

DITERPENES DE *JUNIPERUS PHOENICA*—CONSTITUANTS MAJEURS

CHRISTIANE TABACIK et YOLANDE LAPORTHE

Ecole Nationale Supérieure de Chimie, 8, rue de l'Ecole Normale, Montpellier 34, France

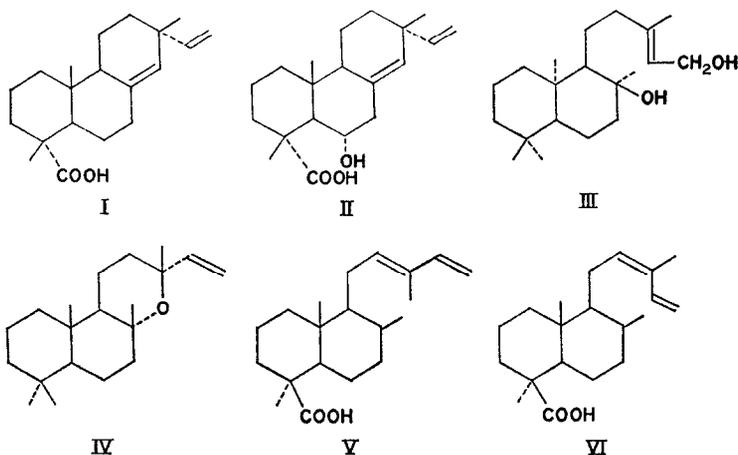
(Received 25 October 1970)

Abstract—The major constituents of a light petroleum extract of *Juniperus phoenicea* are: sandaracopimaric acid, eperuene diol and manoyl oxide. Two new hydroxy-acids: 6- α -hydroxysandaracopimaric acid and labd-8(20)-ene-12-hydroxy-19-oic acid have been also isolated.

Résumé—Les constituants majeurs de l'extrait éthéro pétrolique de *Juniperus phoenicea* sont l'acide sandaracopimarique, l'éperuène diol et l'oxyde de manoyle. On a isolé, en outre, 2 hydroxy-acides nouveaux: les acides 6- α -hydroxy-sandaracopimarique et labd-8(20)-ène-12-hydroxy-19-oïque.

Juniperus phoenicea L. ou Genévrier de phénicie, appartient à la famille des conifères (sous-tribu des Cupressinées). Les constituants légers du bois de coeur ont été examinés par Runeberg et coll.¹⁻³ et parmi les principaux: le carvacrol, le cuparène, le thujopsène, le cédrol, le widdrol et l'acide hinokiique. L'extrait total éthéro-pétrolique, n'avait encore fait l'objet d'aucune étude.

Les feuilles et rameaux de *Juniperus phoenicea* ont été récoltés dans la garrigue à 5 km environ de Montpellier en direction de Ganges et l'extrait éthéro-pétrolique soumis à des opérations systématiques de fractionnement.



¹ E. PETTERSSON et J. RONEBERG, *Acta Chem. Scand.* **15**, 713 (1961).

² J. RONEBERG, *Acta Chem. Scand.* **14**, 797 (1960).

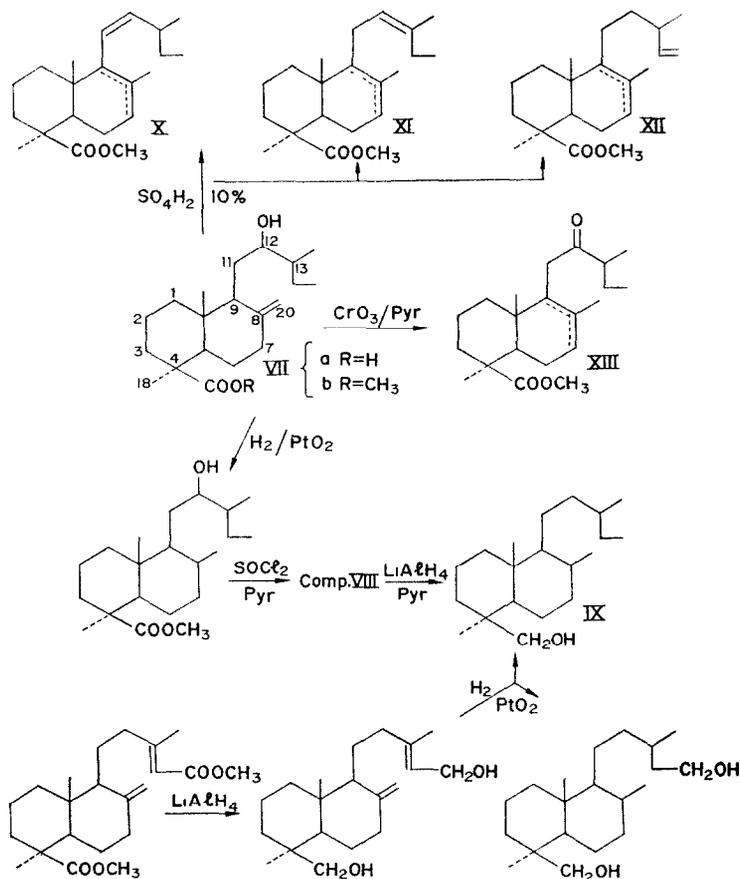
³ J. RONEBERG, *Acta Chem. Scand.* **14**, 1985 (1960).

RESULTATS

L'extrait ne contient pratiquement pas de phénols. Après séparation en fraction neutre et fraction acide, (45 et 55%), les 2 groupes de composés obtenus ont été chromatographiés sur silicagel. Les constituants pondéralement les plus importants sont des diterpènes tricycliques, parmi lesquels l'acide sandaracopimarique qui représente environ 20% de l'extrait, et des diterpènes bicycliques dont le principal est l'épéruène-diol (12%). Les composés aliphatiques sont nettement moins abondants que les composés diterpéniques: environ 10-15%. On a identifié également le β -sitostérol (environ 2,5%).

A côté des constituants diterpéniques de base, ont été isolés deux hydroxy-acides nouveaux: les acides hydroxy-6 α -sandaracopimarique et hydroxy-12 labd-8(20)ène-oïque-19.

(1) *Diterpènes tricycliques.* L'acide sandaracopimarique (I) est le constituant terpénique le plus abondant. Il a été identifié par comparaison avec un échantillon authentique* (point de fusion, spectres IR de RMN, spectre de masse). L'acide hydroxy-6 α -sandaracopimarique (II) qui existe en petite quantité à côté du précédent, est un composé nouveau; nous avons



Schema 1.

* Nous remercions Mr Cazaux de la Faculté de Talence, Bordeaux, pour l'envoi d'un échantillon de sandaracopimarate de méthyle.

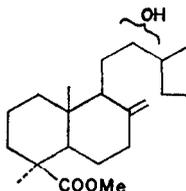
vérifié qu'il diffère de l'acide hydroxy-6 β -sandaracopimarique (ou hydroxy-12 β , selon notre nomenclature) isolé par D. E. Edwards,* à partir de *Callitris quadrivalvis*.⁴ D'après les résultats expérimentaux obtenus,⁵ nous lui avons attribué la formule II.

Nous espérons disposer prochainement d'éléments nouveaux,† en vue de l'interprétation de certaines particularités dans le comportement physico-chimique.

(2) *Diterpènes bicycliques*. Le constituant qui vient au second rang du point de vue importance pondérale est l'épéru-13(14)ene-8 β ,15-diol (III) (10% de l'extrait). Il a été identifié par comparaison avec un échantillon authentique.‡⁶ (p.f., spectres IR, de RMN, de masse).

A côté de l'épéruène-diol, nous avons isolé plusieurs autres diterpènes bicycliques appartenant à la série antipode, celle des composés de structure labdanolique; ce sont: l'oxyde de manoyle (IV) (4%),^{7,8} les acides *trans* et *cis* communiques (V et VI)⁹⁻¹¹ (en tout 1 à 2%) et un hydroxy-acide nouveau: l'acide hydroxy-12 labd-8(20)-ène oïque-19 (4%) (VIIa). L'acide (VIIa) a été obtenu sous forme d'un mélange huileux d'isomères erythro-thréo lesquels ont pu être séparés et identifiés quant à leur configuration; cependant l'étude de structure a été effectuée sur le mélange, la stéréochimie de la chaîne latérale n'ayant pas d'influence sur la partie cyclique de la molécule.¹²

D'après les spectres IR, le composé VIIa est un acide-alcool, porteur d'un groupement méthylène terminal, et son ester méthylique montre la présence d'une fonction ester axiale, caractéristique des diterpènes carboxylés en C₄.¹³ L'analyse et le spectre de RMN sont en accord avec la formule suivante:



En effet, nous y retrouvons les signaux du méthylène terminal et des 2 méthyles quaternaires, en C-4 et C-10, présent es dans les esters communiques,¹⁴ (8,83 τ , méthyle géminé avec une fonction ester et 9,50 τ , méthyle fortement blindé, placé dans le cône positivant de la double liaison). Deux signaux correspondant chacun à environ 1/2 proton (d 5,86 τ et

* Nous remercions le Professeur D. E. Edwards (Nat. Research Council, Ottawa) pour l'envoi d'un échantillon d'acide hydroxy - 12 β sandaracopimarique.

† Etude de cristaux par diffraction de rayons X, effectuée par M. M. Lapasset et Galnier à la Faculté des Sciences de Montpellier.

‡ Nous remercions le Professeur Jefferies (Dept. of Org. Chem. University of Western Australia) pour l'envoi d'un échantillon d'épéruène diol.

⁴ Q. E. EDWARDS, A. NICOLSON et N. N. RODGER, *Can. J. Chem.* **38**, 663 (1960).

⁵ Ch. TABACIK-WLOTZKA et Y. LAPORTHE, *Tetrahedron Letters* 2531 (1968).

⁶ P. R. JEFFERIES et T. G. PAYNE, *Australian J. Chem.* **18**, 1441 (1965).

⁷ R. HODGES et R. I. REED, *Tetrahedron Letters* **10**, 71 (1960).

⁸ J. A. GILES, J. N. SCHUMACHER, S. S. MIM et E. BERNASEK, *Tetrahedron Letters* **18**, 169 (1962).

⁹ T. NORIN, *Acta. Chem. Scand.* **19**, 1020 (1965).

¹⁰ B. R. THOMAS, *Acta. Chem. Scand.* **20**, 1074 (1966).

¹¹ A. AHOND et B. GASTAMBIDE, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **12**, 4533 (1967).

¹² Ch. TABACIK et Y. LAPORTHE, *Tetrahedron Letters* 3141 (1968).

¹³ S. BORY et M. FETIZON, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **57** (1964).

¹⁴ S. BORY, M. FETIZON et P. LASZLO, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 2130 (1963).

massif centré à 6,39 τ) ont été attribués à l'H en α de OH pour chacun des 2 isomères érythro-thréo.

Après hydrogénation, le méthyle 10, résonne à des champs 'normaux' (9,22 τ) et le proton géminé avec OH se manifeste par un triplet centré à 6,32 τ , dont l'intégration correspond à 1 H: la fonction OH est donc secondaire, en accord avec l'obtention d'un acétate.

La structure de VIIa a été confirmée au niveau du monoalcool (IX) par la corrélation décrite dans le schéma 1. Le composé IX, obtenu par hydrogénolyse de l'agathadiol à même R_f et même pouvoir rotatoire que celui obtenu par élimination de la fonction OH de VIIb; leurs spectres IR et de RMN sont identiques. (Il s'agit, en fait, d'un mélange d'isomères 13-R et 13-S dont la séparation n'a pas été envisagée, vu la faible quantité de produit dont nous disposions). L'hydroxy-acide (VIIa) appartient donc à la série labdanolique et porte une fonction acide en C-4.

Il reste à situer la fonction alcool: elle se trouve sur la chaîne, puisque les méthyles 4 et 10, dans le spectre de RMN de VIIb, ont même déplacement chimique que ceux des communes de méthyle. Ce fait est confirmé par spectrométrie de masse. On observe, en effet, un pic à $m/e = 81$, attribuable à l'ion $C_6H_9^+$, résultant de la coupure de la chaîne latérale suivie (ou précédée) de déshydratation; dans le cas de l'agathate de méthyle, on a l'ion à 83¹⁵ ($C_6H_9^+ + H_2$):



La fonction OH de la chaîne est localisée en C-12 par:

(a) la déshydratation de l'ester méthylique (VIIb) qui fournit un mélange de composés éthyléniques dont le principal est l'ester X porteur d'une double liaison disubstituée *cis*; l'ester X est vraisemblablement accompagné d'une petite quantité de son isomère $\Delta^{8,9}$ comme en témoigne l'existence, en CCM, d'une tache peu intense accolée, dans le spectre de RMN d'un signal dédoublé correspondant au méthyle sur double liaison et dans le spectre UV, d'un faible maximum à 2,35 nm. On a isolé comme produits secondaires, des esters éthyléniques dont le spectre IR correspond aux composés XI et XII.

(b) L'oxydation chromique de l'ester VIIb qui conduit à un mélange de cétones XIII, 13-R et 13-S (non différenciables par leur spectre de RMN). L'absence de signaux correspondant à des protons oléfiniques, dans le spectre de RMN indique que la double liaison $\Delta^{8,20}$ a migré en position tétrasubstituée $\Delta^{8,9}$. D'après son spectre UV, le composé XIII ne présente pas de conjugaison, ce qui élimine la position 11; comme il ne s'agit pas d'une méthylcétone (RMN) on peut également éliminer la position 14.

Les épimères érythro-thréo de l'hydroxy-acid (VIIa) ont été séparés, sous forme de leurs esters méthyliques, par chromatographie sur SiO_2-AgNO_3 .

PARTIE EXPERIMENTALE

Sauf indications contraires, les spectres IR sont mesurés en solution dans CCl_4 ; les spectres de RMN avec $Si(CH_3)_4$ comme référence interne, en solution dans $CDCl_3$; les spectres UV en solution dans l'éthanol; les pouvoirs rotatoires en solution dans l'éthanol.

Juniperus phoenicea est récolté en mai. Les feuilles et petits rameaux, après séchage sur claies pendant 15

¹⁵ C. R. ENZELL et R. RYHAGE, *Ark. Kemi* **23**, 367 (1965).

jours, sont broyés. Par extraction à l'éther de pétrole (24 hr dans un appareil soxhlet) de 800 g de poudre, on obtient environ 60 g d'extrait brut.

Séparation des composés acides et neutres. Une solution de 100 g d'extrait brut dans 1,5 l. d'éther de pétrole est lavée plusieurs fois avec une solution à 5% de Na_2CO_3 , jusqu'à obtention d'une liqueur de lavage incolore: —La solution éthéro pétrolique séchée sur Na_2CO_3 fournit, après concentration, 45 g de fraction neutre E_1 . La solution aqueuse de Na_2CO_3 est acidifiée par HCl à 10% et extraite à l'éther; on isole ainsi 55 g d'extrait acide E_2 .

Chromatographie de l'extrait acide E_2 . 100 g d'extrait E_2 sont soumis à une séparation par chromatographie d'éluion sur 2 kg de silicagel II–III. Volume de fractions: 1 l. Eluant: mélanges de polarité croissante réalisés avec les solvants: éther de pétrole, benzène, éther. Les fractions éluées avec un mélange éther de pétrole benzène, (1:1) et au benzène, soit environ 30 g ont pour constituant principal l'acide sandaracopimarique. Les fractions éluées avec un mélange benzène-éther (19:1) (10 g) sont constituées par un mélange d'acide sandaracopimarique et d'acides aliphatiques. Par éluion avec le mélange benzène-éther (3:1), on obtient 8 g d'acide labd-8(20)ène-12-ol-19-oïque brut. Dans les fractions éluées à l'éther, cristallise l'acide hydroxy-6-sandaracopimarique (2 g).

Acide sandaracopimarique (I). Dans les fractions éluées au benzène, il cristallise par évaporation du solvant. Après 2 recristallisations (ligroïne-acétate d'éthyle 9:1), il donne une tache unique en chromatographie sur couche mince (SiO_2 -acide oxalique 0,5 N; éluant benzène-éther 19:1). p.f.: 173–175¹⁶. Analyse: $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2 = 302$. Calc. % C 79,18, H 9,81, O 10,52; Tr. %: C 79,4, H 9,9, O 10,5. Spectre IR (KBr): 1690 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$); 3080, 1630, 910, 990 cm^{-1} (R—CH=CH₂). Spectre de RMN: CH_3 -4: 8,82 τ ; CH_3 -10: 9,16 τ ; CH_3 -13: 8,99 τ ; protons oléfiniques: système ABX: 281 à 358 Hz.

Sandaracopimarate de méthyle. p.f.: 65–67¹⁷ pas de dépression en mélange avec l'échantillon de référence. Spectres IR et de RMN: identiques à ceux de l'échantillon de référence.

Acide sandaracopimaro hydroxamique. A une solution de Na_2CO_3 (80 mg) dans 7,5 ml d'eau distillée, on ajoute 105 mg de chlorhydrate d'hydroxylamine en solution dans 7,5 ml d'eau, puis une solution, dans 20 ml d'éther anhydre, de 0,300 g de chlorure desandaracopimaryle (obtenu par action du chlorure de thionyle sur l'acide sandaracopimarique à reflux dans le benzène). Après 15 hr à température ambiante, la couche organique est décantée. Par concentration de l'éther, on obtient 250 g d'acide sandaracopimaro hydroxamique. p.f. 154–155° (3 recristallisations dans l'éther di-isopropylique). Analyse: $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{O}_2\text{N} = 317$. Calc. %: C 75,93, H 9,49, O 10,12, N 4,43; Tr. %: C 75,68, H 9,66, O 10,32, N 4,20. Spectre IR (CHCl_3): $\nu_{\text{C=O}}$ 1640 cm^{-1} , bande très large.¹⁸ Spectre de RMN (CDCl_3): CH_3 -4 8,82 τ ; CH_3 -10 9,18 τ ; CH_3 -13: 8,98 τ ; protons oléfiniques: 281 à 355 Hz.

Acides aliphatiques. Les fractions de la chromatographie de base éluées au mélange benzène-éther (19:1) (10 g) sont estérifiées avec le diazométhane; on chromatographie par la méthode sèche le mélange d'esters méthyliques obtenu. 1,300 g de mélange d'esters sont placés sur une colonne sèche de 100 g de silicagel et élués avec un mélange benzène-éther 95: 5. On isole: (1) dans la partie frontale de la colonne: 0,650 g de sandaracopimarate de méthyle; (2) dans la partie médiane, 0,350 g de mélange d'esters aliphatiques: IR (CCl_4) $\nu_{\text{C=O}}$ 1738 cm^{-1} ; RMN (CCl_4) protons méthyléniques: pic intense à 8,75 τ ; COOCH_3 6,41 τ ; protons éthyléniques triplet centré à 4,60 τ .

Chromatographie en phase gazeuse. Aérogaph A 700; PDEAS—5 pieds 1/4 pouce; température: colonne 185°, injecteur: 295°, détecteur: 285°; on a identifié, par injection d'étalons internes, les esters méthyliques des acides laurique, myristique, palmitique, stéarique, oléique, linoléique, linoléique.

Acide 6- α -hydroxy-sandaracopimarique (II). Il cristallise dans les fractions de la chromatographie de base éluées à l'éther. F 265–267° (acétone). Analyse: $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_3 = 318$. Calc. %: C 75,47, H 9,40, O 15,09; Tr. %: C 75,28, H 9,47, O 15,12. Spectre IR (KBr): ν_{OH} : 1088 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=O}}$: 1700 cm^{-1} ; 3080, 1630, 910, 990 (R—CH=CH_2); 1665–858 cm^{-1} ($>\text{C=C—H}$). Spectre de masse: pic moléculaire m/e 318—pic de base m/e 121; principaux fragments 303 (M-15), 300 (M-18), 285 (M-18-15).

Acétylation. A une solution de 0,2 g d'acide 6 α -hydroxy sandaracopimarique, dans 2 ml de pyridine, on ajoute 0,5 g d'anhydride acétique. Après 12 hr à température ambiante, la solution est reprise par de l'eau glacée; l'acide 6- α -acétoxy-sandaracopimarique cristallise: p.f. 198–200° (éthanol). Analyse: $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_4 = 360$. Calc. %: C 73,33, H 8,88, O 17,97; Tr. %: C 73,38, H 8,77, O 17,94. Spectre IR (Kbr): $\nu_{\text{C=O}}$ (acétate): 1695 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=O}}$ (acide) 1235 cm^{-1} ; insaturation à 3085, 1630, 905, 990 cm^{-1} et 830 cm^{-1} . Spectre UV (éthanol) λ_{max} 211 nm (ϵ 8330). Spectre de RMN: CH_3 -4 = 8,78; CH_3 -10 = 9,16; CH_3 -13 = 8,97 τ ; $\text{OCOCH}_3 = 8,02 \tau$, protons oléfiniques système ABX: 284 à 362 Hz, 1 singulet: 4,73 τ .

Méthylation. Le 6- α -hydroxy sandaracopimarate de méthyle est obtenu par action d'une solution éthérique de diazométhane sur l'acide. p.f. 89–91°. Spectra, e IR (CCl_4): ν_{OH} à 3615, 3500, 1090 cm^{-1} ; $\nu_{\text{C=O}}$: 1725, 1247 cm^{-1} ; insaturations à 3090, 1640, 912, 1000 cm^{-1} ; 860 cm^{-1} . Spectre de RMN (CDCl_3): CH_3 -4 = 8,83 τ ; CH_3 -10 = 9,16 τ ; CH_3 -13 = 8,96 τ ; CH—(OH): massif large centré vers 5,0 τ ; protons oléfiniques: H_{14} 4,72 τ (s); système ABX de 284,5 à 363,5 Hz; COOCH_3 6,28 τ .

¹⁶ L. J. GOUGH, *Chem. Ind. (London)* 50, 2059 (1964).

¹⁷ N. MASSON JOYE, JR., R. V. LAWRENCE et L. J. GOUGH, *J. Org. Chem.* 31, 320 (1966).

¹⁸ O. EXNER et B. KAKAC, *Coll. Czech Chem. Comm.* 28, 1656 (1963).

Acide labd-8(20)ène-12-ol-oïque-19 (VIIa). Les fractions de la chromatographie de base éluées avec un mélange benzène-éther (3:1) (5 g) sont chromatographiées par la méthode sèche sur 600 g de silicagel II-III (éluant: éther de pétrole-éther, 1:1). On isole 1800 g d'acide labd-8(20)ène-12-ol-oïque-19 huileux. Spectre IR (CCl₄) OH: 3640 cm⁻¹; ν_{C=O}: 1690 cm⁻¹; 3080, 1638, 885 cm⁻¹ (>C=CH₂).

Sel de cyclohexylamine. A une solution de 0,190 g d'acide labd-8(20)ène-12-ol-19-oïque dans 2 ml d'éther anhydre, on ajoute 0,063 g de cyclohexylamine en solution dans de l'éther de pétrole anhydre. Le sel de cyclohexylamine cristallise: p.f. 78-80°. Analyse: C₂₆H₄₆O₃N 420. Calc. %: C 74,29, H 10,95, O 11,48, N 3,33; Tr. %: C 74,23, H 10,86, O 11,40, N 3,14.

Ester méthylique. On obtient, par action d'une solution étherique de diazométhane, le labd-8(20)ène-12-ol-19-oate de méthyle huileux: E_b 0,2 158-160°. [α]_D +23°9 (c 0,83). Analyse: C₂₆H₃₀O₃ = 336. Calc. %: C 75,00 H 10,71 O 14,28; Tr. %: C 74,81 H 10,63 O 14,64. Spectre IR ν_{OH} 3630 cm⁻¹; ν_{C=O} 1720 cm⁻¹; 1150, 1190, 1230 cm⁻¹ (ν_{C-O} axial); insaturation à 3085, 1638, 885 cm⁻¹. Spectre de RMN CH₃-4: 8,83 τ, CH₃-10: 9,50 τ; CH₃-13: 9,05-9,16 τ; COOCH₃: 6,39 τ. Méthylène exocyclique: 5,15 et 5,40 τ. Protons géminés avec OH: 5,80-5,92 τ et massif masqué par le signal du méthyle de COOCH₃. Spectre de masse: pic moléculaire m/e: 336; pic de base m/e 121-Fragments à m/e 321 (M-15); 276 (M-60). Spectre UV λ_{max} 205 nm (ε 6600).

Acétate. A une solution de 0,3 g d'acide labd-8(20)ène-12-ol-19-oïque dans 5 ml d'anhydride acétique, on ajoute 0,05 g d'acétate de sodium. Après 1 hr de reflux, le mélange est dilué et extrait à l'éther. L'éther séché sur Na₂SO₄, fournit, après concentration, 0,3 g d'acide labd-8(20)ène-12-acétoxy-19-oïque huileux (donnant 1 tache unique en CCM). Spectre IR: ν_{C=O} acétate 1735 et 1235 cm⁻¹; ν_{C=O} acide 1690 cm⁻¹; insaturation 3080, 1640, 885 cm⁻¹ (>C=CH₂). Spectre de RMN: CH₃-4: 8,78 τ; CH₃-10: 9,42 τ; OCOCH₃: 7,98 τ >C=CH₂: 5,16-5,46 τ; CH—(OCOCH₃): triplet centré à 5,90 τ

Hydrogénation. 0,5 g d'acide labd-8(20)ène-12-ol-19-oïque sont hydrogénés dans 10 ml d'éthanol, en présence de 0,05 g d'oxyde de platine. Le produit d'hydrogénation est chromatographié sur 20 g de silicagel II-III. Les fractions éluées au mélange benzène-éther 95:5 contiennent 0,4 g d'acide labd-12-ol-19-oïque huileux (donnant une tache unique en CCM). Spectre IR ν_{OH} 3640 cm⁻¹; ν_{C=O} 1700 cm⁻¹. Spectre de RMN méthyles à 8,76 τ (CH₃-4); 9,04 τ; 9,15 τ; 9,22 τ (CH₃-10), proton géminé avec OH: triplet centré à 6,32 τ.

Préparation du labdane-19-ol IX à partir de l'acide labda-12-ol-19-oïque. (a) *Obtention du composé VIII.* Une solution de 0,1 g d'acide labda-12-ol-19-oïque et 0,3 ml de chlorure de thionyle dans 6 ml de pyridine est chauffée 2 hr à 90°. Le mélange refroidi est dilué par addition de 8 ml de HCl 10% et extrait à l'éther. La solution étherique est lavée avec HCl 5%, séchée sur Na₂SO₄ et concentrée. On chromatographie par la méthode sèche le résidu obtenu VIII (8 g de SiO₂ II-III; benzène-éther 7:3). Spectre IR: ν_{C=O}: 1956 cm⁻¹; ν_{C=O} et ν_{S=O}: 1260, 1095, 1015 cm⁻¹. Spectre de RMN: méthyles à 8,77 τ, 9,05 τ; 9,16 et 9,22 τ; proton géminé avec S—O: triplet centré à 6,41 τ. (b) *Réduction du composé VIII.* A 0,1 g de LiAlH₄ dissous dans 2,5 ml de tétrahydrofurane, on ajoute une solution de 0,050 g de VIII dans 25 ml de tétrahydrofurane. Après 10 hr de reflux, le complexe est décomposé; le mélange obtenu décanté et épuisé à l'éther. On isole 0,035 g de labdane-19-ol (III) [α]_D +14° (c 0,63) Spectre IR: ν_{OH}: 3640, 3330, 1020 cm⁻¹. Spectre de RMN: méthyles à 9,19, 9,04, 9,07 τ avec épaulements à 9,11 et 9,15 τ. CH₂(OH): système AB à 200; 210,5; 221; 232 Hz, (J_{AB} 10,5 Hz).

Préparation du labdane-19-ol (IX) à partir de l'agathadiol. 0,2 g d'agathadiol (p.f. 102-103°. IR ν_{OH}: 3620, 3018 cm⁻¹; >C=CH₂: 3080, 1645, 895 cm⁻¹; ν_{C=C} 1665 cm⁻¹) sont hydrogénés sous pression normale dans 10 ml d'éthanol, en présence de 0,08 g d'oxyde de platine. Après filtration du catalyseur, le produit d'hydrogénation est chromatographié par la méthode sèche sur 10 g de silicagel II-III (éluant: benzène-éther 1:1):—Dans la partie médiane de la colonne, on récupère 0,065 g de labdane-15-19-diol. p.f. 74-76°. [α]_D +12° (C 1,2). RMN: méthyles à 8,74; 9,05; 0,07; 9,20 τ. Protons géminés avec les 2 fonctions alcool (4 protons) massif complexe de 200 à 231 Hz. Dans la partie frontale de la colonne: on isole 0,09 g de labdane-19-ol (VIII). Spectre IR: ν_{OH}: 3640; 1020 cm⁻¹. Spectre de RMN: méthyles à 9,05; 9,08; 9,19 τ épaulement à 9,11 τ. Protons géminés avec OH: système AB à 199, 210, 220, 231 Hz (J_{1B} 10,5 Hz).

Déshydratation du labd-8-(20)ène-12-ol-19-oate de méthyle VIIb. 0,24 g d'ester méthylique VIIb sont dissous dans 20 ml d'un mélange eau-dioxanne (1:3) additionné de 10% d'acide sulfurique concentré. Après 4 hr de chauffage à reflux, le dioxanne est évaporé sous vide. On dilue et extrait à l'éther. Le résidu huileux (0,22 g) obtenu après concentration de la solution étherique présente plusieurs taches en CCM. On sépare, par chromatographie sèche (SiO₂ II-III, benzène) l'ester initial Ib n'ayant pas réagi (environ 50%). Le produit déshydraté (0,1 g) est soumis à une chromatographie d'éluion sur SiO₂-AgNO₃ 20% (7 g). On élue avec un mélange éther de pétrole-benzène (1:1). (a) dans les fractions 1-2-3 8 mg d'un ester présentant en IR les bandes d'insaturation d'une double liaison tri-substituée (1670-860 cm⁻¹) (b) dans les fraction 6-7-8: 25 mg d'un mélange de 2 esters (CCM). Spectre IR: ν_{C=O}: 1730 cm⁻¹; 1150, 1190, 1230 cm⁻¹ (ester axial) 1670, 970 cm⁻¹ (ν_{C=C}). Spectre UV: λ_{max} 205 et 235 nm (ε 7828, 5227). Spectre de RMN: méthyles à 8,19 et 8,35 τ (CH₃-8), 8,74 et 8,79 τ (CH₃-4); 9,22 τ (CH₃-10), 9,06 et 9,34 τ; COOCH₃: 6,38 τ.

Oxydation chromique de VIIb. A une suspension de 0,1 g d'anhydride chromique dans 1,5 ml de pyridine, on ajoute une solution de 0,08 g d'ester VIIb dans 2 ml de pyridine. Le mélange réactionnel est agité à la température ambiante pendant 27 hr durant lesquelles la réaction est suivie en CCM. Après addition de 20 ml

d'éther, le mélange est filtré et la couche éthérique séparée et lavée avec HCl 10%. On obtient 0,085 g de mélange oxydé (plusieurs taches en CCM) lequel est chromatographié sur 12 g de silicagel II-III. Les fractions éluées au benzène donnent 0,04 g d'un mélange d'esters cétoniques XIII. Spectre IR: $\nu_{C=O}$ 1730 cm^{-1} (ester) épaulement à 1710 cm^{-1} (cétone). Spectre de RMN méthyles: CH₃-4; 8,82 τ ; CH₃-8; 8,46 τ ; CH₃-10; 9,25 τ ; COOCH₃ à 6,39 τ . Spectre UV: λ_{max} 205 et 245 nm. (ϵ 4800 et 1300).

Séparation des 2 esters alcools VIIb épimères en C-12. 0,15 g du mélange d'esters méthyliques VIIb sont chromatographiés sur 17 g de SiO₂ + 20% NO₃Ag: (1) Les fractions 1 à 4 éluées au mélange benzène-éther (9:1) fournissent 96 mg de l'épimère A. $[\alpha]_D +41^{\circ}9$ (c 0,9). Spectre IR: ν_{OH} : 3640 cm^{-1} ; $\nu_{C=O}$ 1730 cm^{-1} ; 1155, 1190, 1230 cm^{-1} ; insaturation à 3080, 1645, 890 cm^{-1} . Spectre de RMN: méthyles: CH₃-4; 8,83 τ ; CH₃-10; 9,50 τ H sur C-20; 5,18 et 5,51 τ ; COOCH₃: 6,40 τ . Protons éthyléniques: 5,78-5,51 τ ; protons géminés avec OH: masqués par la résonance de COOCH₃. (2) Dans les fractions éluées au mélange benzène-éther 9:1, on isole 25 mg de l'épimère B: $[\alpha]_D +25^{\circ}6$ (c 0,76). Spectre IR: identique à celui de l'épimère A. Spectre de RMN: CH₃-4; 8,83 τ ; CH₃-10; 9,50 τ ; H sur C-20: 5,12 et 5,46 τ . COOCH₃: 6,37 τ . Proton géminé avec OH: doublet à 5,78-5,90 τ . Protons éthyléniques: doublet à 5,12-5,46 τ .

Trans-communauté de méthyle. Les fractions 10 à 20 (4,5 g) de la chromatographie de base (éluées au mélange benzène-éther de pétrole 1:1) sont estérifiées par le diazométhane et chromatographiées sur SiO₂-20% AgNO₃ (200 g). On isole, par élution à l'éther de pétrole: 0,7 g de transcommunauté de méthyle: Eb_{0,25} 165-168°. p.f. 104-105°. $[\alpha]_D +47^{\circ}$ (c 0,51; CHCl₃). Analyse: C₂₁H₃₂O₂ 316. Calc. %: C 79,70, H 10,19, O 10,11; Tr. %: C 79,46, H 10,21, O 10,85. Spectre de masse: pic moléculaire à *m/e* 316; pic de base *m/e* 121: principaux fragments: *m/e* 301 (M-15) 284 (M-32). Spectre IR: $\nu_{C=O}$ 1728 cm^{-1} ; ν_{C-O} 1230, 1190, 1155 cm^{-1} ; insaturation: $\nu_{CH=CH_2}$: 3095, 1645, 1420, 990 cm^{-1} ; $\nu_{>C=CH_2}$: 1790, 895 cm^{-1} . Spectre UV: λ_{max} 233 nm. ϵ 22.100. Spectre de RMN: CH₃-4; 8,82 τ ; CH₃-10; 9,47 τ ; CH₃-13; 8,27 τ COOCH₃: 6,36; protons oléfiniques: 3,63 τ (H-14:9) 4,82-5, 16 τ (H₂-15); 5,16-5,53 τ (d: H₂-20) 4,61 τ (t, H-12).

Séparation des Constituants Neutres. (Extrait E₁)

Saponification. Une solution de 100 g d'extrait neutre E₁ dans 500 ml de potasse éthanolique à 5% est chauffée à reflux pendant 2 hr. Après concentration au tiers de son volume, le mélange est dilué et extrait à l'éther. Le résidu E₁ obtenu après concentration de la solution éthérique (80 g) est chromatographié.

Chromatographie. 127 g de mélange neutre E₃ sont portés sur 2 kg de silicagel III: on isole, dans les fractions polaires (benzène-éther 19:1): 2 g de β -sitostérol. p.f. 139-140° identifié par ses spectres IR et de RMN. 15 g d'épéruène-diol III p.f. 126-127°. Analyse: C₂₀H₃₆O₂ 308. Calc. % C 77,92, H 11,68, O 10,64; Tr. % C 77,79, H 11,55, O 10,64. Spectre IR (KBr) ν_{OH} 3340; ν_{C-O} 1010 cm^{-1} ; insaturation: 1670, 780, 850 cm^{-1} . Spectre de RMN: CH₃-4; 9,13 et 9,21 τ ; CH₃-10; 9,21 τ ; CH₃-13; 9,33 τ ; CH₃-8; 8,88 τ . Protons géminés avec OH: 2 singulets à 5,82 et 5,93 τ . Protons éthyléniques: triplet centré à 4,56 τ .

Dans les fractions de tête (éther de pétrole), 8 g d'oxyde de manoyle IV: Eb_{0,15} 154-156°. p.f. 27-27,5° $[\alpha]_D +22^{\circ}$ (c 0,66). Analyse: C₂₀H₃₄O 290. Calc. % C 86,92, H 11,80, O 5,51; Tr. % C 82,67, H 11,71, O 5,87. Spectre de masse: pic de base à *m/e* 275 (M-15) principaux fragments: *m/e* 257 (M-15-18), 205, 192. Spectre IR: fonction éther: 1120, 1100, 1080, 802 cm^{-1} ; insaturation vinylique: 3090, 1645, 995, 925 cm^{-1} . Spectre de RMN: méthyles à 8,70; 8,73; 9,15; 9,21 τ ; 3 protons éthyléniques: 4,08 et 4,88 τ .