

LACTONES SESQUITERPENIQUES

DETERMINATION DE LA POSITION DU CYCLE LACTONIQUE DANS LE VERNOLIDE ET L'HYDROXYVERNOLIDE*

C. M. HO et R. TOUBIANA

Institut de Chimie des Substances Naturelles, C.N.R.S., 91 Gif-sur-Yvette

(Received in France 6 October 1969; Received in UK for publication 6 November 1969)

Résumé—L'étude des fragmentations en spectrométrie de masse du dérivé non cyclique **11a** obtenu par dégradation du vernolide a permis d'attribuer à ce dernier la formule **1a**.

Abstract—Studies on the mass spectral fragmentation of the non cyclic derivative **11a** obtained by degradation of vernolide lead to structure **1a** for the latter.

LE VERNOLIDE, $C_{19}H_{22}O_7$, F. 180–183°, isolé de *Vernonia colorata** (Composée) est un sesquiterpène du type germacranolide auquel l'une des deux formules **1a** ou **1b** doit être attribuée¹. Afin de préciser sa structure plane la position du cycle lactonique par rapport au macrocycle restait à déterminer.

Le choix entre les deux types de structure pouvait être envisagé en faisant appel à l'hydrogénéation catalytique du vernolide: l'existence d'un composé de formule plane **12†** impliquant l'hydrogénolyse de l'ester allylique‡ aurait permis d'opter pour la formule **1b**³.

Malgré une étude minutieuse des produits d'hydrogénéation du vernolide le composé **12** déjà obtenu³ n'a pu être mis en évidence.

Cet indice ne pouvant suffire à éliminer la structure **1b** nous avons eu recours à la spectrométrie de masse qui nous a permis de confirmer ces premières données et d'attribuer au vernolide la structure **1a**.

Afin d'obtenir une fragmentation caractéristique le dérivé "ouvert" **11a** a du être préparé.

Préparation du dérivé **11a**

La rupture du macrocycle conduisant à ce composé a été effectuée sur une molécule mono-insaturée ne comportant plus comme groupements fonctionnels que l'ester et la lactone dans leur position originelle. La suite de réactions de **1** à **11** nous a permis d'aboutir au dérivé "ouvert" **11a**.

* 3ème communication sur les lactones sesquiterpéniques à activité antitumorale. 2ème communication voir².

† Un deuxième composé cristallisé, l' "hydroxyvernolide", $C_{19}H_{22}O_8$, F. 150–153°,² a été isolé de *Vernonia colorata*. Ces deux substances ne différant que par la nature de l'ester l'exposé du travail est fait en se référant au vernolide.

‡ L'essai de mise en évidence de ce composé a été effectué par chromatographie en phase vapeur. Cette technique a permis l'étude des composés **2** et **3**.

§ L'hydrogénolyse d'un alcool allylique consécutive à l'ouverture de l'époxyde peut expliquer la présence du méthyle en C_4 .

Epoxy-alcool 4a. L'hydrogénéation catalytique du vernalide—Pt/CH₃COOH—permet par hydrogénolyse de l'hémiacétal d'isoler un produit majeur*: l'époxy-alcool **4a**,† C₁₉H₃₀O₆, F. 150–153°, [α]_D = –8°.

Le spectre IR de ce composé (nujol) révèle à 1760 cm^{–1} la bande de la γ-lactone, à 1725 cm^{–1} la bande de l'ester, et à 3390 cm^{–1} une large bande OH.

Le spectre de RMN de **4a** présente centré à 3.74 ppm et 4 ppm deux doublets (système AB) attribuables aux deux protons du groupement —CH₂—O—(J = 12 Hz) et qui apparaissent à 4.02 ppm et 4.56 ppm dans le spectre de l'acétate **4b**; deux protons

du type H—C—O—: H₈ (γ-lactone) et H₆ (ester isobutyrique)* apparaissent comme deux multiplets centrés à 5.2 ppm et 4.9 ppm. Le doublet du méthyle secondaire en II est visible à 1.32 ppm (J = 7 Hz). A 1.18 ppm (J = 7 Hz) on trouve le doublet caractéristique du groupement isopropyle de l'ester recouvrant en partie à 1.03 ppm le signal du méthyle en 10. Le spectre de RMN du même composé dans le diméthylsulfoxyde met en évidence à 5.2 ppm (recouvrant en partie le signal du proton H₉) un quadruplet légèrement dédoublé partie X d'un système ABX ($J_{AX} + J_{BX} = 12$ Hz) échangeable avec D₂O et témoignant de l'existence de l'alcool primaire.

Le spectre de masse de **4a** ne présente pas de pic moléculaire; on relève par contre des pics caractéristiques de la présence de l'ester: à *m/e* 266 (M – 88) perte de l'acide isobutyrique, à *m/e* 43 et *m/e* 71 les fragmentations correspondant aux coupures *a* et *b*.† La présence du CH₂OH est mise en évidence par un pic à *m/e* 235 (M – 88 – 31).

Aldéhyde α,β insaturé 6. Le traitement à chaud de l'époxy-alcool **4a** par l'acide perchlorique dans le dioxane aqueux fournit essentiellement l'aldéhyde α,β insaturé **6**, C₁₉H₂₈O₅, F. 144–146°, [α]_D = +50°, M⁺ 336, présentant à l'UV un maximum à 230 mμ (ε = 11.200, éthanol).

Dans le spectre IR on observe, en accord avec la présence de l'aldéhyde α,β insaturé les bandes à 1690, 2770, 2725 et 1640 cm^{–1}.

Le spectre de RMN de **6** ne montre plus le système AB du groupement —CH₂—OH, mais à 9.56 ppm on observe un doublet (J = 1 Hz) attribuable au proton aldéhydique* et à 6.60 ppm le quadruplet dédoublé du proton H₃ (J = 6 Hz, J = 11 Hz).

L'oxydation par le réactif de Jones de l'aldéhyde **6** conduit à l'acide α,β insaturé **7**, C₁₉H₂₈O₆, F. 207–208°.

L'étude de l'action de l'ozone sur le dérivé **7** n'a pas été poursuivie le mélange réactionnel obtenu étant trop complexe.

Composé insaturé 10. L'action sur l'aldéhyde α,β insaturé **6** de l'éthane dithiol à froid en présence d'éthérate de trifluorure de bore conduit au composé **8**, C₂₁H₃₂O₄S₂, F. 149–152°, [α]_D = +38°, M⁺ 412, dont le spectre de RMN ne montre plus le signal

* Au cours de l'hydrogénéation les autres composés suivants ont été isolés: **2**, C₁₉H₃₀O₄, eb. 138/0.3 mm, **3**, C₁₉H₃₂O₄, F. 112–114°, **5**, C₁₉H₂₈O₆, F. 140–143°.

† Le mélange d'épimères⁴ obtenu après chromatographie a été utilisé pour la réaction suivante sans cristallisation préalable. Il en a été ainsi pour toutes les étapes décrites.

* Chacun de ces signaux pourrait être attribué respectivement à l'un ou l'autre de ces protons vu la complexité du spectre.

† Dans les spectres de masse de tous les dérivés décrits la présence de l'ester isobutyrique se signale par des pics à M – 88, *m/e* 43, *m/e* 71 ces deux derniers étant particulièrement intenses (voir partie expérimentale).

du proton aldéhydique; on observe par contre à 5.3 ppm ($J = 1$ Hz) le doublet du



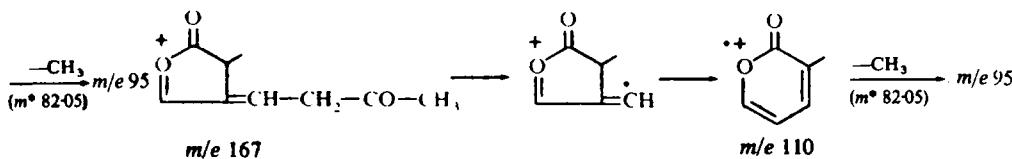
Les signaux des méthyles du groupement isopropyle apparaissent sous forme de deux doublets centrés à 1.24 ppm et 1.22 ppm ($J = 7$ Hz). L'action du Nickel de Raney W,⁶ à reflux dans l'acétone purifiée⁷ sur le thio-cétal **8** conduit au composé **10*** en mélange avec le produit saturé **9** dans les proportions de 60 à 40%.

Ester 11a. Le mélange résultant de la désulfurisation est directement ozonisé. Après traitement de l'ozonide par l'eau oxygénée on obtient un acide qui, après estérification au diazométhane, permet d'aboutir au dérivé "ouvert" **11a**, produit amorphe, mélanges d'isomères, $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_7$, eb. 135–138°/0.001 mm.

Dans le spectre de RMN de **11a** outre les signaux des méthyles déjà signalés ceux du groupement méthyl cétone et ester méthylique sont visibles à 2.2 ppm et 3.7 ppm respectivement. Le spectre de masse ne présente pas de pic moléculaire, mais deux pics l'un à m/e 353 ($M - 31$) et l'autre à m/e 296 ($M - 88$). Ce dernier qui témoigne de la perte de l'ester isobutyrique est suivi par deux pics à m/e 264 et à m/e 220 dus aux pertes successives de CH_3OH et CO_2 .

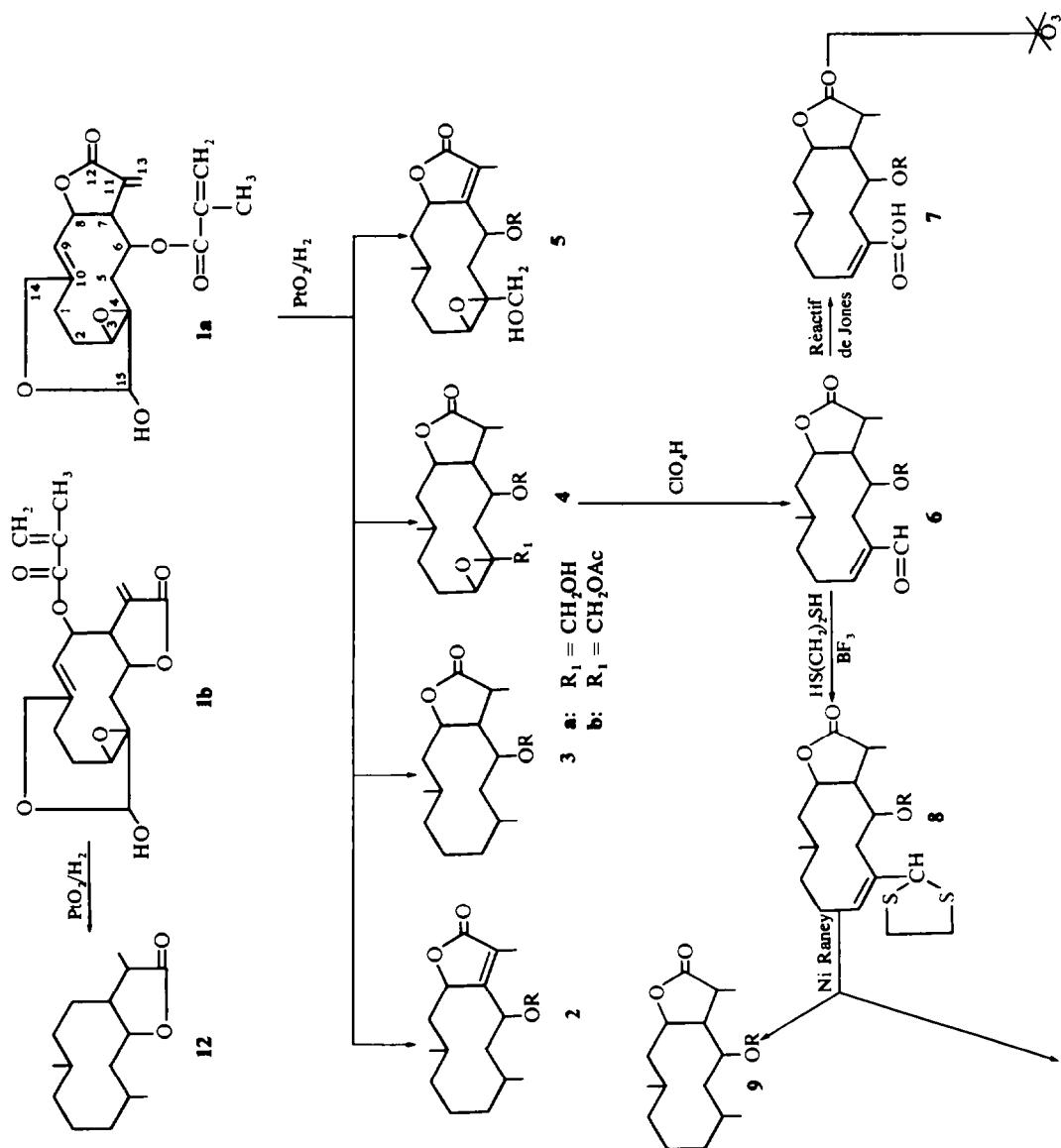
Un pic important à m/e 167 attribuable à l'ion A témoigne de la rupture attendue en α de l'hétéroatome⁸ après la perte de l'ester isobutyrique.

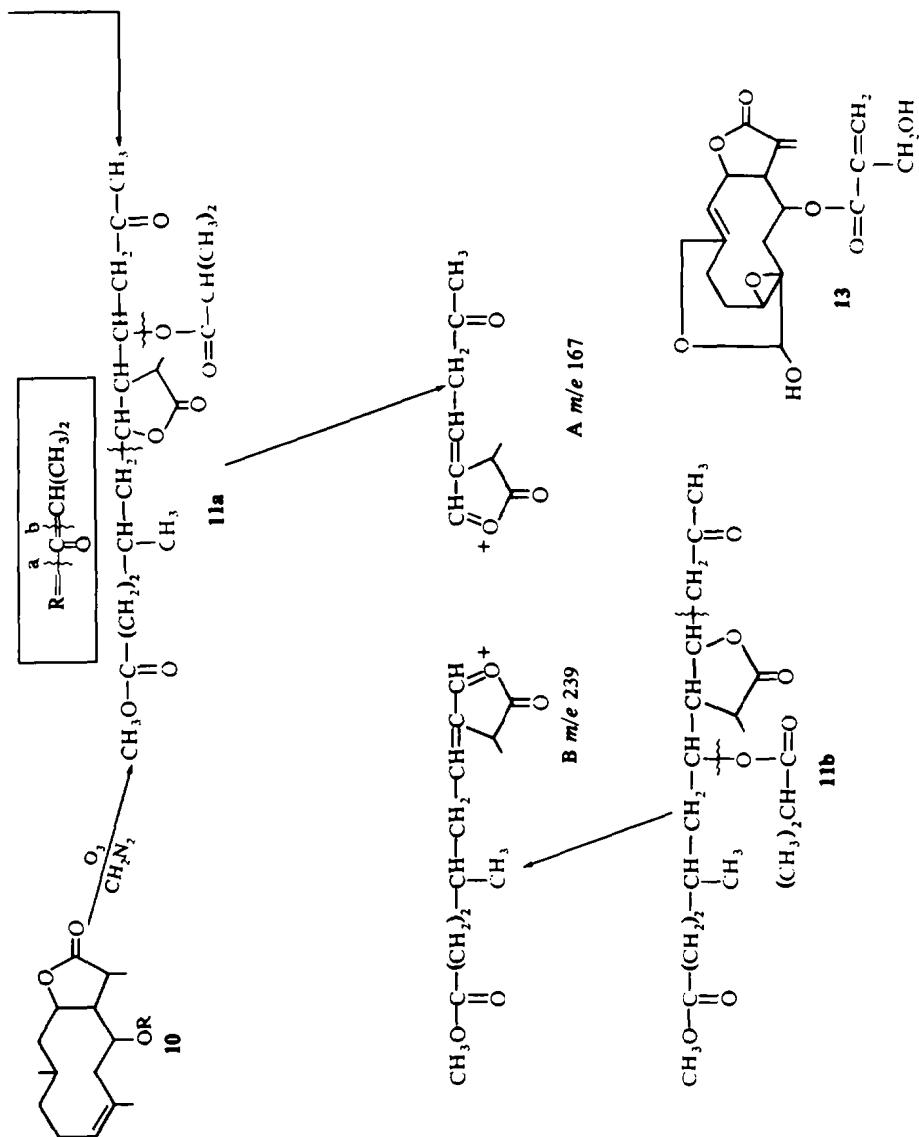
(Une rupture similaire sur le dérivé "ouvert" **11b** correspondant à la formule **1b** aurait fourni l'ion B, m/e 239. On n'observe pas de pic caractéristique ayant cette valeur de masse sur le spectre du dérivé "ouvert" **11a**.) Deux autres pics assez intenses sont observables à m/e 110 et m/e 95 dont le mécanisme de formation est suggéré par le schéma ci-dessous:



Ces résultats confirment que le vernolide et l'hydroxyvernolide sont des lactones sesquiterpéniques de type germacranolide et permettent de leur attribuer les formules **1a** et **13** respectivement.

* Ce dernier composé a été isolé par chromatographie préparative en phase vapeur (voir partie expérimentale).





PARTIE EXPERIMENTALE

Tous les points de fusion de ce travail pris avec l'appareil de Kofler sont corrigés. les spectres UV ont été mesurés avec un spectrophotomètre Perkin-Elmer 202, et les spectres IR ont été mesurés soit à l'aide d'un appareil Perkin-Elmer 257 soit avec un appareil Unicam. Les pouvoirs rotatoires ont été déterminés à l'aide d'un polarimètre électronique Roussel-Jouan. Les spectres de masse ont été mesurés sur un spectrographe MS 9. Les analyses ont été effectuées dans le laboratoire de microanalyse du C.N.R.S. à Gif-sur-Yvette. Les spectres de RMN ont été mesurés avec un spectromètre Varian A-60, en utilisant du CDCl_3 , comme solvant. Les déplacements chimiques δ comptés à partir de la raie du tétraméthylsilane prise comme zéro de référence sont exprimés en ppm.*

Les séparations chromatographiques sur colonne ont été exécutées sur gel de silice (0.08 mm, Merck) en mélange avec de la célite (1 : 1). L'éluant est le chloroforme progressivement enrichi de méthanol. Les chromatographies en couche mince ont été exécutées sur gel de silice G, le solvant employé étant un mélange variable d'hexane-acétate d'éthyle. Les chromatographies en phase gazeuse ont été effectuées sur un chromatographe type CG, à ionisation de flamme (Etablissement Profit, Paris) (colonne O.V. 17 à 10%, longueur 2m, ϕ 4 mm, Gaz chrom. Q, 110-120 mesh, température 225°, débit d'azote: 40 cm³/minute).

Epoxy-alcool 4a. 1 g de vernolide est dissous dans 40 cm³ d'acide acétique Merck et agité sous atmosphère d'hydrogène en présence de 1 g de PtO₂ à température et à pression ambiante pendant 12 hr. environ. 600 cm³ d'hydrogène sont absorbés (absorption théorique pour 2 doubles liaisons 120 cm³). Après filtration de la solution, l'acide acétique est éliminé sous vide. La solution chloroformique du produit d'hydrogénéation est lavée au CO_2HNa , ramenée à neutralité et séchée. Le solvant est éliminé et le mélange réactionnel est chromatographié sur 100 g d'adsorbant, éluations de 100 cm³. Les fractions 19 à 24 élues par le mélange CHCl_3 -MeOH (99.5-0.5) sont réunies (350 mg) ($R^{\#}$ 35%). Après cristallisation dans le benzène l'époxy-alcool 4a fond à 150-153°, $[\alpha]_D = -8^\circ$ ($c = 1$, CHCl_3). Spectre de masse: pas de pic moléculaire, m/e 266 (M - 88, 1.8%) 235 (M - 88 - 31, 24.5%) 71 (50%), 43 (100%). (Trouvé: C, 64.43; H, 8.66; $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_6$; Exigé: C, 64.38; H, 8.53%).

Epoxy-acétate 4b. 100 mg d'époxy-alcool 4a sont dissous dans 8 cm³ de pyridine; 8 cm³ d'anhydride acétique sont ajoutés et on abandonne la nuit à température ambiante. Le produit est isolé de manière habituelle, purifié par chromatographie et cristallisé dans le mélange chloroforme-oxyde-d'isopropyle; F. 126-129°, $[\alpha]_D = -39^\circ$ ($c = 1$, CHCl_3). IR (CHCl_3) 1240, 1747, 1774 cm⁻¹; RMN: δ 1.18 d [2(CH_2)—CH, $J = 7$ Hz] 1.32 d (CH_2 —C₁, $J = 7$ Hz) 2.18 s (CH_2 —acétate) 4.02 et 4.56 deux d (AB) (—CH₂OAc, $J = 12$ Hz) 4.68 m (H_2) 5.1 m (H_3). Spectre de masse: pas de pic moléculaire, m/e 308 (M - 88, 0.4%) 248 (M - 88 - 60.1%) 235 (M - 88 - 73, 2.7%) 71 (52%) 43 (100%). (Trouvé: C, 63.69; H, 8.11; $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_6$; exigé: C, 63.61; H, 8.14%).

Aldéhyde α,β insaturé 6. 100 mg d'époxy-alcool 4a sont dissous dans 2.5 cm³ de dioxane; 0.5 cm³ d'eau et 0.9 cm³ d'acide perchlorique à 65% sont ajoutés et le mélange réactionnel est chauffé à 70° pendant 1 hr. Le produit est isolé de manière habituelle et purifié par chromatographie. 170 mg de mélange sont chromatographiés sur 40 g d'adsorbant; éluations de 25 cm³; la quatrième fraction (83 mg R $^{\#}$ 43%) est cristallisée dans le mélange chloroforme-oxyde d'isopropyle, F. 144-146°, $[\alpha]_D = +50^\circ$ ($c = 1$, CHCl_3); UV λ_{max} 230 mg ($\varepsilon = 11,200$ éthanol); IR (Nujol) 1640, 1690, 1730, 1775, 2725, 2770 cm⁻¹. RMN: δ 1.2 et 1.15 deux d [2(CH_2)—CH, $J = 7$ Hz] 1.30 d (CH_2 —C₁, $J = 7$ Hz) 4.7 m (H_2) 4.8 m (H_3) 6.65 q.d. (H_3 , $J = 6$ Hz $J = 11$ Hz, $J = 1$ Hz).

Spectre de masse: m/e 336 (M' 11.1%) 293 (M - 43, 8.5%) 248 (M - 88, 4.1%) 71 (100%) 43 (75%). (Trouvé: C, 67.99; H, 8.33; $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_5$, exigé: C, 67.83; H, 8.39%).

Acide α,β insaturé 7. 25 mg du composé 6 sont dissous dans 0.3 cm³ d'acétone distillée sur anhydride chromique. On y ajoute 10 gouttes du réactif de Jones⁹ et on abandonne 2 hr à la température ambiante. Après traitement habituel et purification par chromatographie, l'acide 7 est cristallisé dans le mélange chloroforme-oxyde-d'isopropyle. F. 207-208°; IR (CHCl_3) 1640, 1710, 1720, 1770 cm⁻¹. Spectre de masse: pas de pic moléculaire, m/e 264 (M - 88, 36%) 218 (M - 88 - 46, 5.3%) 71 (80.7%) 43 (100%). Cet acide (27 mg) a été soumis à l'ozonolyse à température ambiante en solution dans 3cm³ de chlorure de méthylène additionné de 2 gouttes de pyridine. Le Produit réactionnel se présentant sur couche mince comme un mélange trop complexe cette étude n'a pas été poursuivie.

Dérivé dithio-cétal 8. 130 mg d'aldéhyde 6 sont dissous dans 12 cm³ d'éther anhydre; 1.6 cm³

* Nous remercions Madame Alais pour le soin porté à l'exécution des spectres de RMN.

d'éthérate de trifluorure de bore et 1·6 cm³ d'éthane dithiol sont ajoutés et le mélange réactionnel est abandonné pendant 5 h. à température ambiante; le produit est isolé de manière habituelle et purifié par chromatographie. La réaction est répétée dans les mêmes conditions et 256 mg du mélange sont chromatographiés sur 60 g d'adsorbant. Les fractions 10, 11, 12, 13 sont réunies (157 mg) une chromatographie ultérieure des fractions 9, 11, 14 et 15 (100 mg) fournit à nouveau 46 mg (R_{α} 63%). Le produit est cristallisé dans l'hexane, F. 149–152°, $[\alpha]_D = +38^\circ$ ($c = 1$, CHCl₃); IR (Nujol) 1728, 1775 cm⁻¹; RMN: δ 4·7 m (H₃) 5·12 m (H₃) 6·2 q (H₃, $J = 6$ Hz $J = 11$ Hz).

Spectre de masse: m/e 412 (M⁺ 0·38%) 341 (M –71, 8·6%) 324 (M –88, 48%) 105 (51·5%) 71 (42·7%) 43 (100%). (Trouvé; S, 15·77; C₂₁H₃₂O₄S₂; exigé; S, 15·55%).

Désulfurisation par le Nickel de Raney; Composé insaturé **10**. 20 mg de composé **8** sont dissous dans 3 cm³ d'alcool à 95°; 300 mg de nickel de Raney vieux de 10 mois préparé selon (**10**) y sont ajoutés. Au bout de 3 hr. de chauffage à reflux le mélange des composés **9** et **10** (13 mg) est récupéré après passage sur colonne de cérite. Les mêmes résultats sont obtenus à partir de nickel de Raney W₄ fraîchement préparé utilisé dans l'acétone. Par chromatographie en phase gazeuse le composé **10** est isolé (temps de rétention 59 minutes, temps de rétention du composé saturé 50 minutes); RMN: δ 1·82 s élargi (CH₃—C₄=CH), 1·18 d [CH₃CH, $J = 7$ Hz], 1·15 d (CH₃—C₁₁, $J = 7$ Hz) 0·98 d (CH₃—C₁₀, $J = 6$ Hz), 4·72 m (H₈) 5·02 m (H₃) 5·25 m (H₃). Spectre de masse: m/e 322 (M⁺, 1·6%) 279 (M –43, 2·5%) 234 (M –88, 29·4%) 71 (100%) 43 (100%).

Ester 11a. Le mélange des composés **9** et **10** (24 mg) est ozonisé dans 4 cm³ d'acétate d'éthyle à –40°. Une fois la solution saturée d'ozone (apparition d'une couleur bleue) la réaction est arrêtée. Une demi-heure après le solvant est éliminé à froid et sous vide. Le produit dissous dans 0·5 cm³ d'acide acétique est additionné de 4 gouttes d'eau oxygénée et abandonné à température ambiante pour la nuit. Au cours de l'extraction on isole une partie neutre (14 mg) et une partie acide (10 mg). Cette dernière est estérifiée au diazométhane puis chromatographiée. 5 g de gel de silice Davison 100/200 ont été utilisés; élutions de 1 cm³, les fractions 115 à 160 sont reunies (6 mg) eb. 135–138°/0·001 mm; IR (CHCl₃) 1740, 1775 cm⁻¹ (bande plus faible); RMN: δ 3·70 s (R—O—C—CH₃) 2·2 s (CH₃—C—R) 5·45 m (H₈) 4·40 m (H₃).



Spectre de masse: m/e 353 (0·67%) 296 (11·6%) 264 (18%) 220 (21·6%) 181 (12%) 167 (34·1%) 110 (40%) 95 (68%) 71 (100%) 43 (100%).

Remerciements—Nous remercions M. le Professeur E. Lederer et Mme. J. Polonsky pour l'intérêt porté à ce travail, ainsi que M. le Docteur B.C. Das pour ses conseils et ses suggestions. Nous remercions MM. Halle et Debray ainsi que la direction de l'O.R.S.T.O.M. pour les envois de plantes.

REFERENCES

- 1 R. Toubiana et A. Gaudemer, *Tetrahedron Letters* No. **14**, 1333 (1967).
- 2 R. Toubiana, *C. R. Acad. Sc. Paris* **268**, 82 (1969).
- 3 M. Suchy, Z. Samek, V. Herout et F. Sorm, *Coll. Czech. Chem. Commun.* **33**, 2238 (1968).
- 4 S. B. Mathur, G. H. Kulkarni, G. R. Kelkar et S. C. Bhattacharyya, *Tetrahedron* **20**, 2903 (1964).
- 5 D. R. Davis, R. P. Lutz, J. D. Roberts, *J. Am. Chem. Soc.* **83**, 246 (1961).
- 6 Robert L. Augustine, *Catalytic Hydrogenation—Techniques and applications in Organic Synthesis* p. 147. Dekker, N.Y. (1965).
- 7 Weygand—Hilgetag, *Organisch-Chemische Experimentierkunst* p. 80. 3. Auflage. Barth Verlag, Leipzig (1964).
- 8 H. Immer, J. Polonsky, R. Toubiana et Ho Dac An, *Tetrahedron* **21**, 2117 (1965).
- 9 K. Bowden, I. M. Heilbron, E. R. H. Jones et B. C. L. Weedon, *J. Chem. Soc.* **39** (1946).
- 10 A. I. Vogel, *Practical Organic Chemistry* p. 870 Longmans, (1959).