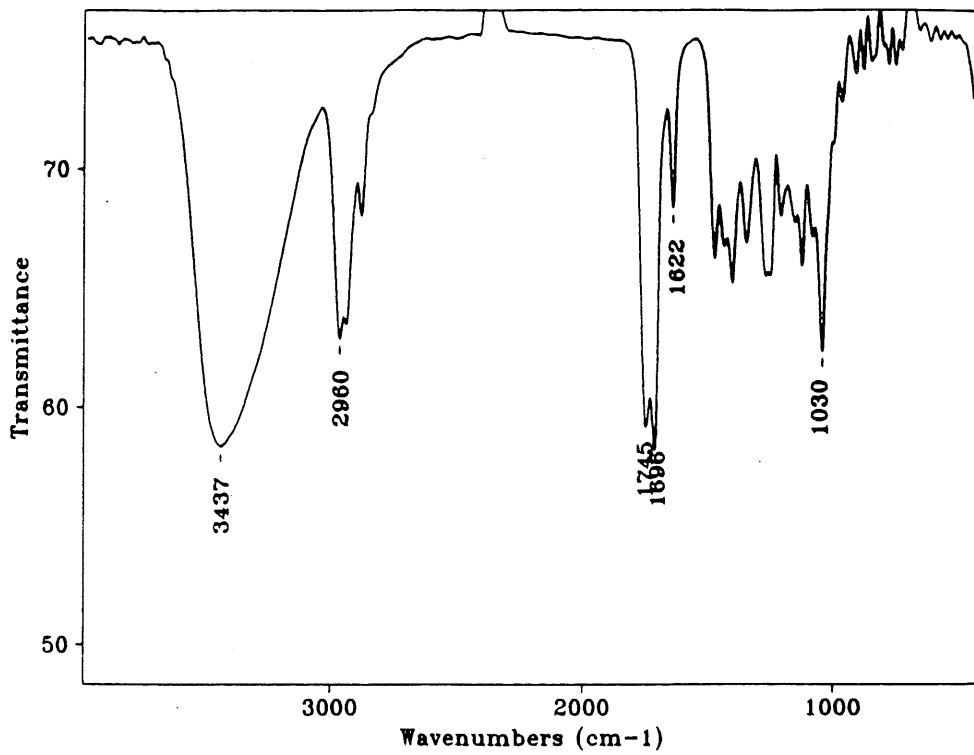
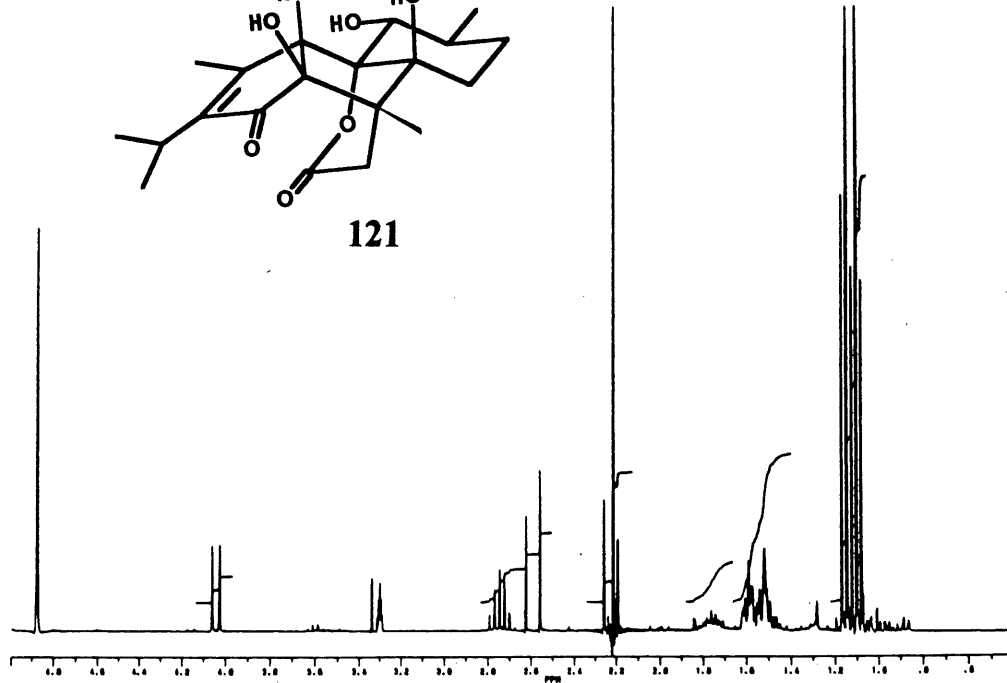


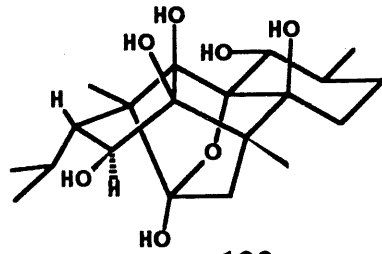
33



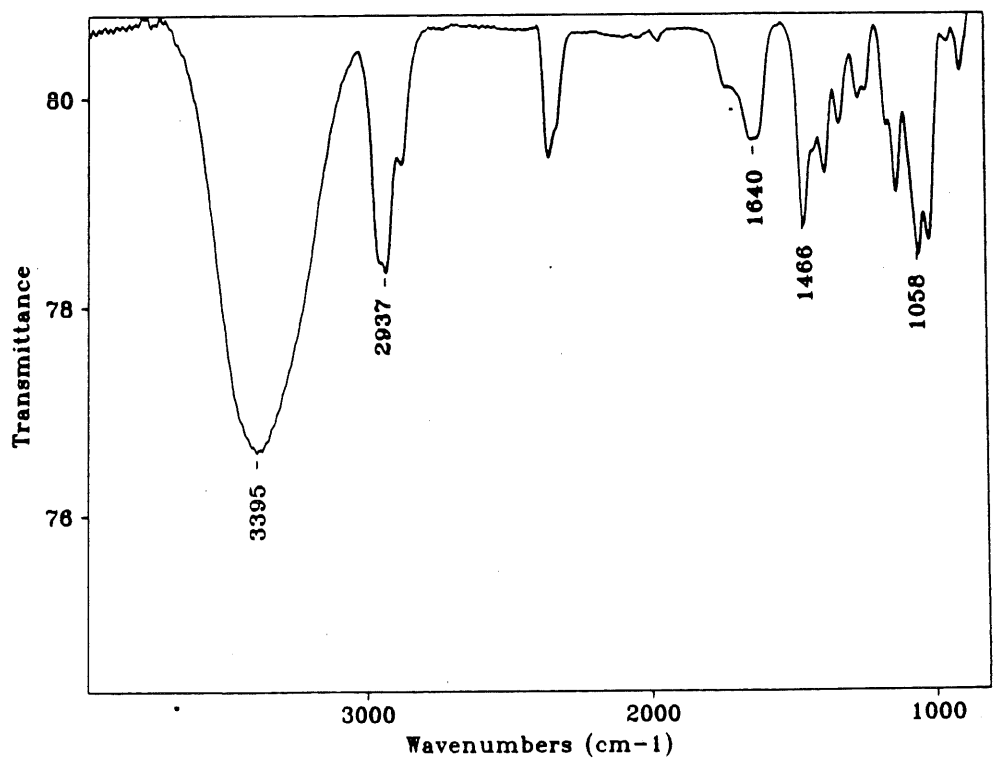
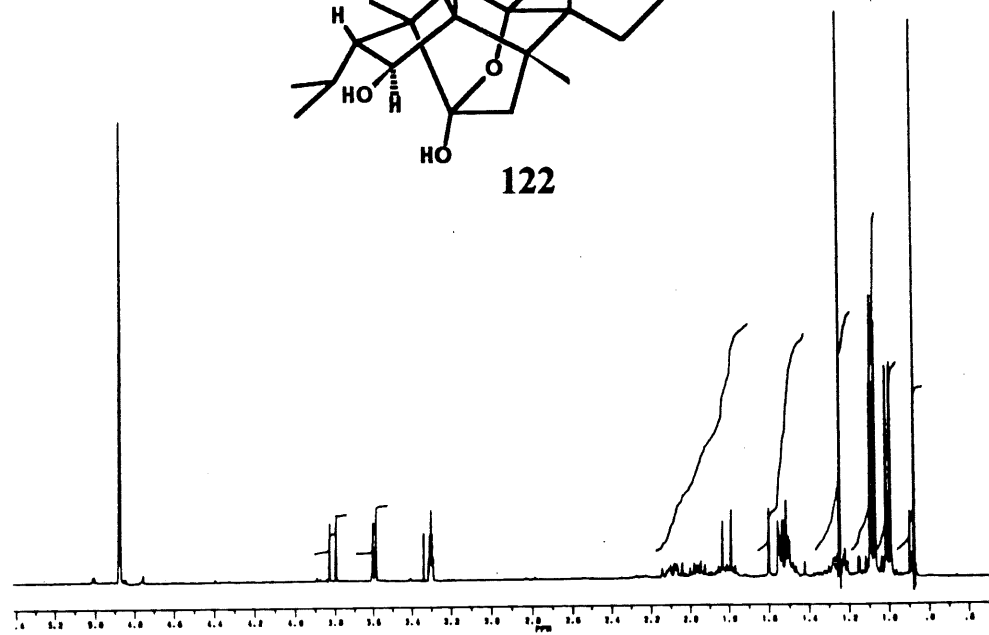


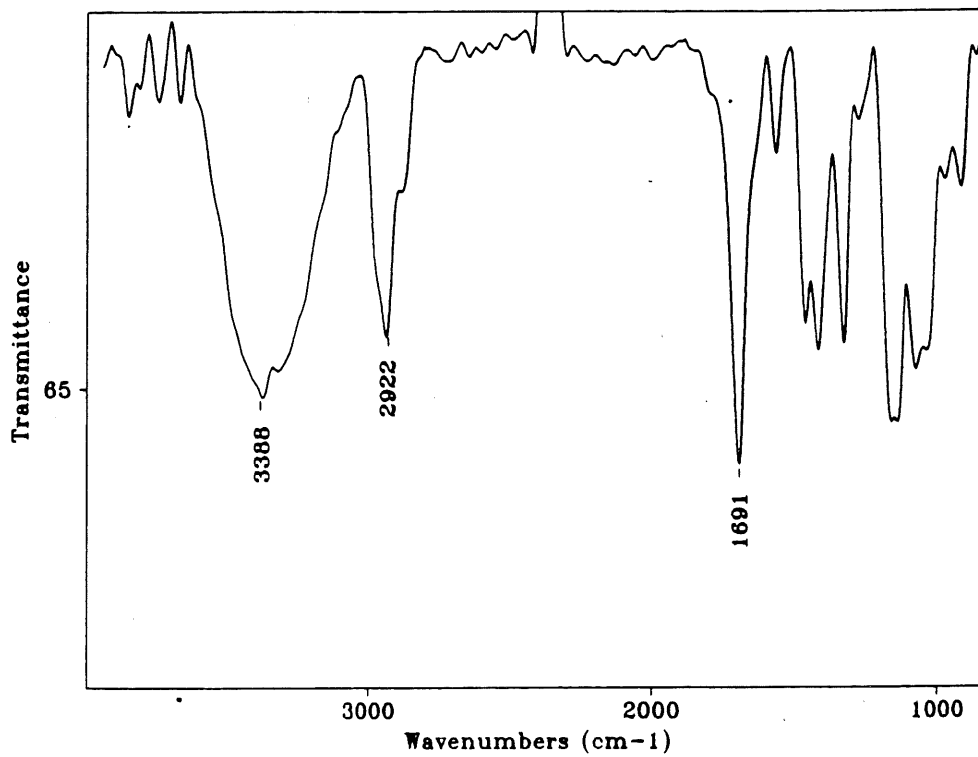
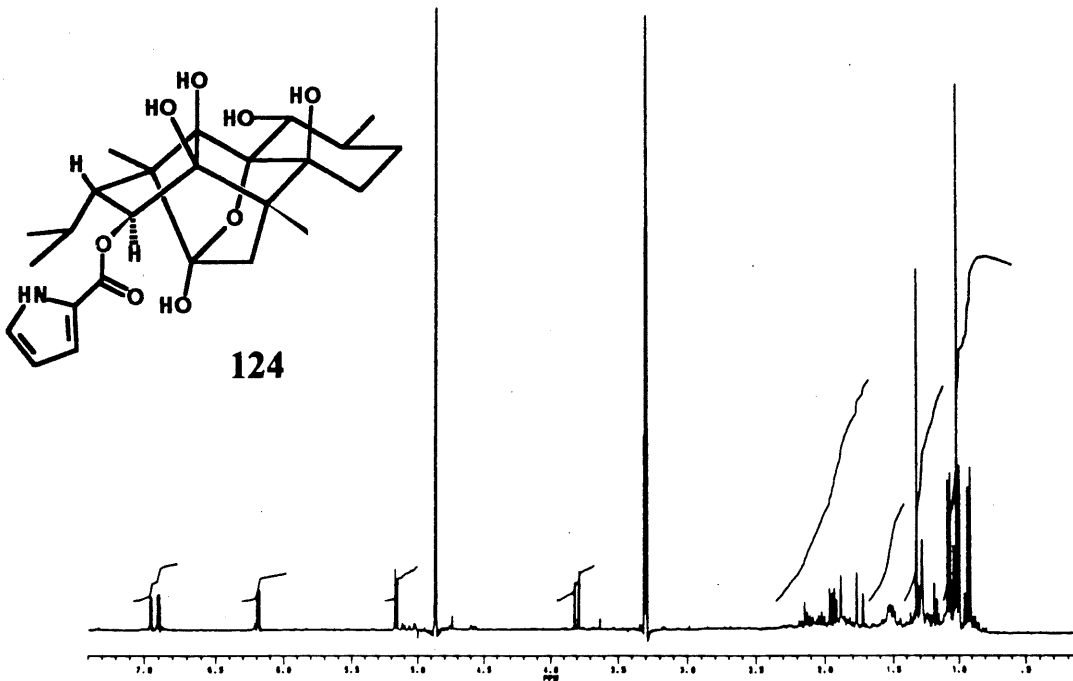
121

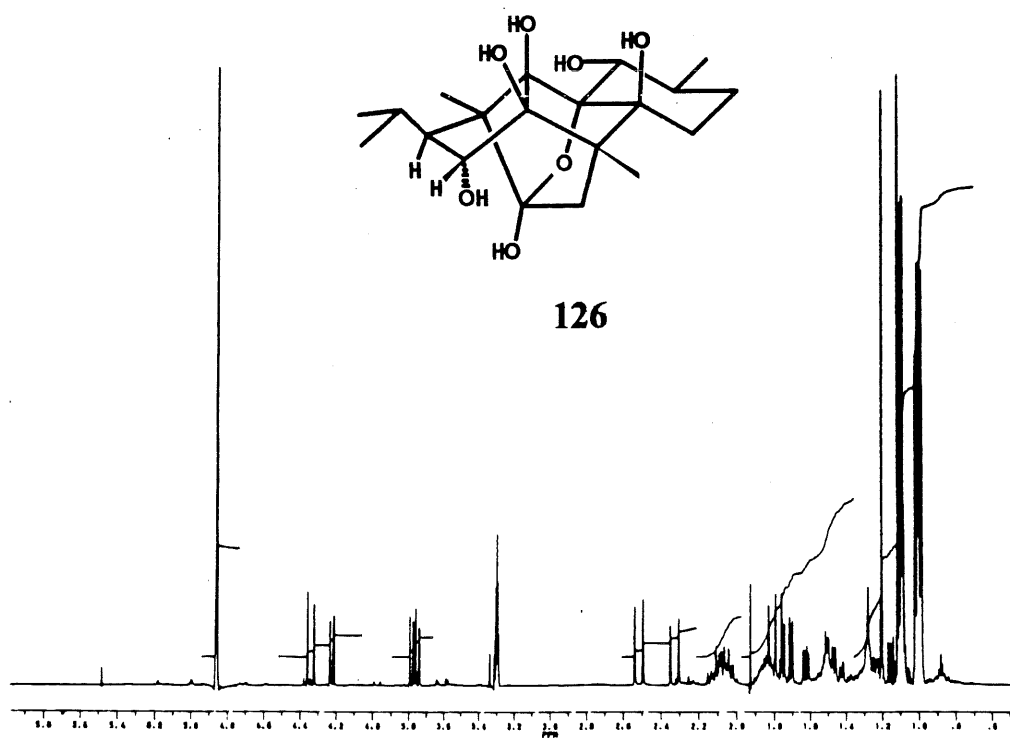
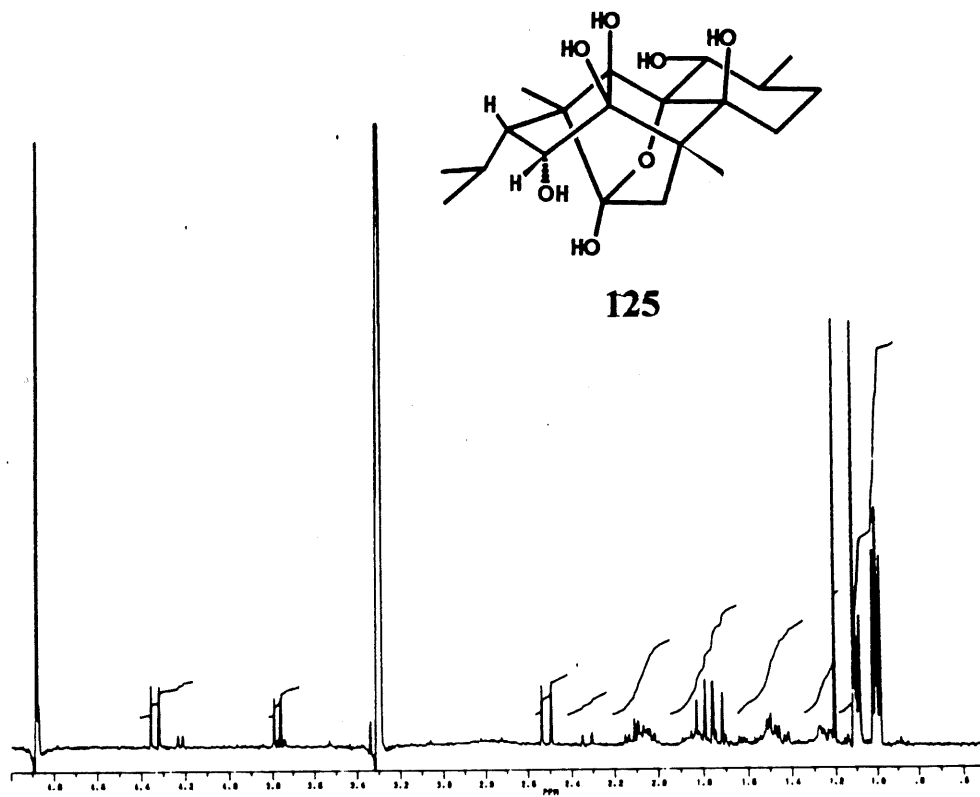


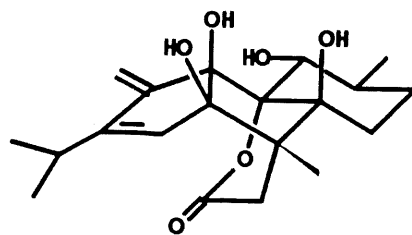


122

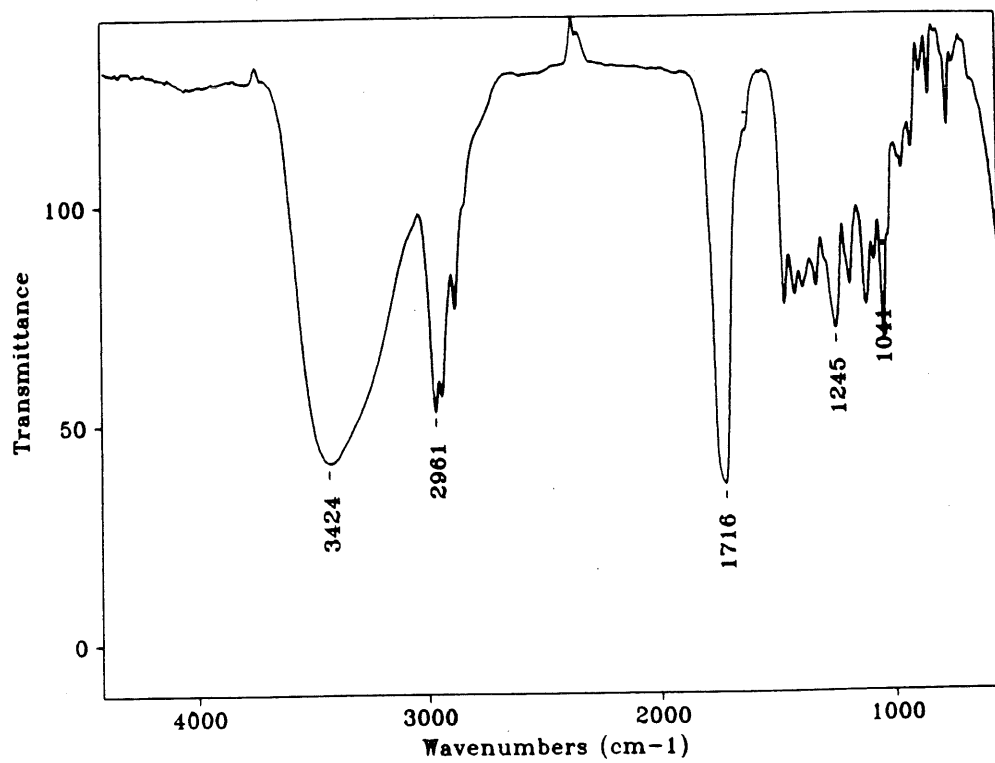
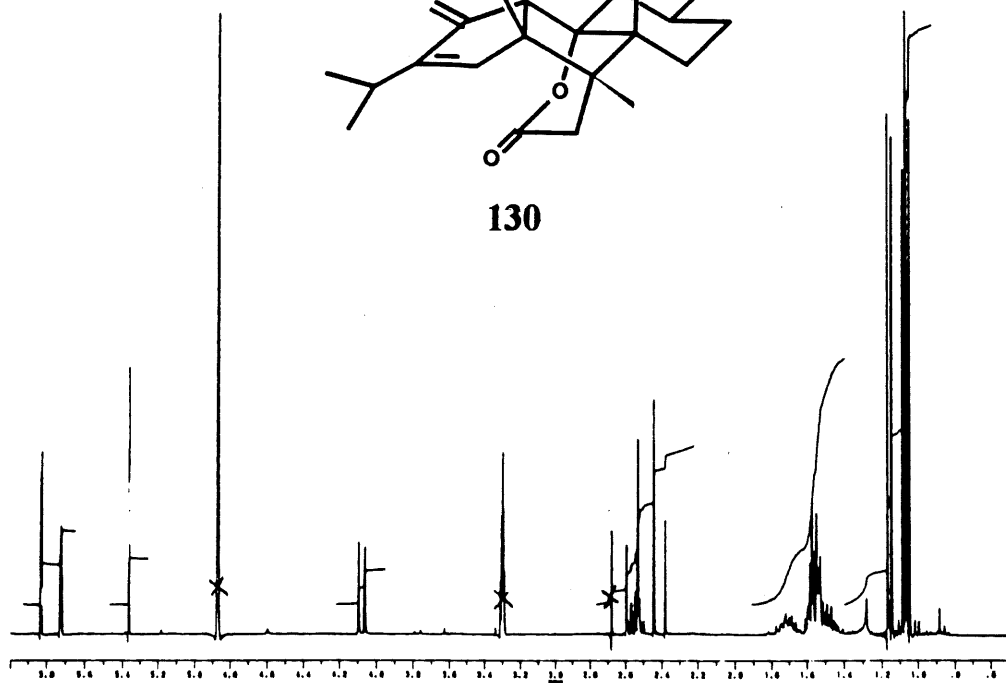


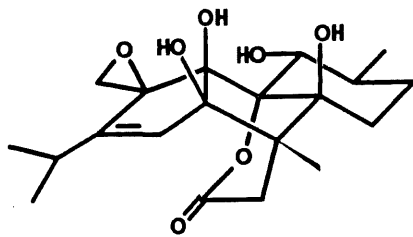




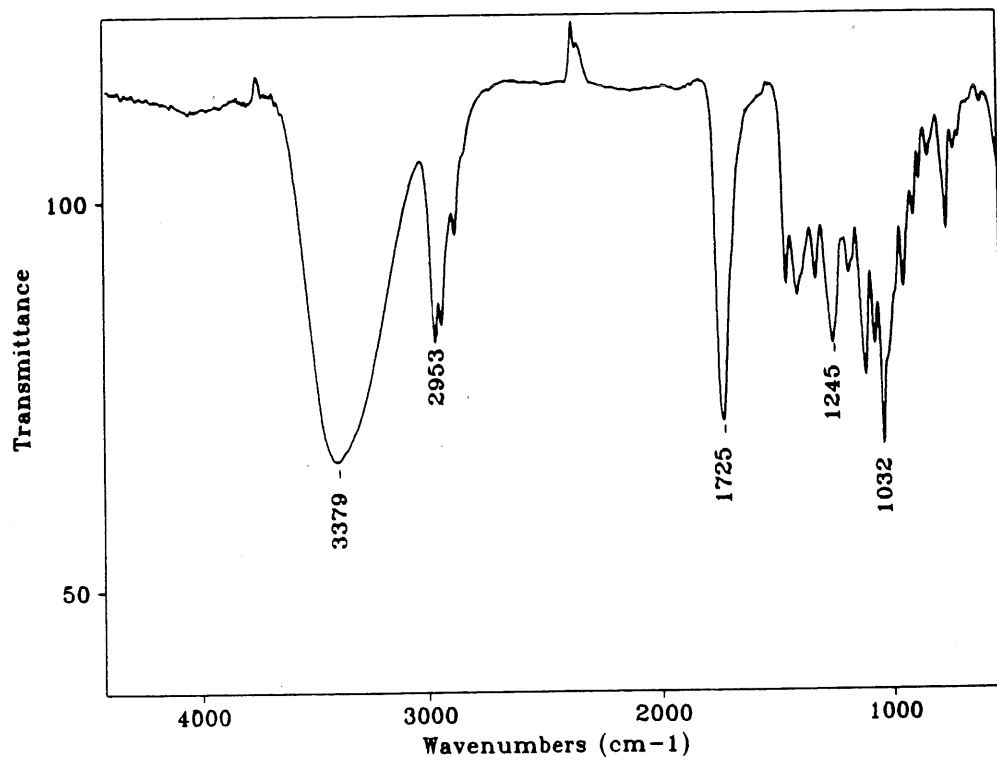
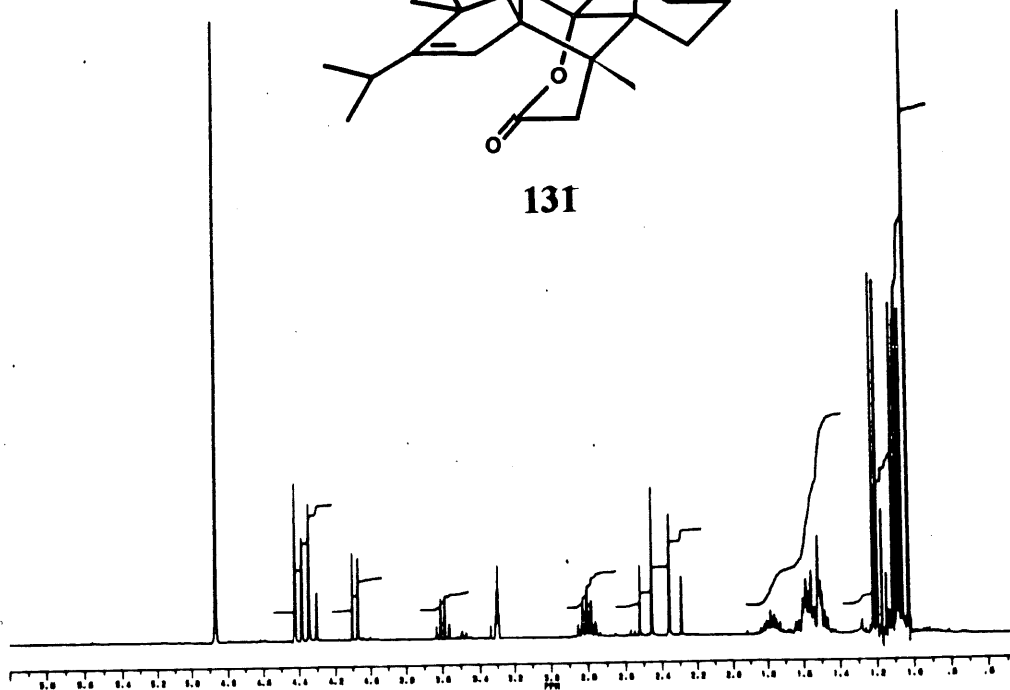


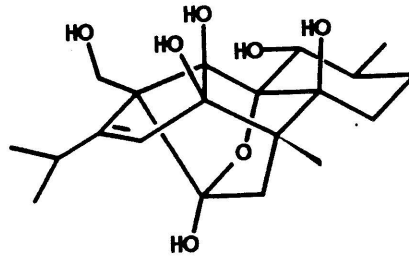
130



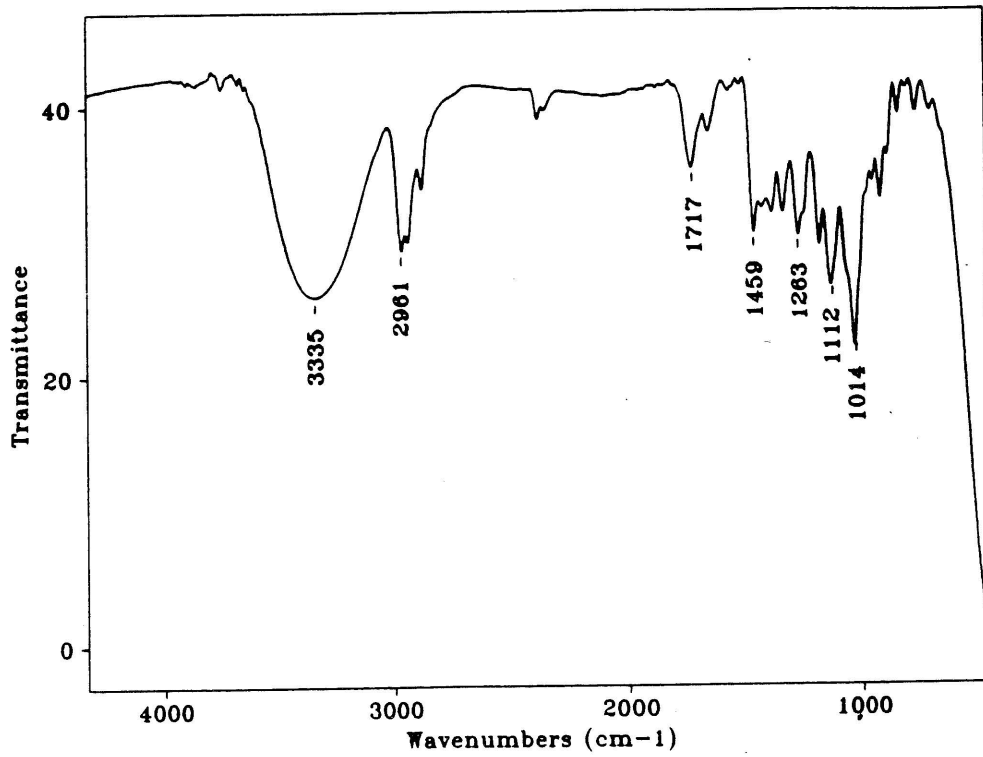
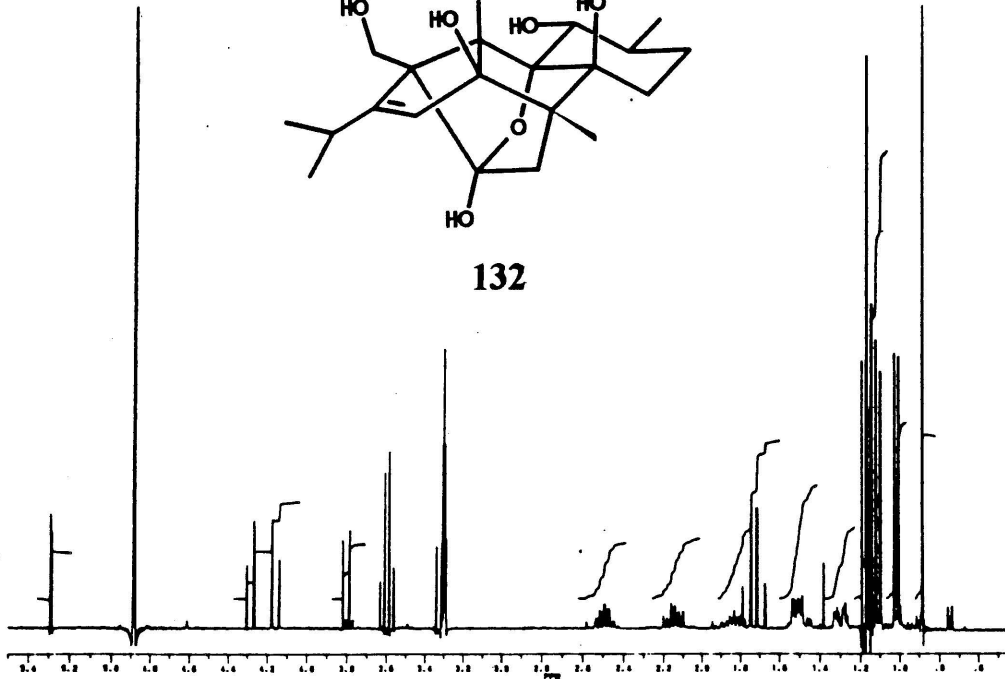


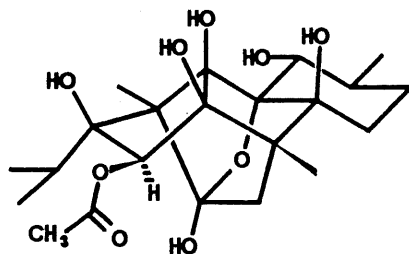
131



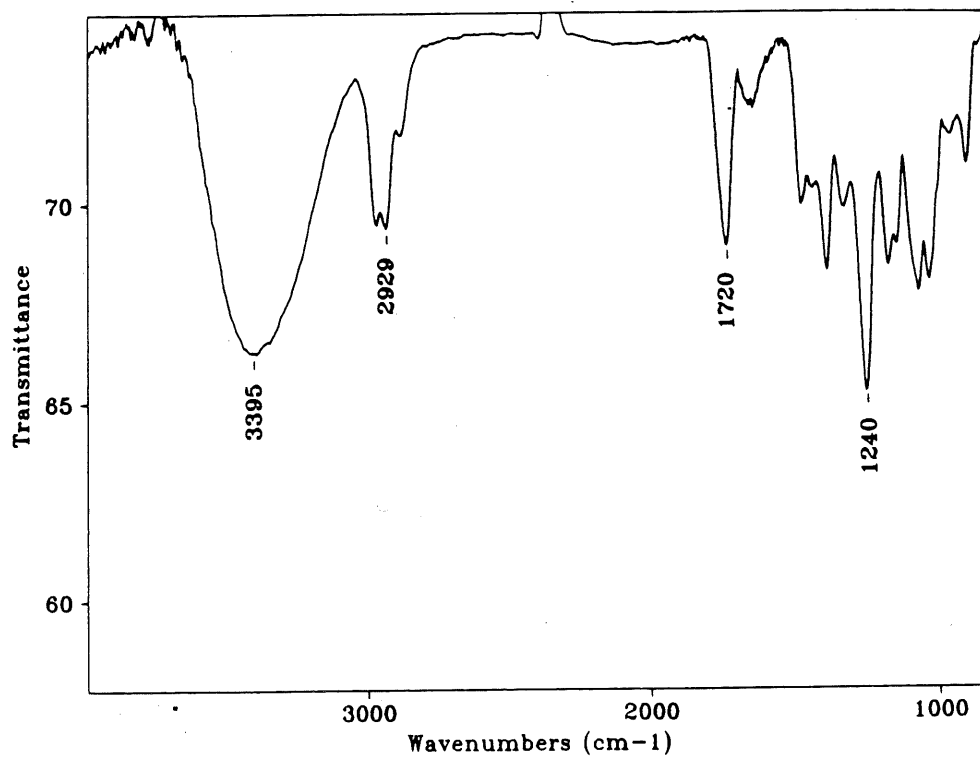
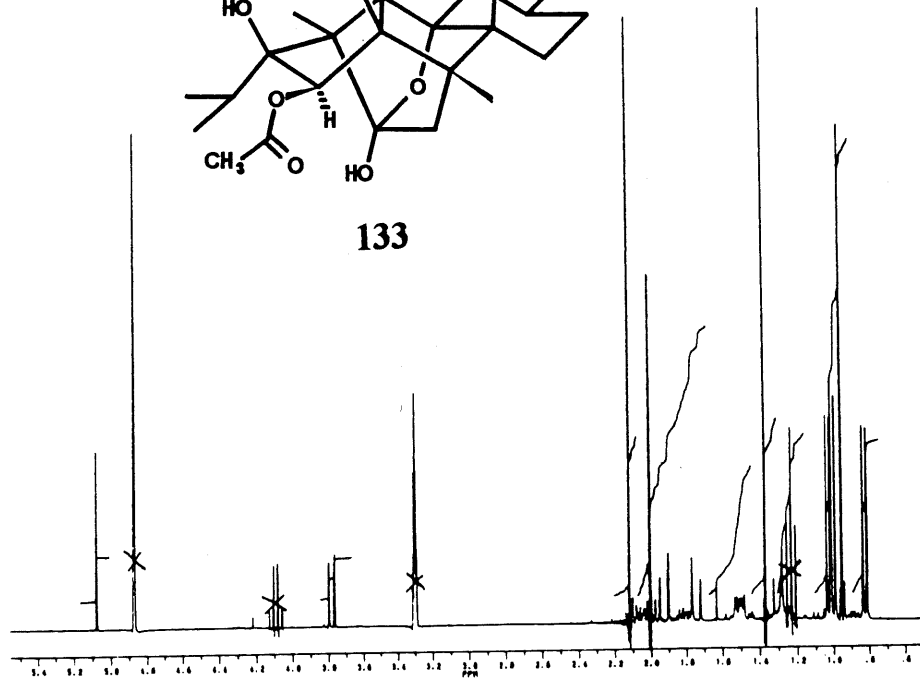


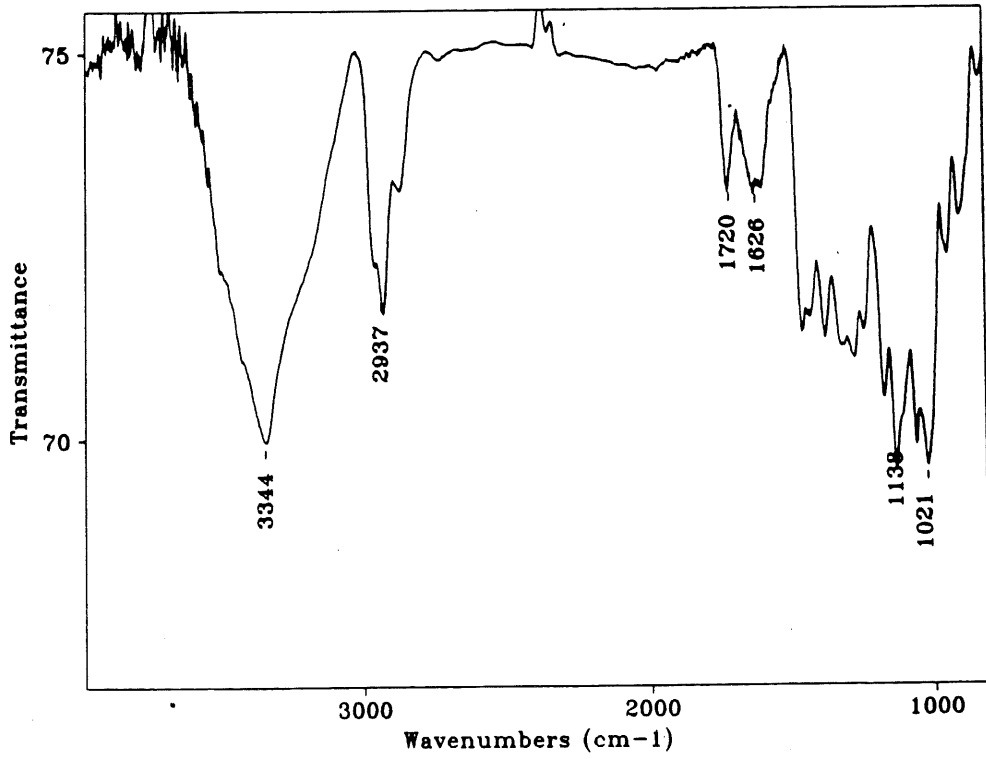
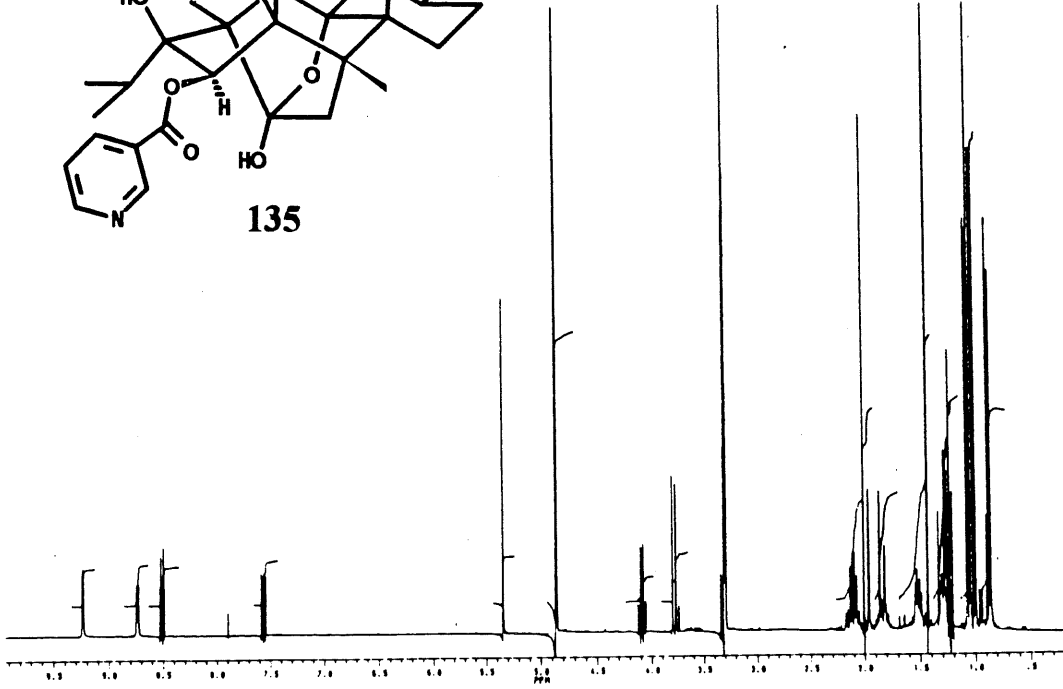
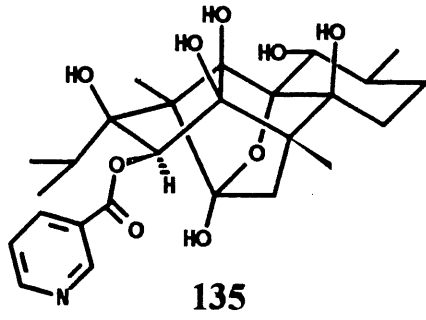
132

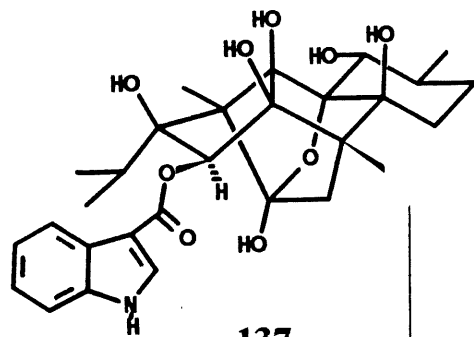




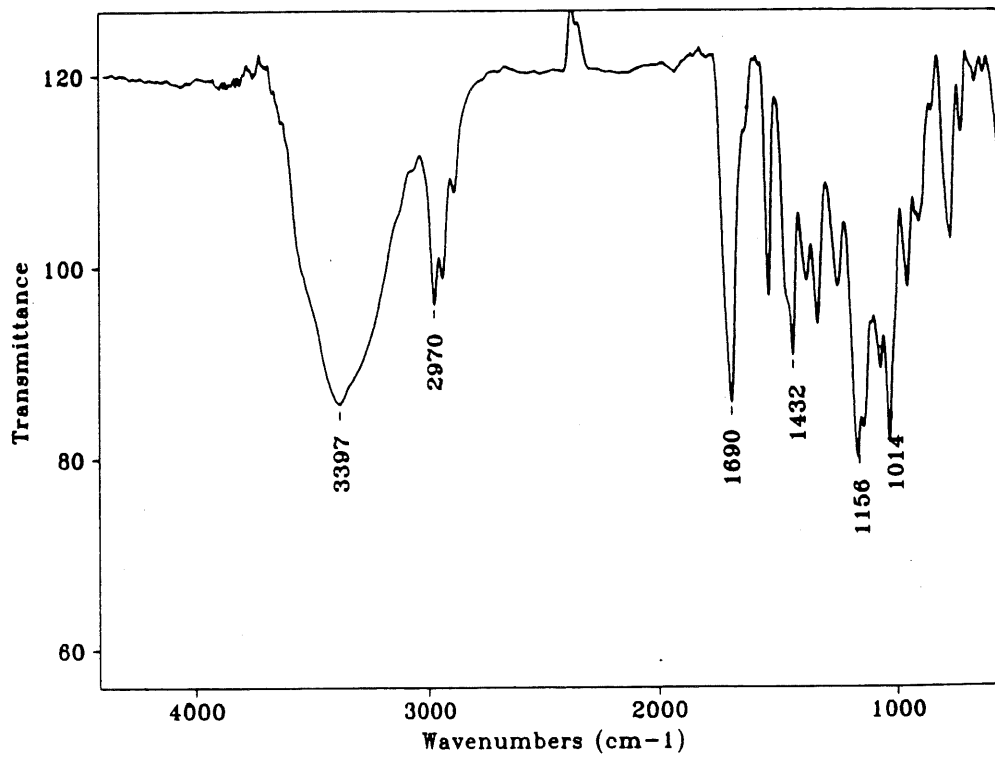
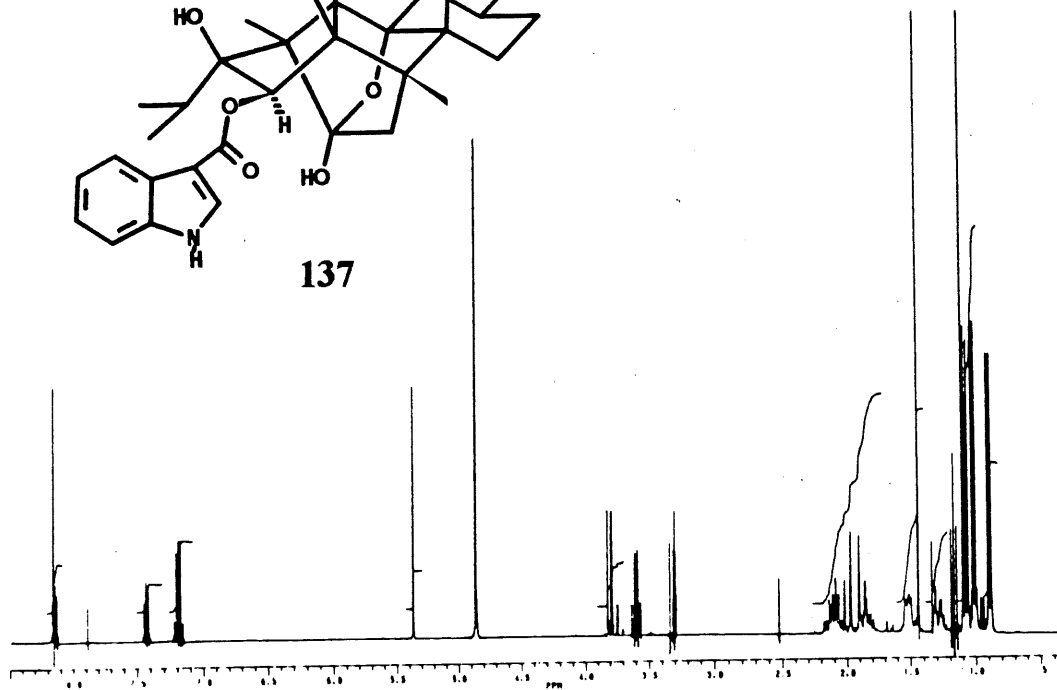
133

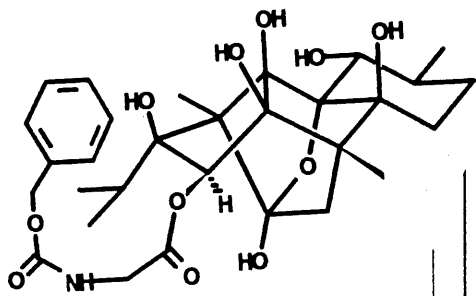




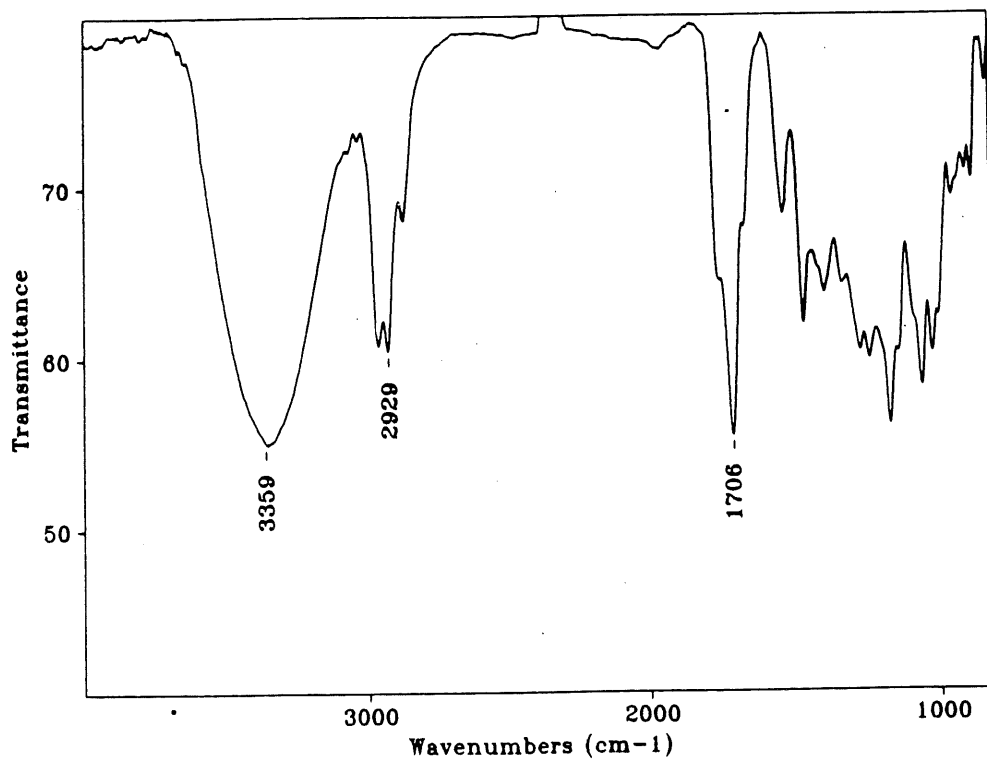
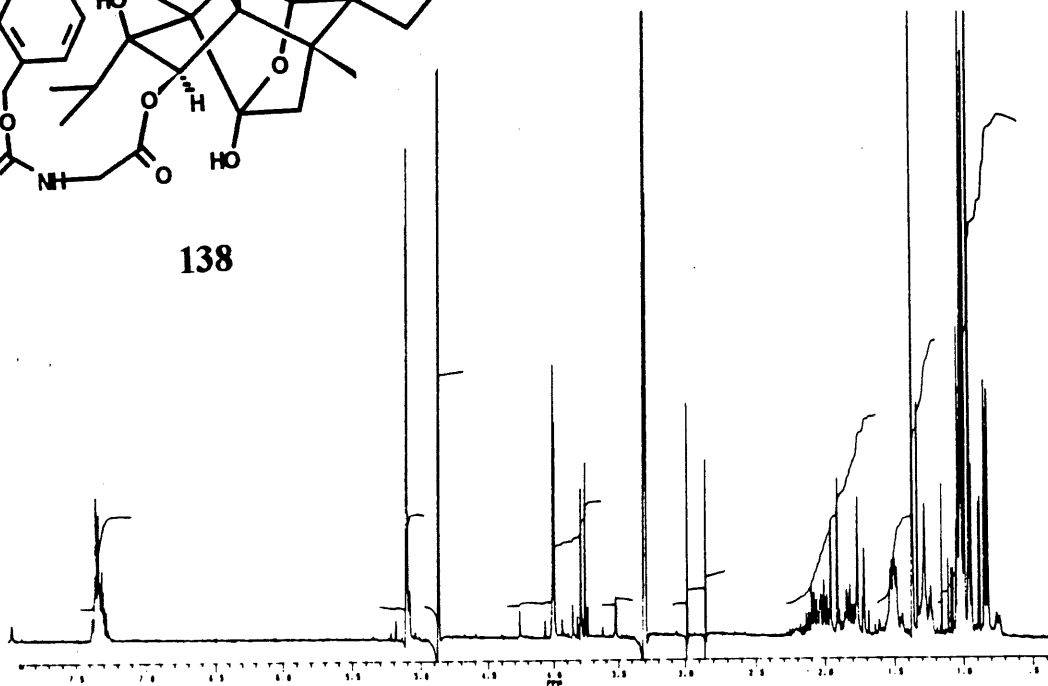


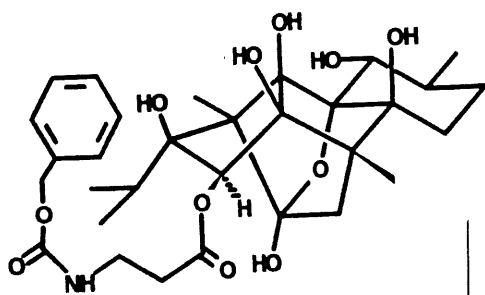
137



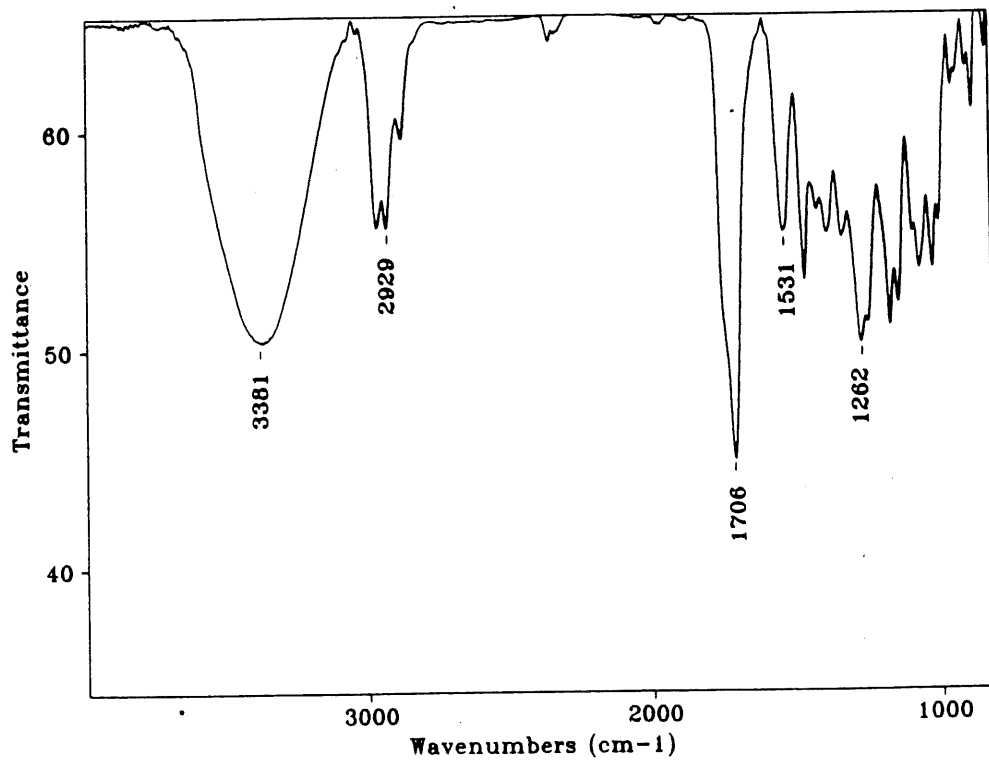
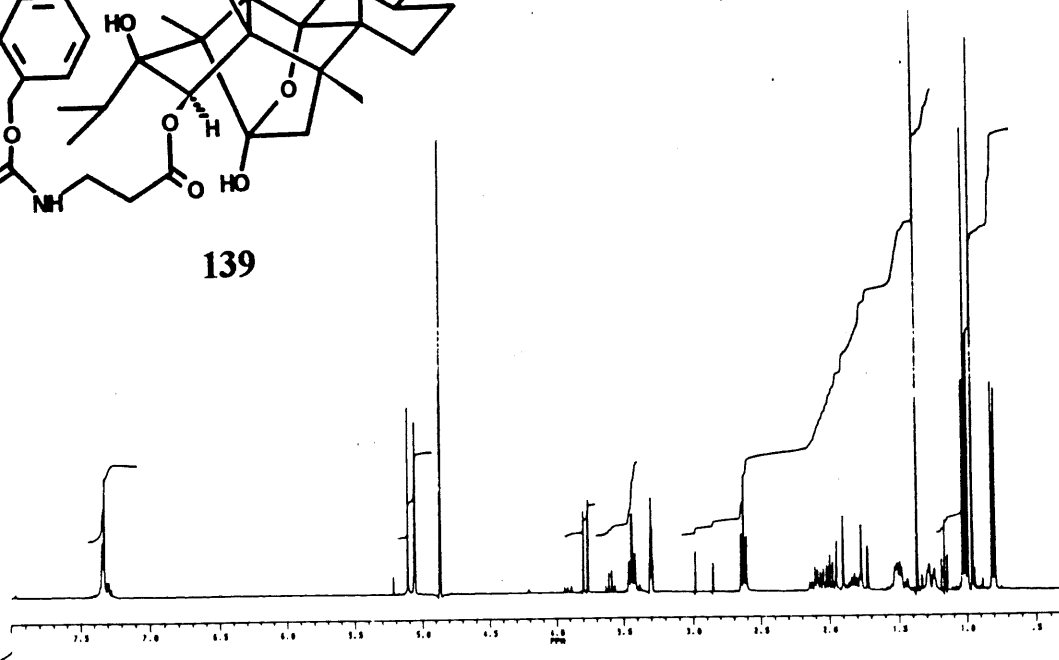


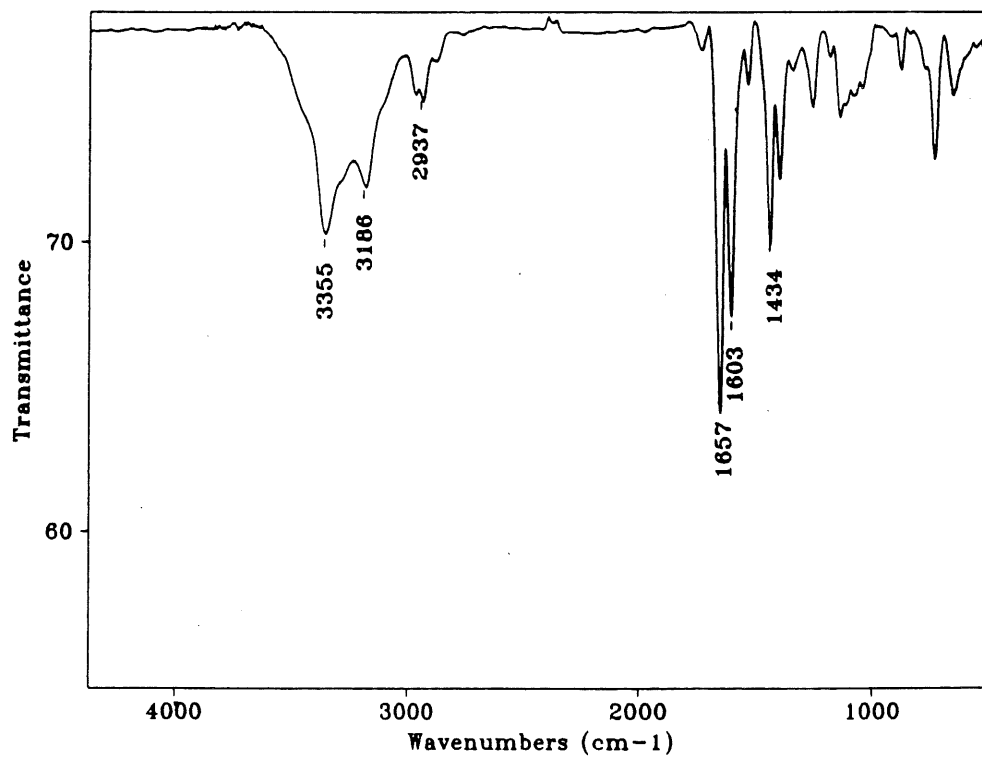
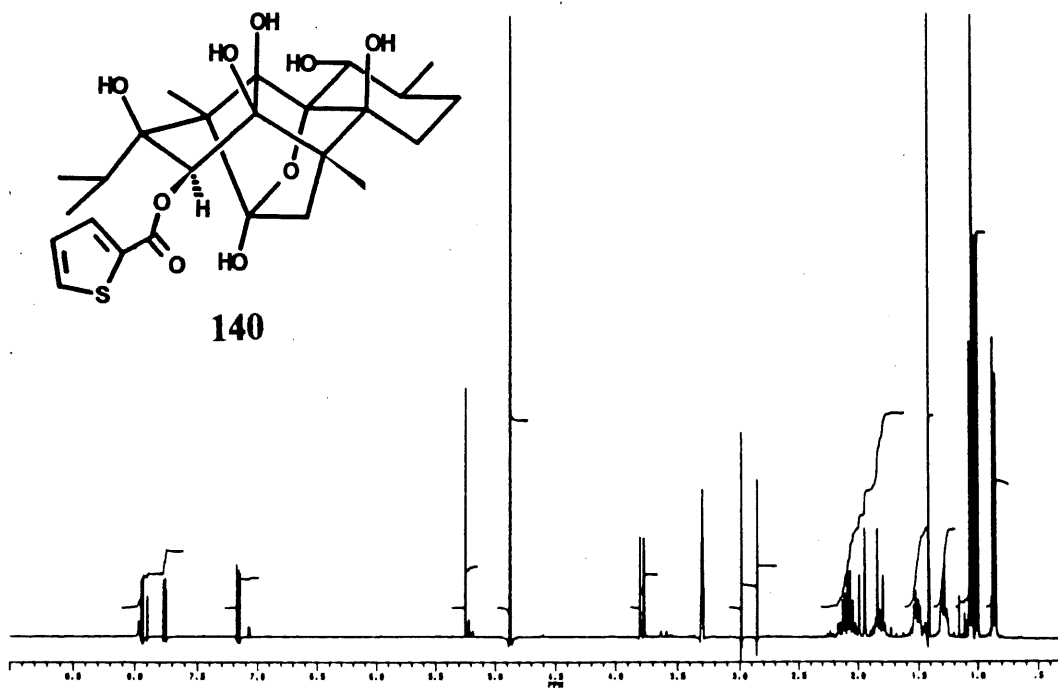
138

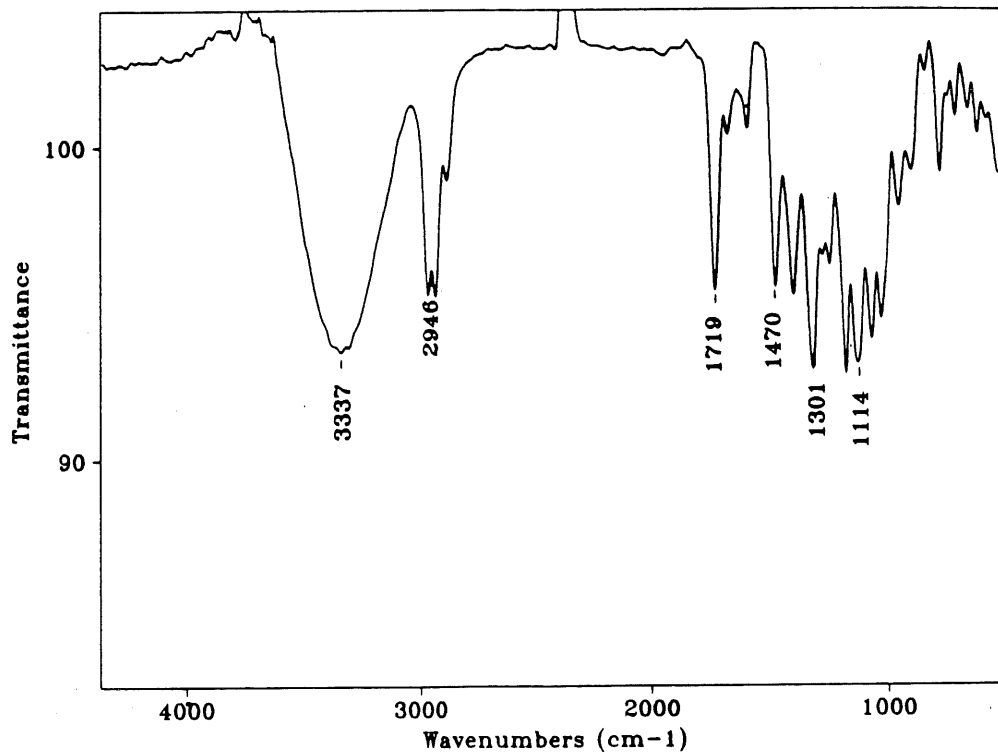
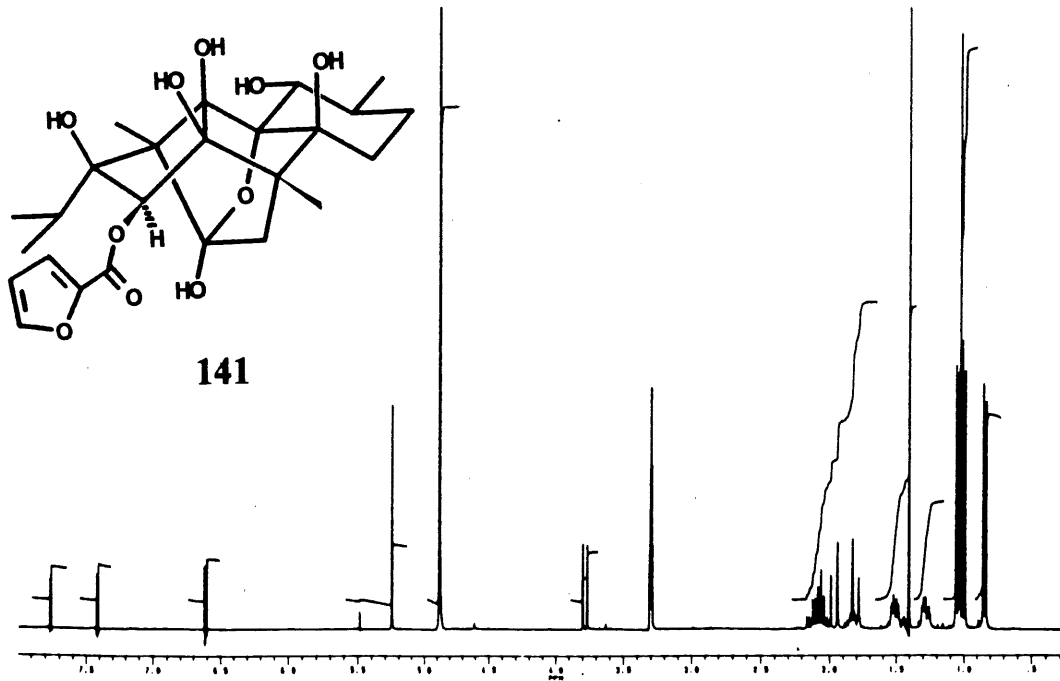


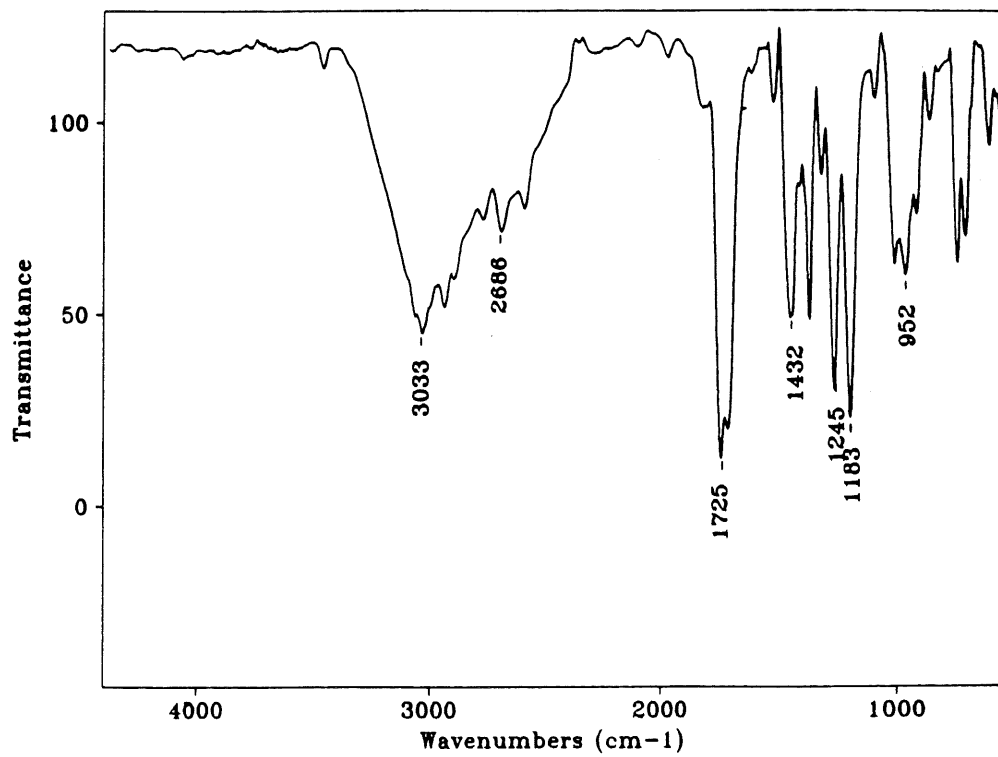
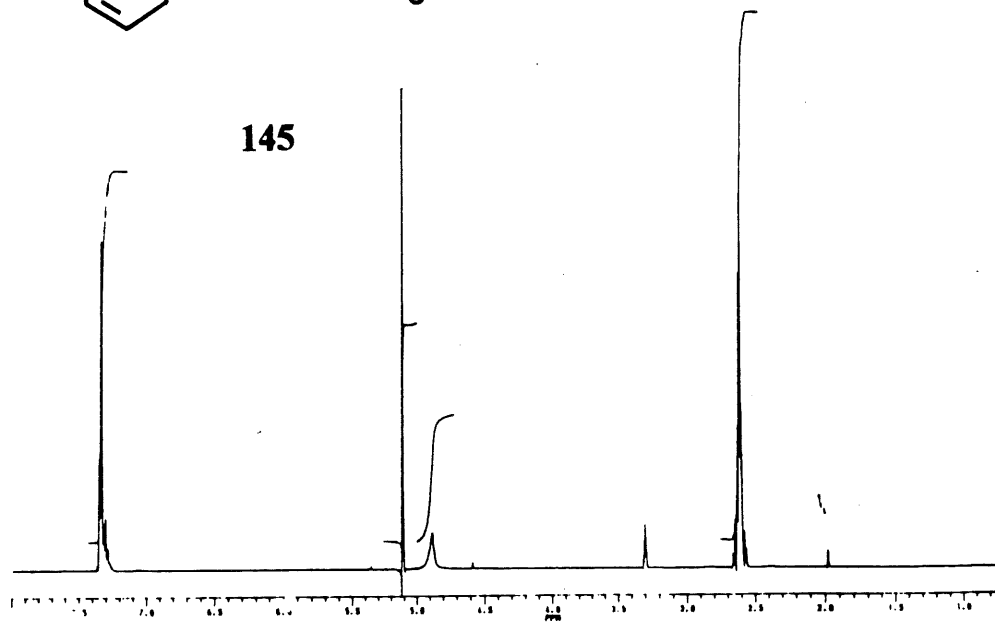
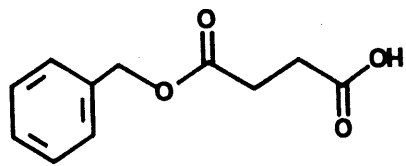


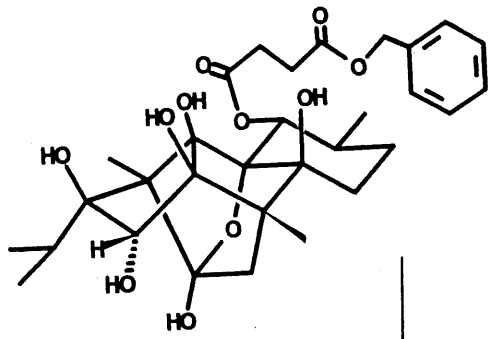
139



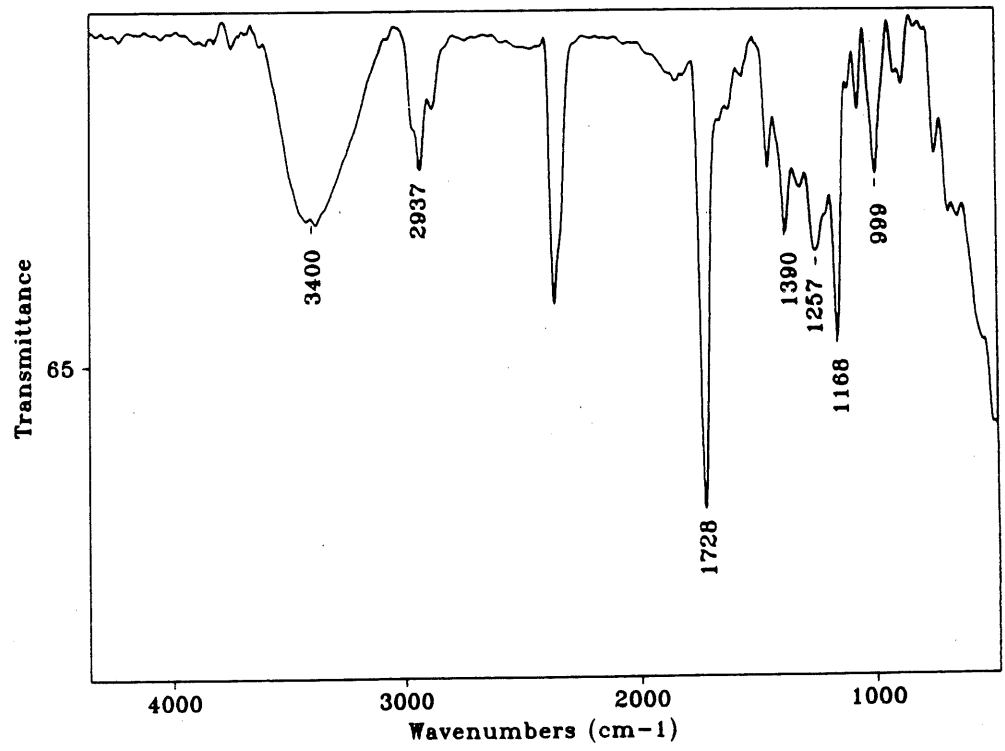
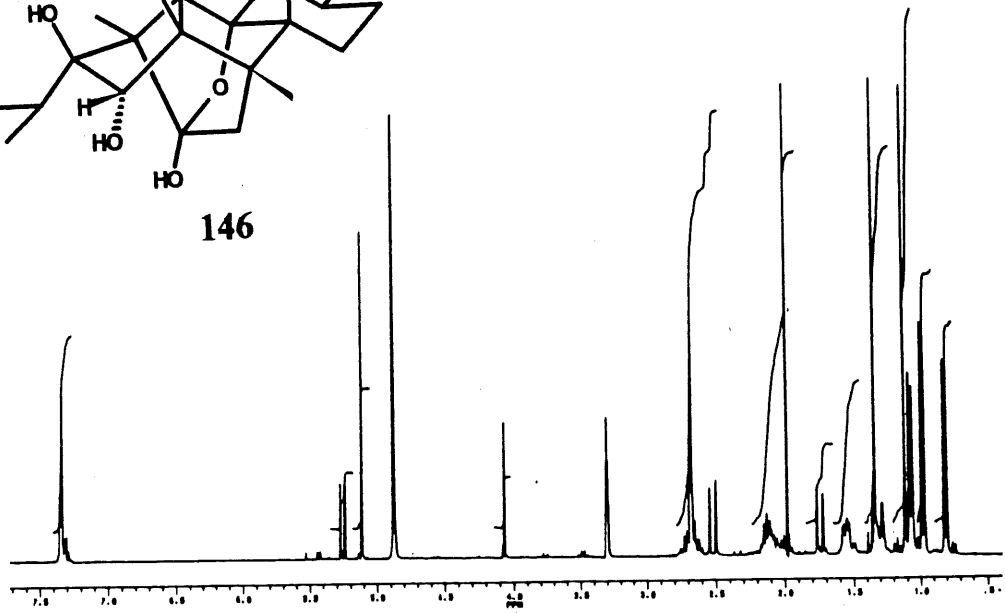


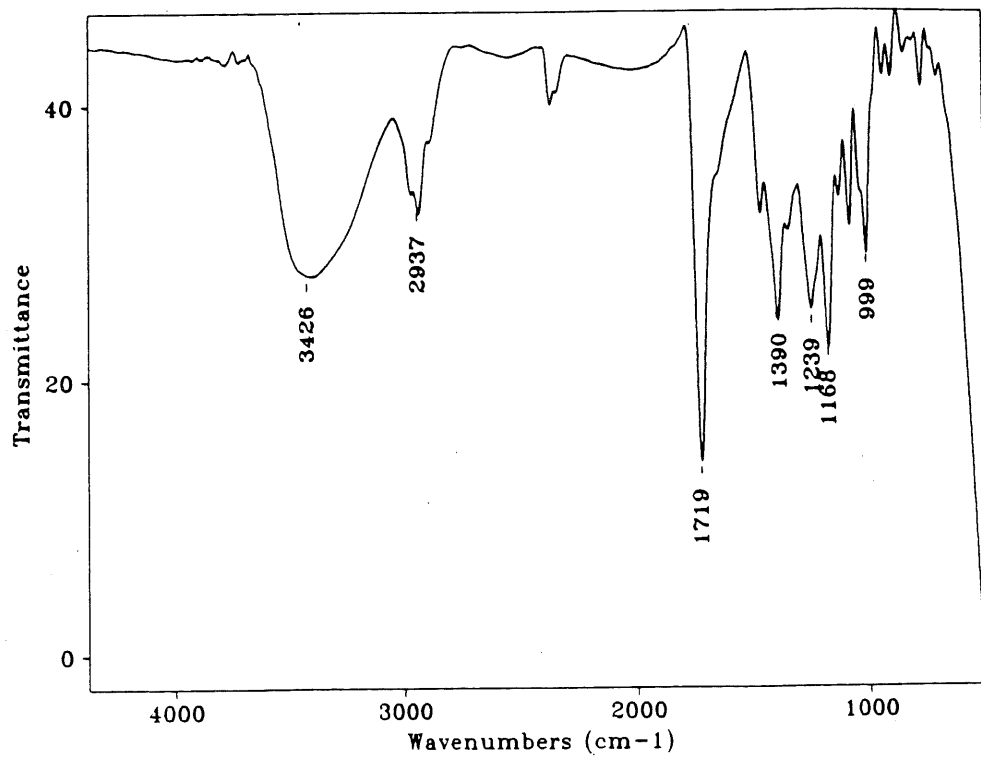
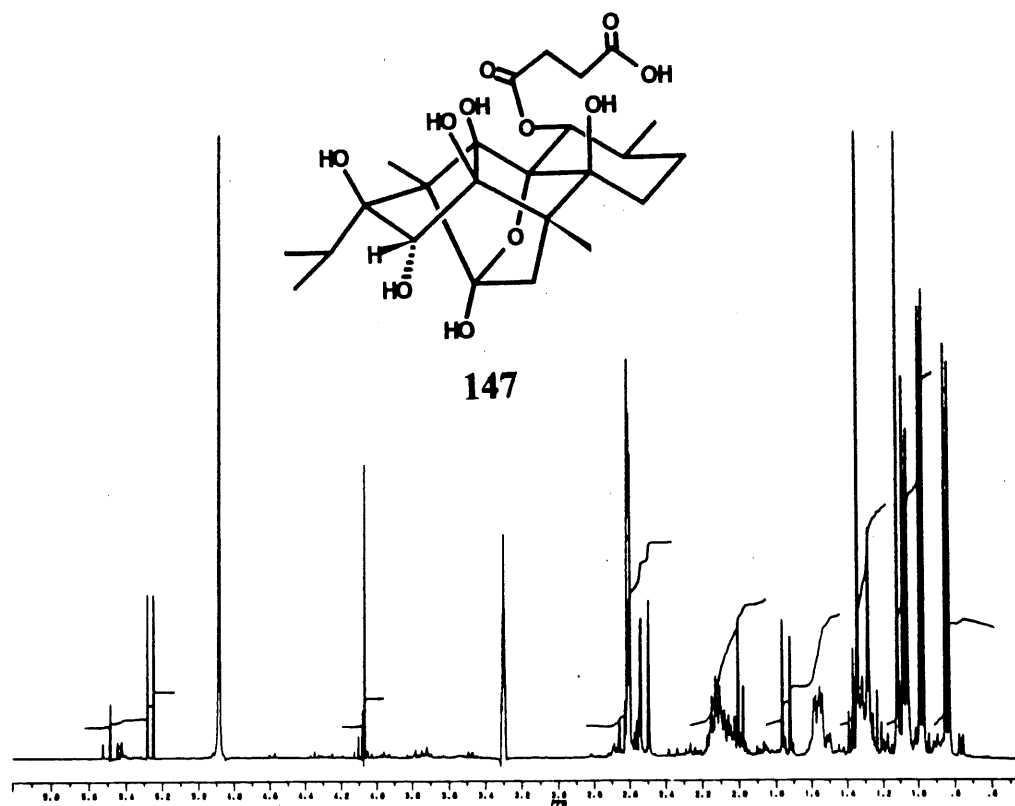


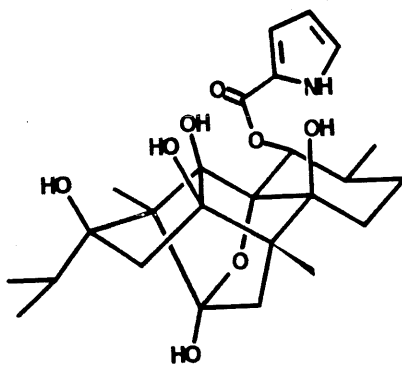
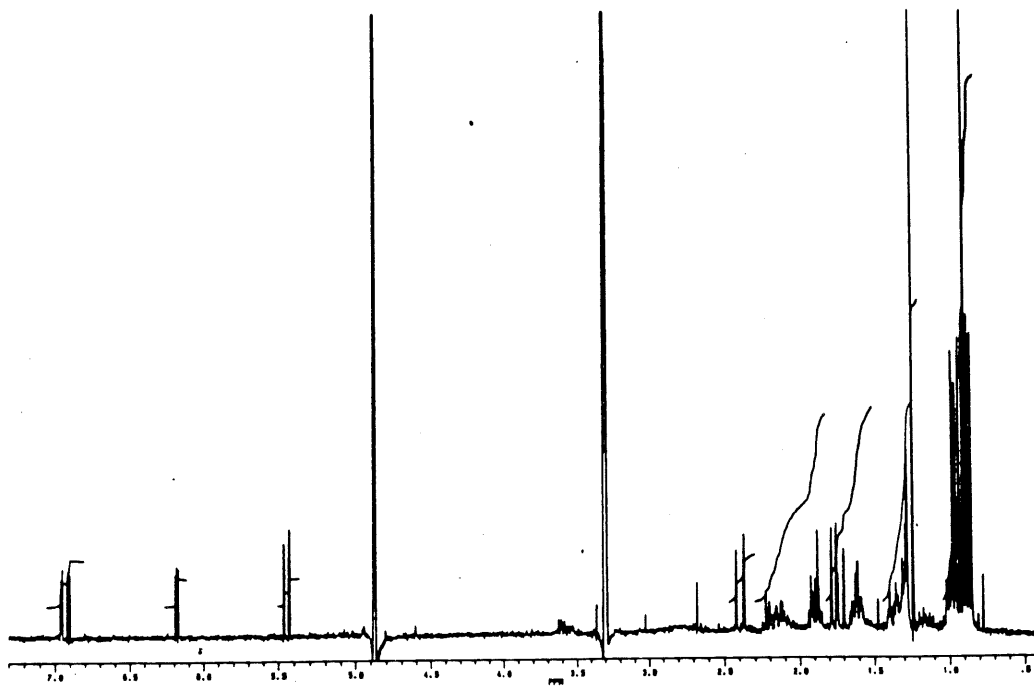




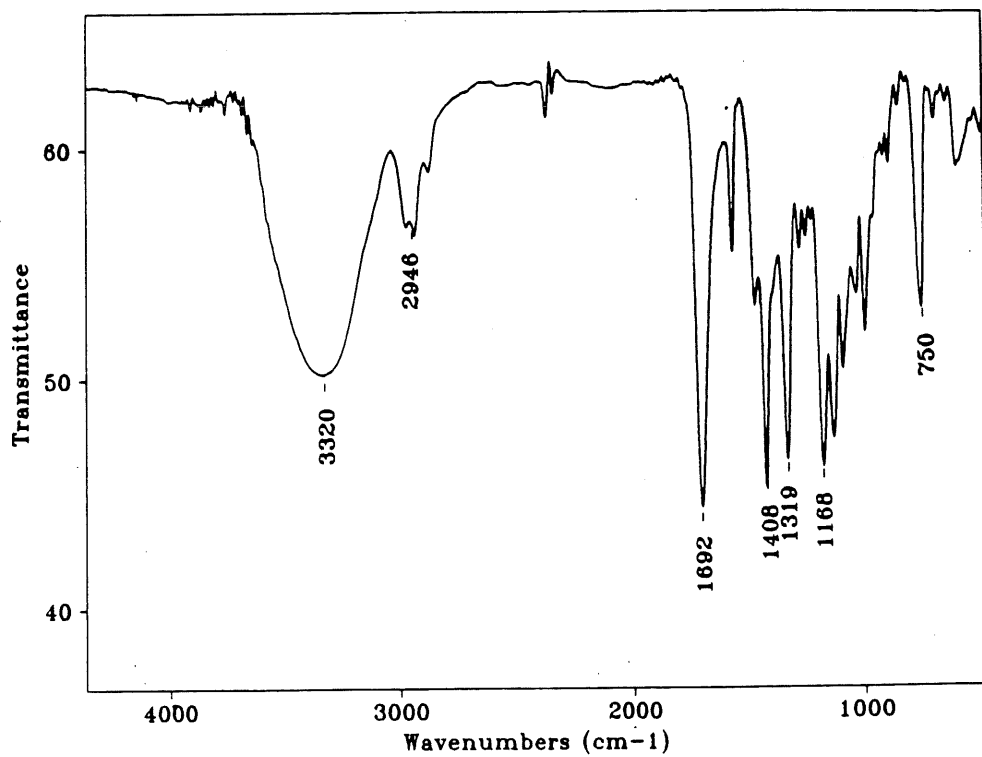
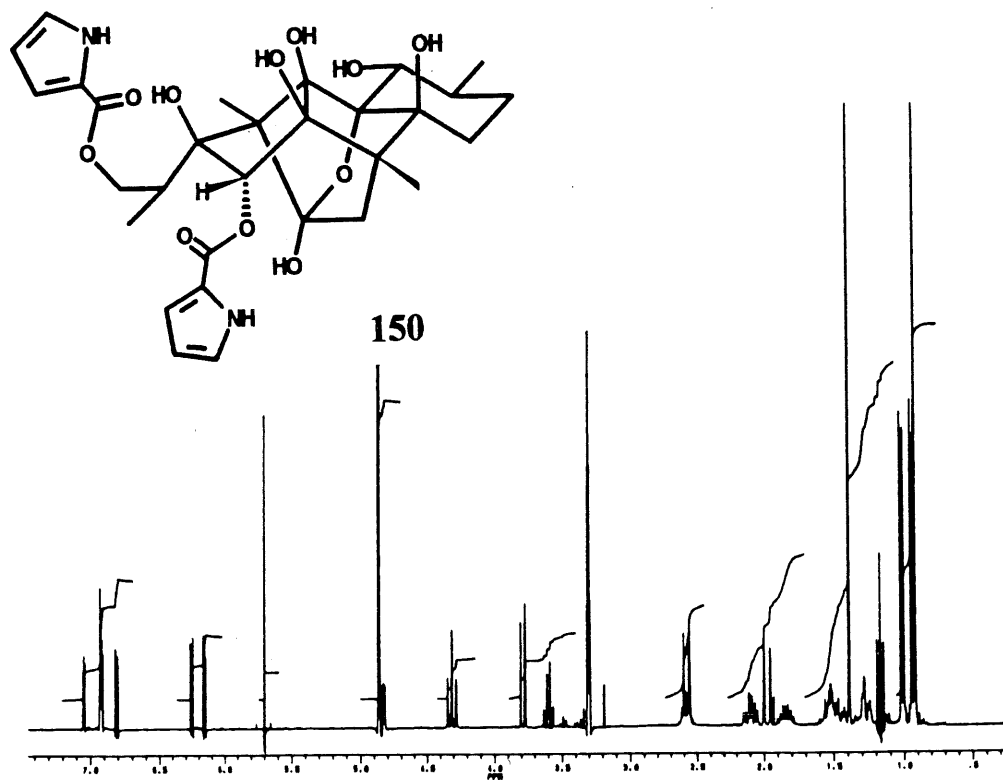
146

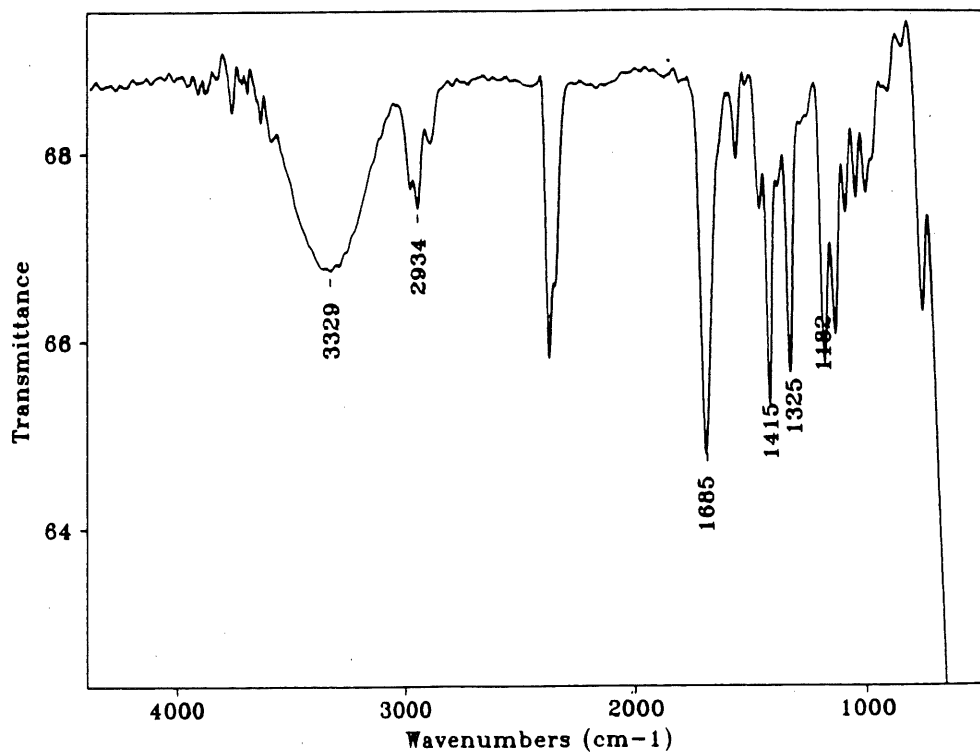
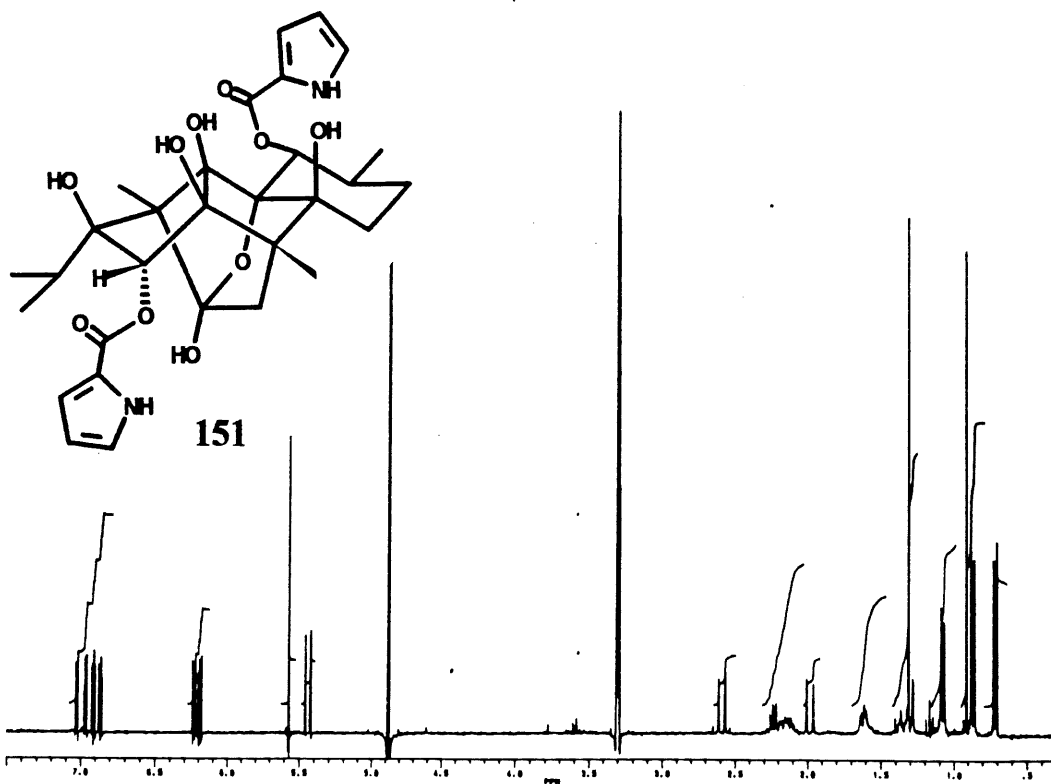


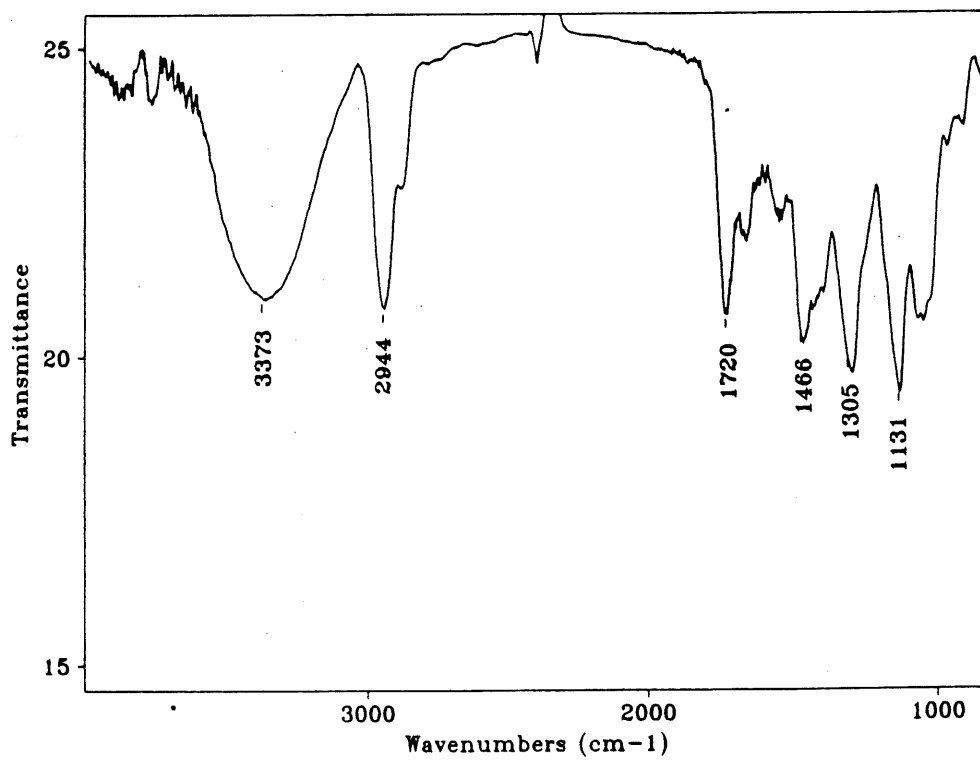
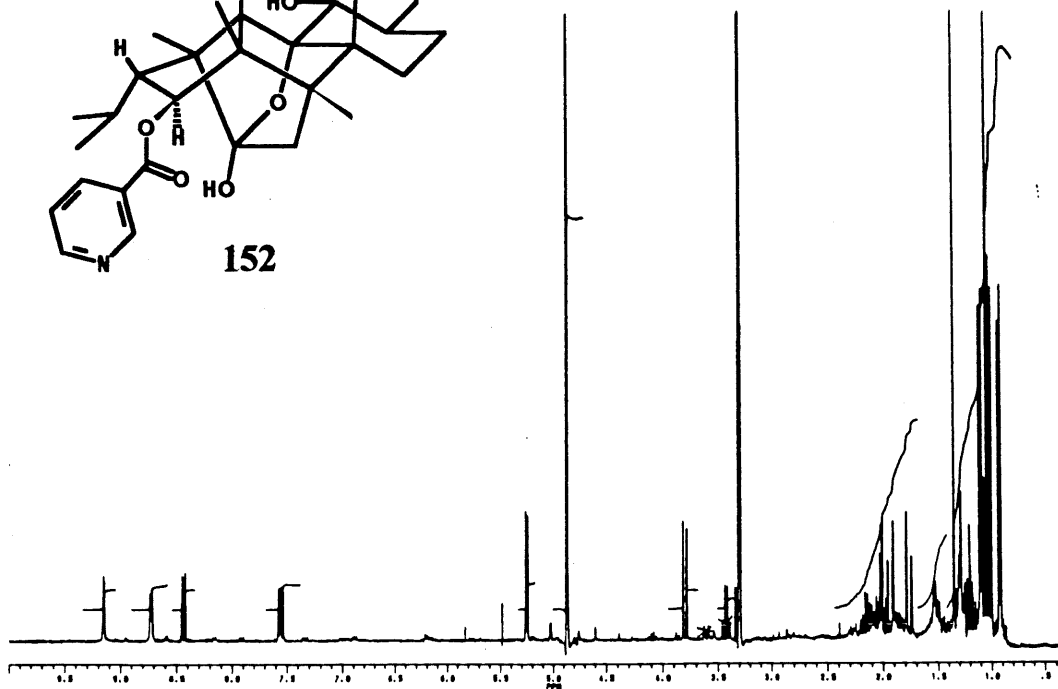
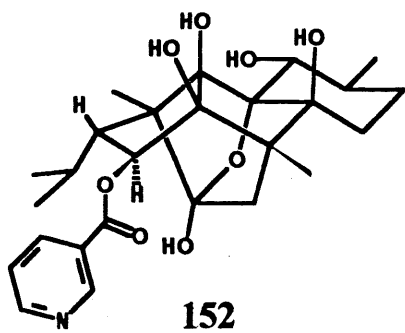




149







RÉFÉRENCES:

1. a) FAIRHURST, A.S., HASSELBACH, W.: *Eur. J. Biochem.* **13**: 504-509, 1970.
b) FAIRHURST, A.S.: *Am. J. Physiol.* **227**: 1124-1131, 1974.
2. WATERHOUSE, A.L., HOLDEN, I., CASIDA, J.E.: 9,21-Didehydroryanodine: A New Principal Toxic Constituent of the Botanical Insecticide *Ryania*. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **118**: 1265-1266, 1984.
3. ROGERS, E.F., KONIUSZY, F.R., SHAVEL, J., JR., AND FOLKERS, K.: Plant Insecticides. I. Ryanodine. A New Alkaloid from *Ryania Speciosa* Vahl. *J. Am. Chem. Soc.* **70**: 3086-3088, 1948.
4. WIESNER, K.: The Structure of Ryanodine. *Adv. Org. Chem.* **8**: 295-316, 1972.
5. SRIVASTAVA, S.N., AND PRZYBYLSKA, M.: The Molecular Structure of Ryanodol-p-bromobenzyl Ether. *Can. J. Chem.* **46**: 795-797, 1968.
6. a) BÉLANGER, A., BERNEY, D.J.F., BORSCHBERG, H.J., BROUSSEAU, R., DOUTHEAU, A., DURAND, R., KATAYAMA, H., LAPALME, R., LETURC. D.M., LIAO, C.C., MACLACHLAN, F.N., MAFFRAND, J.P., MARRAZZA, F., MARTINO, R., MOREAU, C., ST-LAURENT, L., SAINTONGE, R., SOUCY, P., RUEST, L., AND DESLONGCHAMPS, P.: Total Synthesis of Ryanodol. *Can. J. Chem.* **57**: 3348- 3354, 1979.

- b) DESLONGCHAMPS, P., BÉLANGER, A., BERNEY, D.J.F., BORSCHBERG, H.J., BROUSSEAU, R., DOUTHEAU, A., DURAND, R., KATAYAMA, H., LAPALME, R., LETURC. D.M., LIAO, C.C., MACLACHLAN, F.N., MAFFRAND, J.P., MARRAZZA, F., MARTINO, R., MOREAU, C., RUEST, L., ST-LAURENT, L., SAINTONGE, R., AND SOUCY, P.: The Total Synthesis of (+)-Ryanodol. *Can. J. Chem.* **68**: 115-192, 1990.
7. RUEST, L., AND DESLONGCHAMPS, P.: Ryanoids and Related Compounds. A Total Synthesis of 3-épiryanodine. *Can. J. Chem.* **71**: 634-638, 1993.
8. WELCH, W., SUTKO, J.L., MITCHELL, K.E., AIREY, J., AND RUEST, L.: The Pyrrole Locus Is the Major Orienting Factor in Ryanodine Binding. *Biochemistry*, 1996. (sous presse)
9. a) JEFFERIES, P.R., TOIA, R.F., BRANNIGAN, B., PESSAH, I.N., AND CASIDA, J.E.: Ryania Insecticide: Analysis and Biological Activity of Ten Natural Ryanoids. *J. Agric. Food Chem.* **40**: 142-146, 1992.
- b) JEFFERIES, P.R., TOIA, R.F., AND CASIDA, J.E.: Ryanodyl 3-(Pyridine-3-Carboxylate): A Novel Ryanoid from Ryania Insecticide. *J. Nat. Products* **54**: 1147-1149, 1991.
10. a) WATERHOUSE, A.L., PESSAH, I.N., FRANCINI, A.O., AND CASIDA, J.E.: Structural Aspect of Ryanodine Action and Selectivity. *J. Med. Chem.* **30**: 710-716, 1987.

- b) PESSAH, I.N., WATERHOUSE, A.L., AND CASIDA, J.E.: The Calcium-Ryanodine receptor Complex of Skeletal and Cardiac Muscle. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **128**: 449-456, 1985.
11. RUEST, L., TAYLOR, D.R., AND DESLONGCHAMPS, P.: Investigation of the Constituents of *Ryania Speciosa*. *Can. J. Chem.* **63**: 2840-2843, 1985.
12. HUMERICKHOUSE, R.A., PASCHAL, J., ELVEY, T., BERRY, D., AND BESCH, H.R., JR.: Atypical Pharmacology of Commercial « Ryanodine »: Characterisation of a Novel *Ryania* Constituent. *Pharmacologist* **31**: 185, 1989.
13. JEFFERIES, P.R., LAM, W.W., TOIA, R.F., AND CASIDA, J.E.: *Ryania* Insecticide: Structural Assignment of Four Natural δ_{ax} -hydroxy-10-epiryranoids. *J. Agric. Food Chem.* **40**: 509-512, 1992.
14. HUMERICKHOUSE, R.A., BESCH, H.R., JR., GERZON, K., RUEST, L., SUTKO, J.L., AND EMMICK, J.T.: Differential Activating and Deactivating Effects Among Natural Ryanodine Congeners on Calcium Release Channels of Sarcoplasmic Reticulum: Evidence for Separation of effects at Functionally Distinct Sites. *Molecular Pharmacology* **44**: 412-421, 1993.
15. RUEST, L., AND DESLONGCHAMPS, P. (résultats non-publiés)
16. ISOGAI, A., MURAKOSHI, S., SUZUKI, A., AND TAMURA, S.: Chemistry and Biological Activities of Cinnzeylanine and Cinnzeylanol, New Insecticidal Substances from *Cinnamomum Zeylinacum* Nees. *Agric. Biol. Chem.* **41**(9): 1779-1784, 1977.

17. NOHARA, T., KASHIWADA, Y., MURAKAMI, K., TOMIMATSU, T., KIDO, M., YAGI, A., AND NISHIOKA, I.: Constituents of *Cinnamomi Cortex*. V. Structures of Five Novel Diterpenes, Cinnassiol D₁, D₁ Glucoside, D₂, D₂ Glucoside and D₃. *Chem. Pharm. Bull.* **29**: 2451-2459, 1981.
18. GONZALEZ-COLOMA, A., CABRERA, R., SOCORRO MONZON, A.R., AND FRAGA, B.M.: *Persea Indica* as a Natural Sources of the Insecticide Ryanodol. *Phytochemistry* **34**: 397-400, 1993.
19. GONZALEZ-COLOMA, A., TERRERO, D., PERALES, A., ESCOUBAS, P., AND FRAGA, B.M.: Insect Antifeedant Ryanodane Diterpenes from *Persea Indica*. *J. Agric. Food Chem.* **44**: 296-300, 1996.
20. SUTKO, J.L., ROBINSON, E., LATTANZIO, F.R., JR., SCHLATTERE, R.G., DESLONGCHAMPS, P., AND RUEST, L.: Pharmacology of the *Ryania* Alkaloids: The Ester A, a Ryanodine Analog that Only Increases Sarcoplasmic Reticulum Calcium Permeability. *Transduction In Biological Systems*, Plenum Publishing Corporation, New York, NY, 1990.
21. FAIRHURST, A.S.: The Preparation of Tritium Labeled Ryanodine. *J. Label. Compd.* **7**: 133-136, 1971.

22. SUTKO, J.L., THOMPSON, L.J., SCHLATTERER, R.G., LATTANZIO, F.A., FAIRHURST, A.S., CAMPBELL, C., MARTIN, S.F., DESLONGCHAMPS, P., RUEST, L., TAYLOR, D.R.: Separation and Formation of Ryanodine from Dehydroryanodine. Preparation of Tritium-Labeled Ryanodine. *J. Label. Compd., Radiopharm.* **23**: 215-222, 1986.
23. JEFFERIES, P.R., LERMBERG, E., LAM, W.-W., AND CASIDA, J.E.: Bioactive Ryanoids from Nucleophilic Additions to 4,12-seco-4,12-dioxoryanodine. *J. Med. Chem.* **36**: 1128-1135, 1993.
24. GERZON, K., HUMERICKHOUSE, R.A., BESCH, H.R., JR., BIDASEE, K.R., EMMICK, J.T., ROESKE, R.W., TIAN, Z., RUEST, L., AND SUTKO, J.L.: Amino- and Guanidinoacylryanodines: Basic Ryanodine Esters with Enhanced Affinity for the Sarcoplasmic Reticulum Ca^{2+} -Release Channel. *J. Med. Chem.* **36**: 1319-1323, 1993.
25. WITCHER, D.R., MCPHERSON, P.S., KAHL, S.D., LEWIS, T., BENTLEY, P., MULLINNIX, M.J., WINDASS, J.D., AND CAMPBELL, K.P.: Photoaffinity Labeling of the Ryanodine Receptor/ Ca^{2+} Release Channel with an Azido Derivative of Ryanodine. *J. Biol. Chem.* **269**: 13076-13079, 1994.
26. KAHL, S.D., MCPHERSON, P.S., LEWIS, T., BENTLEY, P., MULLINNIX, M.J., WINDASS, J.D., AND CAMPBELL, K.P.: Radioimmunoassay for the Calcium Release Channel Agonist Ryanodine. *Anal. Biochemistry*, **218**: 55-62. 1994.

27. WELCH, W., WILLIAMS, A.J., TINKER, A., RUEST, L., MITCHELL, K., DESLONGCHAMPS, P., LAMOTHE, J., GERZON, K., BESCH, H.R., AND SUTKO, J.L.: Structural Components of Ryanodine responsible for Modulation of Calcium Channel Function. *Biochemistry*, 1996. (sous presse)
28. OMURA, K., SWERN, D.: Oxidation of Alcohols by Activated Dimethylsulfoxide. A Preparative, Steric and Mechanistic Study. *Tetrahedron*, **34**: 1651, 1978.
29. YAMADA, S., YOKOYAMA, Y., AND SHIOIRI, T.: A New Synthesis of Thiol Ester. *J. Org. Chem.*, **39**: 3302-3303, 1974.
30. MURRAY, R.W., AND JEYARAMAN, R.: Dioxiranes: Synthesis and Reactions of Methyl dioxiranes. *J. Org. Chem.*, **50**: 2847-2853, 1985.
31. NEISES, B., AND STEGLISH, W.: Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **117**: 522, 1978.
32. HUMERICKHOUSE, R.A., BIDASEE, K.R., GERZON, K., EMMICK, J.T., KWON, S., SUTKO, J.L., RUEST, L., AND BESCH, H.R., JR.: High Affinity C₁₀-O_{eq} Ester Derivatives of Ryanodine: Activator-Selective Agonist of the Sarcoplasmic Reticulum Calcium Release Channel. *J. Biol. Chem.*, **269**: 30243-30253, 1994.
33. BIDASEE, K.R., BESCH, H.R., JR., GERZON, K., AND HUMERICKHOUSE, R.A.: Activation and Deactivation of Sarcoplasmic Reticulum Calcium Release Channels: Molecular Dissection of Mechanisms via Novel Semi-Synthetic Ryanoids. *Mol. Cell. Biochem.*, **149/150**: 145-159, 1995.

34. MEISSNER, G.: Ryanodine Activation and Inhibition of the Ca^{2+} Release Channel of Sarcoplasmic Reticulum. *J. Biol. Chem.*, **261**: 6300-6306, 1986.

35. LATTANZIO, F. A., Jr., SCHLATTERER, R. G., NICAR, M., CAMPBELL, K. P., AND SUTKO, J. L.: The Effect of Ryanodine on Passive Calcium Fluxes Across Sarcoplasmic Reticulum Membranes. *J. Biol. Chem.*, **262**: 2711-2718, 1987.