

177. Sur les constituants de l'ambre gris II.  
Ambréine et Coprostanone<sup>1)</sup>

par E. Lederer, F. Marx, D. Mercier et G. Pérot<sup>2)</sup>.

(26 V 46)

L'ambre gris est une concrétion intestinale du Cachalot (*Physeter macrocephalus L.*).

On l'utilise en parfumerie à cause de son odeur et de son pouvoir fixateur (voir *Naves* et *Mazuyer*; *Janistyn*; *Treff*).

Les constituants suivants ont été isolés de l'ambre gris:

Une substance cristallisée appelée *ambréine* (*Pelletier* et *Caventou*, F. 36<sup>o</sup>; *Riban*, F. 82<sup>o</sup>, C<sub>23</sub>H<sub>40</sub>O; *Suzuki*, F. 83<sup>o</sup>, C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O).

L'*épicoprostérol*, le *coprostérol* et un peu de *cholestérol* (*Isiguro* et *Watanabe*; *Janistyn*).

L'*acide arachidique*, C<sub>20</sub>H<sub>40</sub>O<sub>2</sub> (*Isiguro* et *Watanabe*).

Une «*ambraporphyrine*» ressemblant à la coproporphyrine (*Okahara*).

Une *partie cétonique* (*Sabetay* et *Sandulesco*).

Une *paraffine liquide* C<sub>18</sub>H<sub>38</sub>, probablement identique au pristane de *Tsujimoto*<sup>1)</sup>.

*Schmidt-Nielsen* et ses collaborateurs ont analysé sommairement plusieurs échantillons d'ambre gris.

Nous rapportons maintenant des détails sur la structure chimique de l'*ambréine*, substance spécifique de l'ambre gris, et sur l'isolement de la *coprostanone-3*, cétone principale de l'ambre gris.

*Ambréine.*

C'est *Suzuki* qui l'a obtenue le premier à l'état pur; nous pouvons entièrement confirmer le point de fusion, la rotation optique et les analyses élémentaires indiquées par cet auteur.

Nous isolons l'ambréine par chromatographie sur alumine d'un extrait brut d'ambre gris, ou mieux, de la partie non cétonique de l'insaponifiable. Les hydrocarbures (C<sub>18</sub>H<sub>38</sub> et C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>) sont élués par l'éther de pétrole, puis l'ambréine par le benzène. Les éluations suivantes, à l'éthanol, contiennent surtout de l'épicoprostérol.

Après une deuxième chromatographie, l'ambréine est recristallisée dans un mélange d'acétate d'éthyle et de méthanol. On l'obtient ainsi en très fines aiguilles incolores fondant à 83—83,5<sup>o</sup> <sup>3)</sup>,  $[\alpha]_D^{16} = +20,5^{\circ}$  (dans l'alcool). L'ambréine est facilement soluble dans la plupart des solvants organiques, assez peu dans le méthanol.

<sup>1)</sup> Première communication: *E. Lederer*, Bl. Soc. Chim. biol. (Trav.) **25**, 1239 (1943).

<sup>2)</sup> Mémoire exposé le 26 mai 1946 à Bâle, au cours des «Journées Biochimiques Franco-Suisses».

<sup>3)</sup> Les points de fusion de ce travail ont été déterminés soit au bloc *Berl*, soit sous le microscope avec l'appareil de *Reichert*, et sont corrigés.

Le réactif de *Liebermann* donne avec l'ambréine une couleur rose environ 10 fois moins intense que la coloration verte du cholestérol; il n'y a pas de coloration avec les réactifs décrits récemment par *Miescher*.

La composition élémentaire de l'ambréine (*Suzuki* 83,7% C, 12,1% H; *Hoffmann-La Roche*<sup>1</sup>): 83,84% C, 12,1% H), concorde aussi bien avec les formules  $C_{26}H_{44}O$ ,  $C_{27}H_{46}O$ , etc. qu'avec  $C_{30}H_{52}O$  ou  $C_{31}H_{54}O$ . Le poids moléculaire trouvé par *Suzuki* (340) concorde plutôt avec la première formule (372); celui trouvé par *Hoffmann-La Roche* (465) plutôt avec la dernière (442). Les résultats de l'oxydation et de la déshydratation de l'ambréine nous ont décidés d'adopter la formule  $C_{30}H_{52}O$ .

L'ambréine a 2 doubles liaisons déjà décelées par *Suzuki* qui a obtenu la tétrahydro-ambréine à l'état cristallisé (F. 80°). Notre tétrahydro-ambréine est restée huileuse. D'après le spectre d'absorption ultra-violet, les 2 doubles liaisons sont isolées<sup>2</sup>).

*L'oxygène de l'ambréine.* — L'ambréine ne contient ni carbonyle, ni méthoxyle; la présence d'un *hydroxyle* est indiquée: 1° — par les résultats d'un dosage d'hydrogène mobile d'après *Zérévitinov* (trouvé par *Hoffmann-La Roche* 0,22%; calculé pour 1 OH, 0,24%). 2° — par la déshydratation effectuée par ébullition de l'ambréine avec le chlorure d'acétyle dans le toluène, qui donne un hydrocarbure  $C_{30}H_{50}$  avec 3 doubles liaisons. 3° — par la formation d'une lactone après oxydation de l'ambréine.

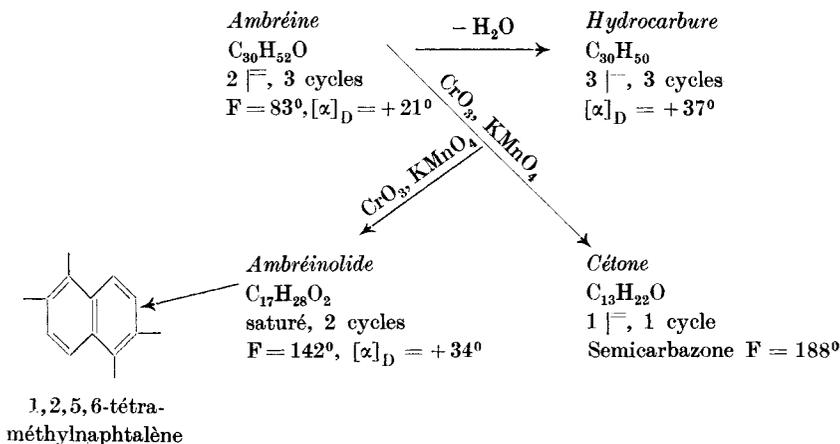
L'hydroxyle de l'ambréine ne se laisse pas acétyle à l'anhydride acétique ni au chlorure d'acétyle, ni benzoyler par le chlorure de benzyle. Il se comporte donc comme un *hydroxyle tertiaire*, ce qui explique la déshydratation facile par le chlorure d'acétyle. L'ambréine  $C_{30}H_{52}O$  est donc dérivée d'un hydrocarbure  $C_{30}H_{52}$ , ayant 2 doubles liaisons. L'*ambrane*,  $C_{30}H_{56}$ , l'hydrocarbure saturé correspondant, doit être *tricyclique*.

*Oxydation de l'ambréine.* — L'oxydation permanganique ou chromique de l'ambréine donne une lactone  $C_{17}H_{28}O_2$ , F. 141—142°,  $[\alpha]_D^{16} = +34^\circ$  (dans l'alcool) que nous appelons *ambréinolide*, et une *cétone liquide*  $C_{13}H_{22}O$  (semicarbazone F. 187,5—188,5°); nous retrouvons donc ici les 30 atomes de carbone de l'ambréine. En admettant que l'ambréine ait été scindée en 2 parties au niveau d'une double liaison, un des deux produits d'oxydation doit être saturé, l'autre doit encore contenir une double liaison. C'est la lactone qui est saturée,

<sup>1</sup>) Nous remercions vivement la Direction scientifique de *F. Hoffmann-La Roche*, Bâle, pour avoir fait effectuer à Bâle plusieurs microanalyses de nos substances. Les analyses portant la mention *Weiler* ont été effectuées à Oxford.

<sup>2</sup>) Nous remercions vivement Mme *P. Ramart-Lucas* pour nous avoir fait faire plusieurs mesures de spectres d'absorption.

tandis que la cétone contient une double liaison. D'après le spectre d'absorption, la double liaison n'est pas en conjugaison avec le carbonyle<sup>1)</sup>.



A côté de la cétone  $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}$ , nous avons isolé une substance saturée ayant probablement la formule  $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_2$ , disemicarbazone, F. 203—205°.

L'ambréinolide est une  $\gamma$ -lactone, car son oxyacide se cyclise spontanément en lactone. L'ambréinolide est dérivé d'un hydroxyacide,  $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{O}_3$ , saturé et bicyclique; la cétone  $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}$  étant monocyclique, nous sommes amenés à nous représenter l'ambréine comme un triterpène contenant un système bicyclique saturé, et un noyau monocyclique insaturé, reliés par une chaîne de plusieurs atomes de carbone, portant la double liaison au niveau de laquelle se produit la coupure oxydative.

L'appartenance de l'ambréine aux triterpènes est indiquée par la présence de groupes méthyles à divers endroits de la molécule. L'ambréine donne, au dosage de  $\text{C}-\text{CH}_3$  d'après *Kuhn-Roth*, 2,45 molécules de  $\text{C}-\text{CH}_3$ , l'ambréinolide 1,28, et la cétone  $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}$ , 1,65 molécules. Etant donné que différents groupes  $\text{CH}_3$  ne donnent dans ce dosage qu'un faible pour cent de la valeur théorique (voir *Kuhn* et *L'Orsa*), on peut facilement admettre la présence de 6 groupes méthyles correspondant aux 6 molécules d'isoprène, dont la condensation formerait l'ambréine (règle isoprénique de *Ruzicka*).

Nous avons essayé de préciser la structure de l'ambréinolide par des *déshydrogénations*, au sélénium et au palladium. Avec le sélénium nous avons obtenu un picrate orange fondant à 88°, dérivé d'un

<sup>1)</sup> Nous remercions vivement M. A. E. Gillam, Manchester, pour la mesure de ce spectre.

hydrocarbure liquide  $C_{14}H_{16}$ , puis un picrate rouge fondant, encore impur, de 120 à 128°. La déshydrogénation de l'ambréinolide avec le palladium sur charbon, nous a donné un hydrocarbure  $C_{14}H_{16}$  fondant à 114—116°, picrate rouge F. 154—156°, styphnate orange F. 162—164°. Cet hydrocarbure est identique au 1,2,5,6-tétraméthyl-naphtalène (F. 116°, picrate F. 156°, styphnate F. 165°), que plusieurs auteurs ont isolé par déshydrogénation de divers triterpènes (voir p. ex. *Ruzicka*, *Brügger*, etc.; *Ruzicka* et *Rosenkranz*, *Noller*, *Schulze*). Notre hydrocarbure n'a pas donné de dépression de point de fusion mélangé avec le 1,2,5,6-tétraméthyl-naphtalène authentique<sup>1</sup>).

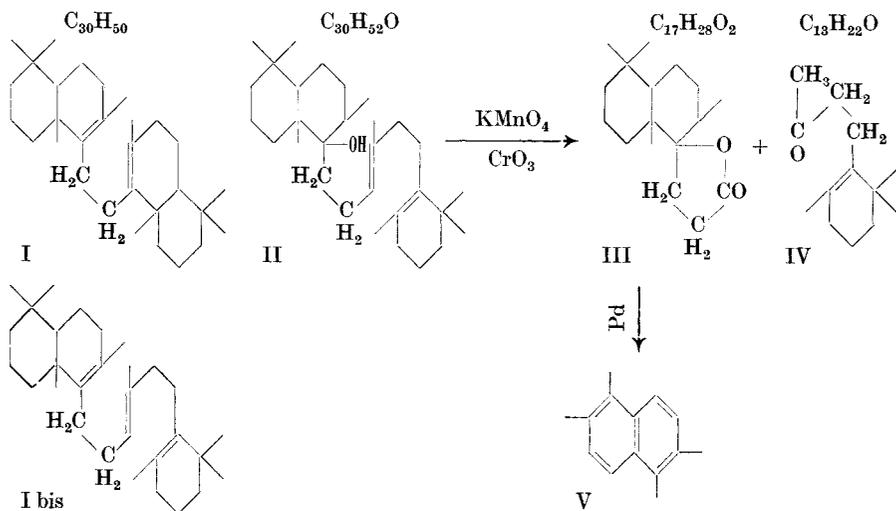
*Déshydratation de l'ambréine.* — L'insaponifiable de l'ambre gris contient, à côté de la paraffine  $C_{18}H_{38}$  (pristane), un hydrocarbure  $C_{30}H_{50}$  ( $[\alpha]_D^{16} = +37^\circ$ , dans l'éther), que nous obtenons à l'état pur après chromatographie et distillation sous 0,2 mm. (p. d'éb. 200—205°). Il se présente sous forme d'une huile très épaisse, incolore, et donne dans l'éther absolu saturé d'HCl, un trichlorhydrate fondant à 141—143°,  $[\alpha]_D^{16} = +26^\circ$  (dans l'éther). Cet hydrocarbure ne se trouve qu'en très faible quantité dans des extraits bruts d'ambre gris; il se forme au cours de la saponification ou de la distillation sous 0,2 mm des extraits d'ambre, et peut être préparé avec un très bon rendement par l'ébullition de l'ambréine avec le chlorure d'acétyle dans le toluène. Cette réaction est toutefois accompagnée d'une légère racémisation (ou isomérisation): le trichlorhydrate isolé de l'insaponifiable a un  $[\alpha]_D^{16} = +26^\circ$  (dans l'éther), tandis que le trichlorhydrate du produit de déshydratation de l'ambréine a des  $[\alpha]_D$  variant de  $+16^\circ$  à  $+20^\circ$ ; son p. de f. est de 132—136°. Nous n'avons pas encore précisé les conditions de la formation de l'hydrocarbure  $C_{30}H_{50}$  à partir des extraits bruts d'ambre gris par saponification ou par distillation.

L'oxydation permanganique de l'hydrocarbure  $C_{30}H_{50}$  donne la même cétone  $C_{13}H_{22}O$  (semicarbazone F. 188°), que l'ambréine, mais pas d'ambréinolide.

*Structure chimique de l'ambréine.* — L'hydrocarbure  $C_{30}H_{50}$  est un isomère tricyclique du squalène, dont il pourrait dériver par cyclisation. *Heilbron*, *Kamm* et *Owens* ont déjà préparé un tétracyclo-squalène (I) par cyclisation partielle du squalène (voir *Ruzicka* et *Hosking*). En admettant que notre hydrocarbure  $C_{30}H_{50}$  soit un tricyclo-squalène (I bis), l'ambréine serait un hydroxy-tricyclo-squalène de la formule II. On voit que l'hydroxyle de l'ambréine est placé à l'endroit d'une des doubles liaisons du tricyclo-squalène et que c'est au niveau d'une autre que se produit la coupure oxydative en une lactone  $C_{17}H_{28}O_2$  (III) et une cétone  $C_{13}H_{22}O$  (IV). Dans ce cas cependant,

<sup>1</sup>) Nous remercions Monsieur *L. Ruzicka* pour un échantillon de cet hydrocarbure.

la cétone  $C_{13}H_{22}O$  (semicarbazone F. 188°), ne serait rien d'autre que la dihydro- $\beta$ -ionone (IV) dont la semicarbazone fond à 170°. Notre cétone est différente aussi de la dihydro- $\alpha$ -ionone dont la semicarbazone fond à 167—167,5° (*Palfray, Sabetay et Kandel; Kandel; Naves et Bachmann; Ruzicka et Fischer*). La double liaison pourrait être située à un autre endroit de la molécule. Dans ce cas, l'hydrogénation de la cétone  $C_{13}H_{22}O$  devrait donner la tétrahydroionone<sup>1</sup>).



La formule de l'ambréinolide (III) nous paraît assez bien fondée, car elle est dérivée du tricyclo-squalène par simple hydratation et oxydation, et elle rend compte de la formation du 1, 2, 5, 6-tétraméthyl-naphtalène (V) par déshydrogénation. Nous reviendrons plus tard sur la question de savoir si cet hydrocarbure a été formé par une migration d'un méthyle géminale ou si l'ambréine contient déjà les 2 méthyles du noyau A en position ortho.

La partie bicyclique de l'ambréine qui fournit l'ambréinolide rappelle ainsi le diterpène *sclaréol* étudié par *Ruzicka et Janot*. L'ambréinolide est un proche parent de la lactone  $C_{16}H_{26}O$ , F. 126°, obtenue par oxydation du *sclaréol* (*Ruzicka, Seidel et Engel*). Si l'hydroxyle de l'ambréine se trouvait à la même place que celui du *sclaréol*, l'ambréinolide serait une  $\delta$ -lactone, ce qui ne semble pas être le cas.

L'ambréine est ainsi un nouveau *triterpène animal* qu'il convient de ranger entre le squalène aliphatique et les alcools tétracycliques de la graisse de laine.

<sup>1</sup>) C'est ce que *Ruzicka et Lardon* ont effectivement trouvé, *Helv.* **29**, 912 (1946).

*Coprostanone-3.*

*Sabetay* et *Sandulesco* ont été les premiers à isoler les cétones de l'ambre gris sous forme d'une huile épaisse jaunâtre. Nous en avons obtenu la principale à l'état pur, après distillation fractionnée, chromatographie et recristallisation dans l'alcool absolu. Elle fond à 61—62°,  $[\alpha]_D^{16} = +35^\circ$  (dans l'alcool). Sa composition élémentaire est exactement celle de l'ambréine, ce qui nous a d'abord conduits à lui donner la formule  $C_{30}H_{52}O$ , et le nom d'«ambrone». Mais nous avons récemment trouvé que l'«ambrone» n'est rien d'autre que la coprostanone-3 (F. 62°,  $[\alpha]_D^{18} = +36^\circ$ ).

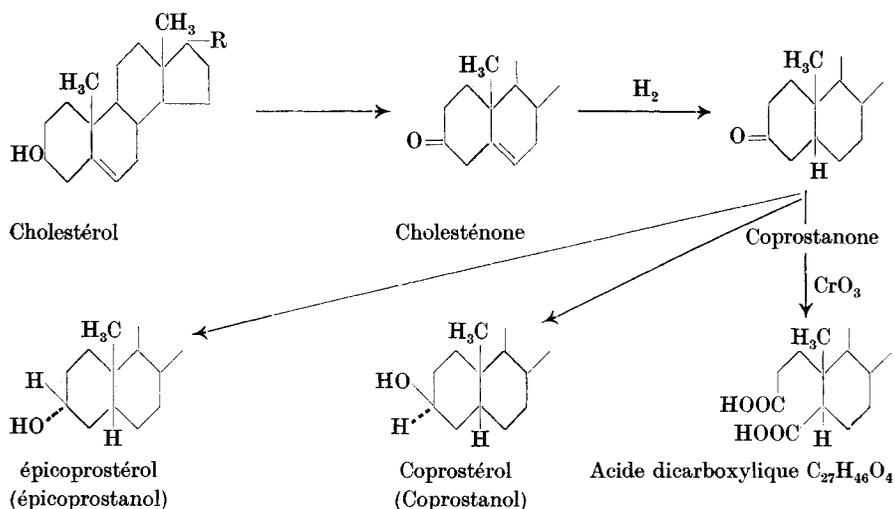
La coprostanone de l'ambre gris donne toutes les réactions décrites pour la coprostanone authentique: réduction en épiscoprostérol (F. 116°) et coprostérol (F. 101°) et finalement en coprostanane (F. 71°), oxydation chromique en acide dicarboxylique  $C_{27}H_{46}O_4$  (F. 245°, ester diméthylque F. 61°, *Gardner* et *Godden*; *Windaus*; *Grasshof*), et oxydation perbenzoïque en lactone  $C_{27}H_{46}O_2$  (F. 157°,  $[\alpha]_D = +50^\circ$ , *Burckhardt* et *Reichstein*).

L'identité de la coprostanone de l'ambre gris avec celle obtenue par oxydation chromique de l'épiscoprostérol, a été prouvée de façon certaine par les points de fusion des quatre mélanges suivants, qui n'ont pas donné de dépression: coprostanone-3 (F. 61—62°), sa semicarbazone (F. 190°), épiscoprostérol obtenu par réduction avec  $PtO_2$  (F. 114—116°) et son acétate (F. 88°).

La coprostanone-3 ne semble pas encore avoir été isolée d'une source naturelle. Sa présence dans l'ambre gris à côté de l'épiscoprostérol et du coprostérol est une nouvelle preuve de l'exactitude de la théorie de *Rosenheim-Starling* et *Schönheimer-Rittenberg-Graff*, sur la formation du coprostérol à partir du cholestérol dans l'organisme animal. D'après cette théorie le cholestérol est d'abord oxydé en cholestène-5-one-3 qui est réduite en coprostanone-3, dont la réduction donne finalement les 2 épimères coprostérol et épiscoprostérol. Récemment, *Rosenheim* et *Webster* ont effectivement isolé la cholesténone-3 des fécès de Chien et de Rat, et *Marker*, *Wittbecker*, *Wagner* et *Turner* ont trouvé l'épiscoprostérol dans les fécès de Chien. *Seule la coprostanone*, intermédiaire important de cette réaction, n'avait pas encore été isolée.

L'acide dicarboxylique  $C_{27}H_{46}O_4$  (F. 245°) formé par oxydation chromique de la coprostanone se trouve aussi parmi les acides libres de l'ambre gris, d'où nous l'avons isolé grâce à sa difficile estérification par le méthanol contenant 3% d'acide sulfurique. Le point de fusion de l'acide naturel et de son ester diméthylque (F. 61°) ne donne pas de dépression par le mélange avec l'acide synthétique et son ester (voir *Gardner* et *Godden*; *Grasshof*; *Windaus*).

## Transformation du cholestérol en coprostérol



Cet acide est ainsi un *nouvel acide biliaire naturel*, dont la constitution diffère sensiblement de celle des autres acides biliaires naturels.

Nous avons l'intention de vérifier sur de l'ambre gris prélevé directement de l'intestin du Cachalot, la présence de la coprostanone et de son acide dicarboxylique, car ces 2 substances pourraient peut-être se former seulement en dehors de l'animal, après exposition prolongée de l'ambre gris à l'air et à la lumière.

## Composition globale de l'ambre gris.

Les différents échantillons d'ambre gris que nous avons étudiés ont la composition suivante:

Insoluble dans l'éther . . . . .	10 à 16%
Hydrocarbure $C_{18}H_{38}$ . . . . .	2 à 4%
Ambréine . . . . .	25 à 45%
Epicoprostérol libre et estérifié . . . . .	30 à 40%
Coprostérol . . . . .	1 à 5%
Cholestérol . . . . .	moins de 0,1%
Cétones (dont plus que la moitié de coprostanone-3) . . . . .	6 à 8%
Acides libres . . . . .	5%
Acides estérifiés . . . . .	5 à 8%

## Description des expériences.

*Isolement de l'ambréine.* — 1. Par chromatographie d'un extrait brut d'ambre gris. Un morceau de 125 gr. d'ambre gris de bonne qualité a été traité à plusieurs reprises à l'éther éthylique. Il reste 20 gr. d'insoluble = 16 %. On lave les extraits éthérés à

la soude N et obtient 5,9 gr. = 5% d'acides libres et 98 gr. de partie neutre = 79%. 8,35 gr. de cette dernière sont dissous dans 30 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole et filtrés sur 300 gr. d'alumine Prolabo.

Élutions	Grammes	Substances
a) 100 cm <sup>3</sup> d'éther de pétrole . . . . .	0,213	Hydrocarbures
b) 100 cm <sup>3</sup> d'éther de pétrole . . . . .	0,029	
c) 200 cm <sup>3</sup> d'éther de pétrole . . . . .	0,042	
d) 100 cm <sup>3</sup> de benzène . . . . .	0,401	Ambréine
e) 500 cm <sup>3</sup> de benzène . . . . .	3,595	Ambréine
f) 500 cm <sup>3</sup> d'alcool . . . . .	4,054	Stérols

L'élu­tion e) possède une forte fluorescence vert-jaune.

L'ambréine des élutions d) et e) est purifiée par une nouvelle chromatographie.

2. *Par chromatographie de l'insaponifiable non cétonique.* On saponifie 45 gr. d'une partie neutre non cétonique avec 45 gr. de potasse alcoolique à 10% par ébullition pendant 6 heures. Après le traitement habituel, on obtient 41 gr. de partie insaponifiable, et 3,2 gr. d'acides. On élimine ensuite la paraffine liquide C<sub>18</sub>H<sub>38</sub> et les produits volatils par une distillation sous 0,2 mm en élevant lentement la température jusqu'à 150°. Il passe en tout 3 gr. (pristane et produits odorants).

28 gr. du résidu de distillation sont dissous dans 100 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole et filtrés sur 590 gr. d'alumine.

Élutions	Grammes	Substances
a) 450 cm <sup>3</sup> d'éther de pétrole . . . . .	4,812	Hydrocarbure C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>
b) 450 cm <sup>3</sup> d'éther de pétrole . . . . .	0,082	
c) 450 cm <sup>3</sup> d'éther de pétrole-benzène 4/1	14,526	Ambréine
d) 450 cm <sup>3</sup> d'éther de pétrole-benzène 3/1	0,795	
e) 900 cm <sup>3</sup> de benzène . . . . .	0,187	
f) 450 cm <sup>3</sup> d'alcool . . . . .	7,953	Epicoprostérol

L'ambréine du filtrat c) est dissoute dans le même volume d'acétate d'éthyle et cristallise après un séjour à la glacière. On y ajoute encore un volume de méthanol à 98%, puis on essore. Après deux recristallisations, l'ambréine est obtenue sous forme de fines aiguilles incolores fondant à 82,5°—83,5°;  $[\alpha]_D^{16} = +21^\circ$  (300 mgr. dans 10 cm<sup>3</sup> d'alcool),  $[\alpha]_D^{16} = +15^\circ$  (dans le benzène).

C<sub>30</sub>H<sub>52</sub>O Calculé C 84,03 H 12,23% P.M. 428,4  
 Trouvé (*Hoffmann-La Roche*)  
 C 83,97; 83,70; 83,85 H 12,04; 12,12; 12,13%; dans le camphre: 465  
 Méthoxy: 0%. H mobile d'après *Zérevitinov*: 0,22%  
 calculé pour 1 H: 0,24%  
 CH<sub>3</sub>—C: 8,6% = 2,45 molécules (*Weiler*).

L'ambréine pure peut être distillée sans décomposition appréciable à 0,2 mm (éb. ~ 210°).

*Déshydratation de l'ambréine.* On fait bouillir pendant 2 heures 500 mgr. d'ambréine avec 1 cm<sup>3</sup> de chlorure d'acétyle dans 4 cm<sup>3</sup> de toluène. On évapore à sec, sous vide, et dissout le résidu dans 10 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole pour le filtrer sur une colonne de 20 gr. d'alumine Prolabo. Le premier filtrat obtenu avec 20 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole contient 480 mgr. d'hydrocarbure; on le dissout dans 5 cm<sup>3</sup> d'éther absolu que l'on sature avec HCl à 0°. Les cristaux du trichlorhydrate sont essorés, lavés à l'alcool et recristallisés dans un mélange éther-alcool. On obtient des aiguilles incolores fondant à 132—136°;  $[\alpha]_D^{16} = +16^\circ$  (dans l'éther).

C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> , 3 HCl	Calculé	C 69,24	H 10,29	Cl 20,46%
	Trouvé (Weiler)	69,49	10,22	19,87%

L'hydrocarbure du filtrat a) (4,812 gr.) décrit ci-dessus ( $[\alpha]_D^{16} = +37^\circ$  dans l'éther;  $d = 0,9368$ ;  $n_D^{20} = 1,5185$ ;  $RM_D$  trouvé 132,87; calculé 132,74) donne un trichlorhydrate fondant à 139—143°;  $[\alpha]_D^{16} = +26^\circ$  (dans l'éther). Le mélange des deux trichlorhydrates fond à 133—142°.

C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> , 3 HCl	Calculé	C 69,24	H 10,29	Cl 20,46%
	Trouvé (Weiler)	69,43; 69,59	10,28; 10,15	20,42%

*Oxydation de l'ambréine.* 26,3 gr. d'ambréine sont dissous dans 790 cm<sup>3</sup> d'acétone; on porte la solution à l'ébullition et y ajoute par petites portions 79 gr. de KMnO<sub>4</sub>. L'oxydation dure environ 18 heures. On acidifie et dissout le MnO<sub>2</sub> par barbotage de SO<sub>2</sub>; on chasse la plus grande partie de l'acétone et filtre l'ambréinolide qui a cristallisé (7,4 gr.); on épuise le filtrat à l'éther que l'on lave à la soude; on obtient ainsi 4,2 gr. d'acides sous forme d'une huile épaisse. La partie neutre contient les deux cétones C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>O (~ 3 gr.) et C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>O<sub>2</sub> (~ 2 gr.).

*Ambréinolide.* On le recristallise 2 fois dans l'alcool et obtient de grands prismes fondant à 142°;  $[\alpha]_D^{16} = +34^\circ$  (dans l'alcool).

C <sub>17</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	Calculé	C 77,21	H 10,67%	P. M. 264
	Trouvé (Weiler)	77,18; 77,28	10,62; 10,43%	247; 236
Méthoxyle: 0%. CH <sub>3</sub> -C: 7,3% = 1,28 molécules (Weiler).				

Le poids moléculaire trouvé par titration du groupement lactonique est de 270.

La déshydrogénation avec du Pd sur charbon a été opérée dans des tubes à boules contenant chacun 2 gr. d'ambréinolide et 800 mgr. de catalyseur contenant 15% de Pd. On chauffe progressivement jusqu'à 330° et y maintient la température pendant 15 heures. On distille ensuite sous vide le produit de réaction: 890 mgr. d'huile que l'on dissout dans 5 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole. On filtre cette solution sur 15 gr. d'alumine. Les premiers lavages à l'éther de pétrole contiennent des hydrocarbures qui ne se combinent pas à l'acide picrique (383 mgr.); les filtrats suivants, (120 mgr.) donnent dans l'alcool un picrate rouge qui fond après recristallisation à 152—155° (rendement en produit pur: 30 mgr.).

C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> (HOC <sub>6</sub> H <sub>2</sub> (NO <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> )	Calculé	C 58,11	H 4,62	N 10,17%
	Trouvé (Weiler)	58,08	4,86	10,8%

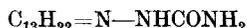
Après décomposition du picrate par filtration de sa solution benzénique sur alumine d'après Plattner et Pfau, nous avons obtenu l'hydrocarbure fondant après recristallisation dans l'alcool à 114—116°. Le styphnate de cet hydrocarbure (aiguilles oranges) fond à 162—164°. Il n'y a pas de dépression de point de fusion avec le picrate et le styphnate authentiques.

La déshydrogénation de 10 gr. d'ambréinolide par le sélénium nous a donné 30 mgr. d'un picrate orange fondant à 85°.

C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> (HOC <sub>6</sub> H <sub>2</sub> (NO <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> )	Calculé	C 58,11	H 4,62	N 10,17%
	Trouvé (Weiler)	57,95	4,62	9,90; 10,3%

*Cétone*  $C_{13}H_{22}O$ . La partie neutre provenant de l'oxydation de l'ambréine est traitée trois fois avec le réactif T de *Girard et Sandulesco*; on obtient 5,2 gr. de partie cétonique. que l'on fractionne dans un petit ballon à colonne *Vigreux*; la cétone  $C_{13}H_{22}O$  (2,3 gr.) distille à 71—75°/0,3 mm; liquide incolore  $n_D^{20} = 1,4860$ ,  $d = 0,9495$ ,  $RM_D$ : trouvé 58,78; calculé 59,57. Ne réduit pas l'argent ammoniacal; donne une coloration jaune avec le tétranitrométhane; pas de réaction colorée des méthylcétones d'après *Legal-Feigl*. 2,4-Dinitrophénylhydrazone recristallisée dans l'alcool: aiguilles oranges F. 97—99°.

Semicarbazone recristallisée dans l'acétate d'éthyle: prismes F. 188—189°.



Calculé	C 66,88	H 10,03	N 16,72%
Trouvé ( <i>Hoffmann-La Roche</i> )	66,90; 67,04	9,97; 9,75	17,09; 16,73%
CH <sub>3</sub> -C: 9,9% = 1,63 molécules ( <i>Weiler</i> ).			

*Dicétone*  $C_{13}H_{22}O_2$ . Cette cétone (1,7 gr.) distille à 88—90°/0,3 mm. Liquide incolore,  $n_D^{20} = 1,4935$ . Disemicarbazone F. 203—205°, très difficilement soluble dans les solvants organiques.

$C_{13}H_{22} (=N - NHCONH_2)_2$	Calculé	C 55,52	H 8,69	N 25,91%
	Trouvé ( <i>Weiler</i> )	55,26; 55,31	8,50; 8,38	25,9; 26,2%

Cette cétone réduit l'argent ammoniacal et donne la réaction colorée des méthylcétones d'après *Legal-Feigl*; elle ne colore pas le tétranitrométhane.

*Coprostanone-3*. Les cétones de l'ambre gris extraites de la partie neutre par le réactif T sont distillées sous 0,3 mm dans un ballon à colonne *Vigreux*; 21 gr. de cétones donnent ainsi 0,9 gr. d'une huile distillant jusqu'à 200°, puis 11,4 gr. d'une huile épaisse passant à 210—215°, et qui commence bientôt à cristalliser. Après purification chromatographique sur alumine, et cristallisations répétées dans l'alcool absolu, on obtient de grandes paillettes incolores brillantes, fondant à 61—62°;  $[\alpha]_D^{16} = +36,3^\circ$  (dans l'alcool); point de fusion du mélange avec la coprostanone-3 authentique, 61—62°.

$C_{27}H_{46}O$	Calculé	C 83,85	H 12,01%	P.M. 386
	Trouvé ( <i>Hoffmann-La Roche</i> )	83,97; 83,76	12,25; 12,20%	382; 391

Semicarbazone F. 188—190°; pas de dépression du F. du mélange avec la semicarbazone de la coprostanone.

L'hydrogénation catalytique de 480 mgr. de coprostanone d'ambre gris avec 100 mgr. de  $PtO_2$  d'après *Adams*, dans 20 cm<sup>3</sup> d'alcool, nous a donné un hydrocarbure et deux alcools. Ce mélange, dissous dans 5 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole, est filtré sur 12 g d'alumine *Prolabo*.

Elution	mgr.	Substances (après recristallisation)
a) 50 cm <sup>3</sup> d'éther de pétrole . . . . .	80	F. 69,5—70,5°: coprostane
b) 30 cm <sup>3</sup> d'éther de pétrole . . . . .	10	
c) 30 cm <sup>3</sup> d'éther de pétrole/benzène 3/1	85	F. 110—114°: épiscoprostérol
d) 30 cm <sup>3</sup> d'éther de pétrole/benzène 2/1	79	F. 110—114°: épiscoprostérol
e) 30 cm <sup>3</sup> de benzène . . . . .	90	F. 110—114°: épiscoprostérol
f) 30 cm <sup>3</sup> d'éther . . . . .	125	F. 98—101°: coprostérol

Coprostanone du filtrat a): $C_{27}H_{46}$	Calculé	C 87,00	H 13,00%
	Trouvé ( <i>Weiler</i> )	86,80; 86,68	12,95; 12,73%

Les filtrats c), d) et e) réunis ont donné, après plusieurs recristallisations dans l'acétate d'éthyle et dans l'alcool, des aiguilles soyeuses fondant à 113—116°; pas de dépression de point de fusion du mélange avec l'épicoprosterol authentique.

$C_{27}H_{48}O$	Calculé	C 83,34	H 12,46%
	Trouvé (Weiler)	„ 83,47; 83,65	„ 12,20; 12,43%

L'acétate de l'épicoprosterol des filtrats c), d), e) fond à 88° et ne donne pas de dépression de F., mélangé avec l'acétate de l'épicoprosterol authentique.

L'oxydation chromique de la coprostanone de l'ambre gris effectuée dans l'acide acétique glacial donne l'acide  $C_{27}H_{46}O_4$  fondant à 245°;  $[\alpha]_D^{16} = +49^{\circ}$  (dans l'alcool).

$C_{27}H_{46}O_4$	Calculé	C 74,58	H 10,68%
	Trouvé (Hoffmann-La Roche)	„ 73,78; 73,70	„ 10,31; 10,55%

Son ester diméthylrique préparé par action du diazométhane fond à 61°.

$C_{29}H_{50}O_4$	Calculé	C 75,26	H 10,90%
	Trouvé (Weiler)	„ 75,1	„ 10,79%

Nous avons aussi préparé l'anhydride qui semble ne pas encore avoir été décrit (ébullition de l'acide avec un excès d'anhydride acétique); paillettes brillantes fondant à 172—173°.

$C_{27}H_{44}O_3$	Calculé	C 77,82	H 10,66%
	Trouvé (Weiler)	„ 77,40	„ 10,43%

L'oxydation perbenzoïque de la coprostanone de l'ambre gris, d'après Burckhardt et Reichstein, a donné la lactone  $C_{27}H_{46}O_2$  décrite par ces auteurs: aiguilles fondant à 163—165°;  $[\alpha]_D^{16} = +50^{\circ}$  (dans l'alcool).

*Isolement de l'acide  $C_{27}H_{46}O_4$  de l'ambre gris.* Les acides libres de l'ambre gris ont été estérifiés par ébullition dans le méthanol contenant 3% d'acide sulfurique. Les acides non estérifiés par ce traitement (6% des acides) constituent une masse brune partiellement cristallisée. Après purification dans l'alcool, nous avons finalement obtenu des prismes encore légèrement teintés, fondant à 238—243°, et dont le mélange avec l'acide  $C_{27}H_{46}O_4$  obtenu par oxydation de la coprostanone, ne présentait pas de dépression de point de fusion. L'ester diméthylrique de l'acide naturel fond à 61° et ne donne pas de dépression de point de fusion, mélangé avec l'ester diméthylrique synthétique.

### Laboratoire de Chimie biologique, Institut de Chimie de l'Université, Lyon.

#### BIBLIOGRAPHIE.

- Burckhardt, V. et Reichstein, T., *Helv.* **25**, 1434 (1942).  
 Feigl, F., *Qualitative Analysis by Spot Tests*; Elsevier, Amsterdam 1939.  
 Gardner, J. A. et Godden, W., *Biochem. J.* **7**, 588 (1913).  
 Girard, A. et Sandulesco, G., *Helv.* **19**, 1095 (1936).  
 Grasshof, H., *Z. physiol. Ch.* **223**, 249 (1934).  
 Heilbron, I. M., Kamm, E. D. et Owens, W. M., *Soc.* **1926**, 1630.  
 Isiguro, T. et Watanabe, M., *J. pharm. Soc. Japan* **58**, 260 (1938).  
 Janistyn, H., *Fette u. Seifen* **48**, 501 (1941).  
 Kandel, J., *C. r.* **205**, 63, 994 (1937); *Ann. chim.* [11] **11**, 73 (1939).  
 Kuhn, R. et L'Orsa, F., *Z. angew. Ch.* **44**, 847 (1931).  
 Kuhn, R. et Roth, H., *B.* **66**, 1274 (1933).  
 Lederer, E., *Bl. Soc. Chim. biol. (Trav.)* **25**, 1239 (1943).

- Marker, R. E., Wittbecker, E. L., Wagner, R. B. et Turner, D. L.*, Am. Soc. **64**, 818 (1942).
- Miescher, K.*, Helv. **29**, 743 (1946).
- Naves, Y. R. et Bachmann, P.*, Helv. **26**, 2151 (1943).
- Naves, Y. R. et Mazuyer, G.*, Les Parfums Naturels; *Gauthiers-Villars*, Paris 1939.
- Noller, C. R.*, Am. Soc. **56**, 1582 (1934).
- Okahara, Y.*, Japan. J. med. Sci. II, Biochem. **1**, 247 (1927).
- Palfray, L., Sabetay, S. et Kandel, J.*, C. r. **203**, 1376 (1936).
- Pelletier et Caventou, J.* Pharm. **6**, 49 (1820).
- Plattner, Pl. et Pfau, A. St.*, Helv. **20**, 224 (1937).
- Riban, M. Y.*, Bl. [4] **11**, 754 (1912).
- Rosenheim, O. et Starling, W. W.*, Chem. Ind. **48**, 238 (1933).
- Rosenheim, O. et Webster, T. A.*, Biochem. J. **37**, 513 (1943).
- Ruzicka, L., Brünger, H., Egli, R., Ehmman, L., Furter, M. et Hösl, H.*, Helv. **15**, 431 (1932).
- Ruzicka, L. et Fischer, W.*, Helv. **17**, 633 (1934).
- Ruzicka, L. et Hosking, J. R.*, Helv. **14**, 203 (1931).
- Ruzicka, L. et Janot, M. M.*, Helv. **14**, 645 (1931).
- Ruzicka, L. et Rosenkranz, G.*, Helv. **23**, 1311 (1940).
- Ruzicka, L., Seidel C. F. et Engel, L. L.*, Helv. **25**, 621 (1942).
- Ruzicka, L., Schellenberg, H. et Goldberg, M. W.*, Helv. **20**, 791 (1937).
- Sabetay, S. et Sandulesco, G.*, Riechstoffindustrie 1937, 161.
- Schmidt-Nielsen et coll.*, Kong. Norske Vidensk. Selsk. Forh. **9**, 5 (1936); **13**, 149 (1941); **14**, 101 (1941).
- Schönheimer, R., Rittenberg, O. et Graff, M.*, J. Biol. Chem. **111**, 183 (1935).
- Schulze, H.*, Z. physiol. Ch. **238**, 35 (1936).
- Suzuki, M.*, Japan. J. med. Sci. Trans. II. **1**, 31 (1925).
- Treff, W.*, Fette u. Seifen **45**, 106 (1938).
- Tsujimoto, M.*, J. Ind. Eng. Chem. **9**, 1098 (1917).
- Windaus, A.*, B. **49**, 1732 (1916).
-