

CONFIGURATION DU SUBLUTEOLIDE: NOUVEAU GUAIANOLIDE ISOLE DU VERNONIA SUBLUTEA SCOTT ELLIOT (COMPOSEES)

B. MOMPON et R. TOUBIANA*

Institut de Chimie des Substances Naturelles, C.N.R.S., 91190 Gif-sur-Yvette, France

(Received in France 7 September 1976; received in the UK for publication 16 March 1977)

Abstract—A novel guianolide, subluteolide 1 has been isolated from the leaves of *Vernonia sublutea* Scott Elliot and its structure established by chemical transformations, and NMR analysis using the lanthanide shift reagent Eu(fod)₃ and NOE experiments.

Dans une publication précédente¹ nous avons rapporté l'isolement à partir du *Vernonia sublutea* Scott Elliot (originaire de Madagascar, région de Fort-Dauphin), d'un guianolide nouveau, le sublutéolide. Dans le présent travail nous précisons la structure de ce produit et nous décrivons sa configuration.

RESULTATS ET DISCUSSION

La structure plane du sublutéolide 1, $C_{19}H_{22}O_7$, amorphe $[\alpha]_D^{25} +54^\circ$ (c 0.9; chloroforme) a été décrite. Il restait à préciser la position relative de la lactone et de l'ester et la configuration de cette substance. Pour cela, une série de dégradations chimiques, l'étude des déplacements chimiques induits en présence de chélate de terre rare et quelques expériences d'effets Overhauser nucléaires ont été nécessaires.

Données chimiques: Configuration relative de l'alcool secondaire et de l'époxyde spiro. L'action du méthanol chlorhydrique sur le sublutéolide 1, fournit après purification la dichlorhydrine 2 (rendement 80%) amorphe, $C_{19}H_{24}O_7Cl_2$, $[\alpha]_D^{25} +57^\circ$ (c 0.83; chloroforme). Son spectre de RMN ne montre plus les deux paires de doublets des deux groupements spiroépoxydes centrées à 2.84 et 3.20 (système AB, $J = 6$ Hz) 3.08 et 3.32 (système

AB, $J = 4.5$ Hz); on observe par contre les deux paires de doublets précités à 4.00 et 4.38 (système AB, $J = 12$ Hz) et à 3.68 et 3.83 (système AB, $J = 11$ Hz).²

L'acétylation par l'anhydride acétique dans la pyridine livre le monoacétyl-subluteolide 3, $C_{21}H_{24}O_8$, amorphe, $[\alpha]_D^{25} +56^\circ$ (c 0.66; chloroforme); $M^+ = 404$, dont le spectre infrarouge est dépourvu de bande hydroxyle. Son spectre de RMN présente un multiplet (1 H) à 5.03 (signal situé à 4.00 dans le spectre de RMN du subluteolide 1) et à 2.12 le singulet (3 H) du méthyle de l'acétate.

La chromatographie sur colonne de gel de silice du composé 3 donne un dérivé plus polaire 4: $C_{21}H_{26}O_9$, F 122-125°, $[\alpha]_D^{25} +24^\circ$ (c 0.5; chloroforme) (rendement 78%) impliquant un réarrangement lors de sa purification. Le spectre de masse montre le pic moléculaire à $m/e = 422$ indiquant la présence d'un oxygène et de deux hydrogènes supplémentaires. La nature inchangée de l'ester est mise en évidence par les pics de fragmentation à $m/e = 57$ et 320 (M-120); trois autres pics à $m/e = 302$ (M-102-18), $m/e = 260$ (M-102-60), 242 (M-102-60-18) sont présents et suggestent la présence d'un acétate et d'une fonction alcool dans ce produit. Ces indications sont précisées par l'étude du spectre de RMN¹ qui confirme par un singulet (3 H à 2.17) l'existence d'un groupement acétyle. D'autre part, un important dépla-

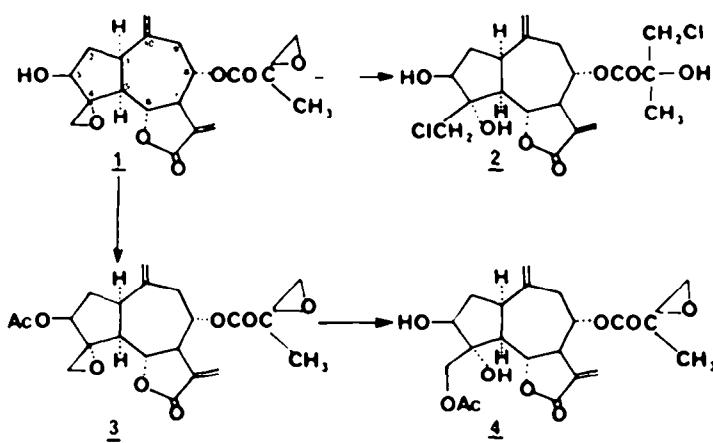


Fig. 1.

lacement paramagnétique des signaux d'un des systèmes AB peut être constaté: de 3.08 et 3.32 ($J = 4.5$ Hz) dans le spectre du produit originel à 4.35 et 4.13 ($J = 11$ Hz) dans celui du nouveau produit. Le proton de type H-C-OAc, présent dans le spectre de l'acétyl-sublutolide 3 à 5.03 ppm se retrouve à 3.87 ppm (ddd, 10; 8; 7.5) et apparaît après deutérialion comme un dd(10; 8).

Deux groupements—l'acétate et l'époxyde spiro—semblent donc affectés par un réarrangement catalysé sans doute par l'acidité du gel de silice.

Un réarrangement rapporté dans la littérature peut justifier de l'obtention de ce produit 4, l'ouverture des époxydes avec participation d'un groupe acétate voisin étant une réaction connue, notamment utilisée pour l'introduction stéréosélective de substituant en position 4 dans les stéroïdes.⁴

Par analogie, le même mécanisme peut être invoqué dans le cas du sublutolide 1. Il confirme la vicinalité de l'alcool secondaire et de l'époxyde spiro et implique une disposition relative *trans* de ces deux fonctions⁵.

Positions respectives de la γ -lactone et de l'ester. Compte tenu des quantités limitées de sublutolide et du caractère amorphe de ce dernier, aucune corrélation chimique, ni étude cristallographique, n'ont pu être entreprises. Nous avons donc eu recours exclusivement aux données de la RMN et du dichroïsme circulaire.

Les valeurs fortes observées pour les constantes de couplage des protons vicinaux H-5, H-6, H-7 et H-8 ($J_{5,6} = 11$ Hz; $J_{6,7} = J_{7,8} = 9$ Hz) sont en faveur d'une disposition *trans* diaxiale de ces protons entre eux.⁶

La courbe de dichroïsme circulaire présente un effet Cotton négatif à 264 nm ($\Delta\epsilon = -0.33$) en faveur d'une jonction *trans* sur le carbone 6 de la γ -lactone.⁷

Des expériences d'effet Overhauser (cf. Partie Expérimentale) confirment ces attributions et précisent la conformation générale de la molécule: l'irradiation de H-6 (dd à 4.62) provoque une augmentation des signaux de H-8 (ddd à 5.04) et de H-9 (dd à 2.80) de 6 et 14% respectivement.⁸

Configuration relative des protons H-2, H-2' et H-3. L'étude des déplacements chimiques induits en présence d'Eu(fod), a été appliquée afin d'obtenir des informations sur la configuration de la molécule au voisinage de la fonction alcool.^{10,11}

La Fig. 2 donne en ordonnée les déplacements chimiques induits de chaque proton et en abscisse la somme des déplacements chimiques induits pour chaque concentration en chélate.¹²

Les fortes valeurs observées pour les déplacements paramagnétiques des protons H-15, H-15', H-18, H-18' et H-3 traduisent la présence de plusieurs sites de complexation; à la fois au niveau des époxydes spiro¹³ et de l'alcool,¹⁴ ce qui exclut toute interprétation quantitative des différents déplacements induits.¹⁵

Cependant, on peut relier la différence relative des déplacements induits de H-2 (ddd à 1.86) et H-2' (ddd à 2.48) à leurs positions relatives vis-à-vis de l'OH en 3; H-2 qui subit le plus important déplacement paramagnétique devant se trouver plus près de l'OH que H-2'.

Configuration du carbone 1 et conformation générale de la molécule. Quelques expériences d'effet Overhauser nucléairés ont permis de relier entre eux tous les élé-

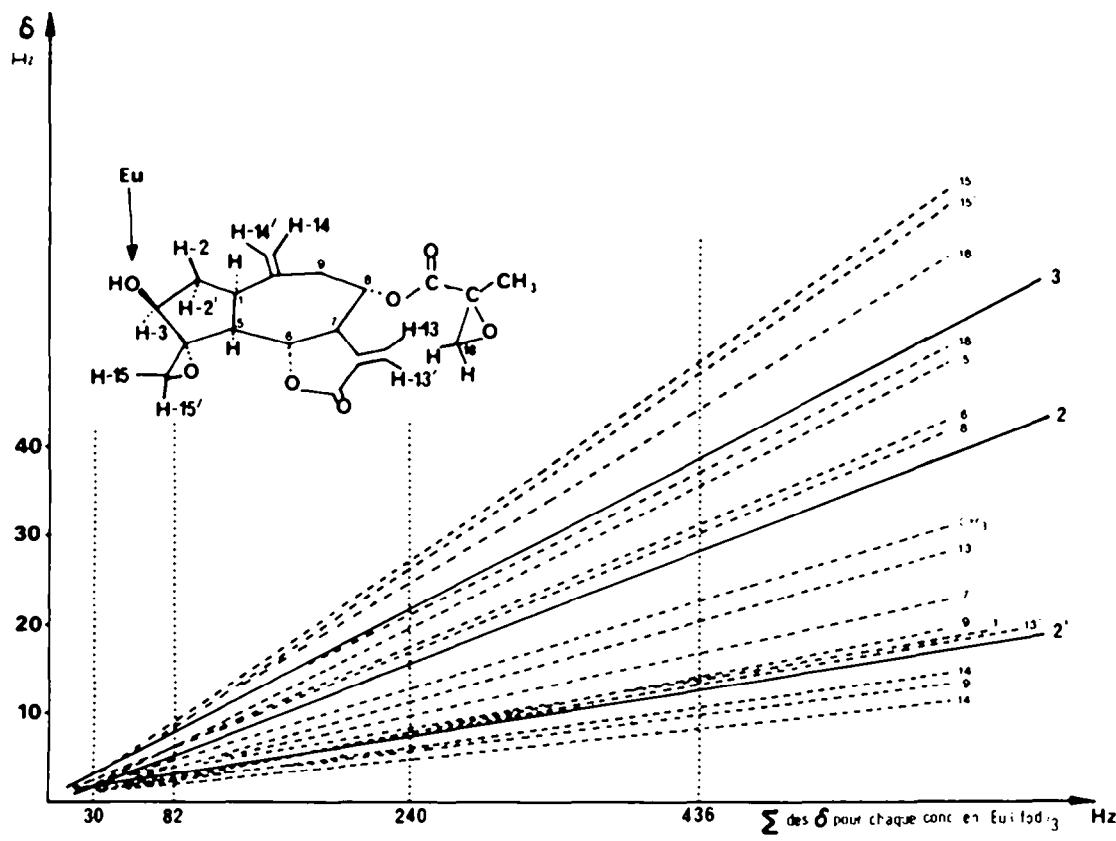


FIG. 2

ments de stéréochimie déterminés plus haut et conduisent à proposer pour le subluteolide la configuration relative suivante (Fig. 3):

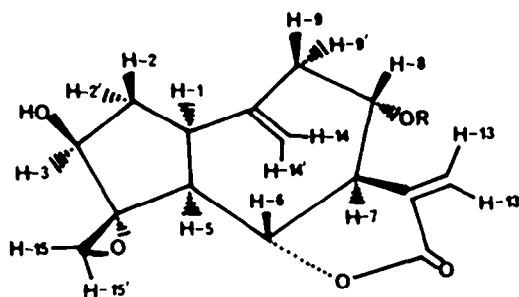


Fig. 3.

Les résultats de ces expériences (Tableau 1) déterminent pour H-2', H-1, H-5, H-7 et H-14' une orientation commune; de manière analogue, H-6, H-8 et H-9 se trouvent disposés sur l'autre face de la molécule. On en déduit la disposition *cis* des deux cycles avec H-1 et H-5 en position α , la disposition relative des protons H-2 et H-2' vis-à-vis de H-1 (l'irradiation de H-1 (m à 3.40) entraînant une augmentation de 10% de l'intensité du signal de H-2' (ddd à 2.48) et de 0% du signal de H-2 (ddd à 1.86), et la disposition *trans* diaxiale des protons H-8, H-7, H-6 et H-5 entre eux est de plus confirmée.

Les effets Overhauser du proton H-1 (m à 3.40) sur le proton H-14' (s élargi à 5.19) et du proton H-6 sur le proton H-9 (dd à 2.80) précisent la conformation générale de la molécule.

On note que la constante de couplage ($J_{1,14'}$, 9 Hz) est en accord avec ce qui est signalé dans la littérature;¹⁶ cependant, sa valeur ne permettait pas de prévoir la fusion *cis* ou *trans* des deux cycles, la constante de couplage $J_{1,6,5}$ n'étant que légèrement supérieure, de l'ordre de 10 à 12 Hz.¹⁷

Les plantes du genre *Veronica* (Composées) n'ont, jusqu'à présent, fourni que des lactones sesquiterpéniques de type germacrane et élémane.¹⁸ Au-delà de l'intérêt intrinsèque d'une nouvelle structure, l'isolement de ce guianolide 1 introduit un élément intéressant quant au degré d'évolution de ce genre.¹⁹

PARTIE EXPERIMENTALE

Tous les points de fusion sont corrigés. Les analyses ont été effectuées dans le laboratoire de microanalyse du CNRS à Gif-sur-Yvette. Les spectres de masse ont été effectués sur un spectrographe de masse AEI MS9 et les spectres de RMN ont été

mesurés dans (CDCl_3 , à l'aide des spectromètres Varian HA60 (60 MHz) et IEF 240 (240 MHz).²⁰ Les déplacements chimiques δ sont comptés à partir de la raie du tétraméthylsilane et sont exprimés en partie par million (ppm). Les constantes de couplage J sont données en Hertz (Hz), s = singulet; d = doublet; t = triplet; m = multiplet.

Les couplages et les effets Overhauser ont été enregistrés en transformée de Fourier, sur IEF 240 (Orsay) par spectrométrie différentielle.²¹

La méthode consiste à effectuer dans la mémoire du calculateur associé au spectromètre la différence entre deux spectres obtenus dans des conditions différentes. Quand on effectue la différence entre un spectre de référence et un spectre obtenu en présence d'une double irradiation sélective, seules subsistent la raie irradiée puisqu'elle est saturée la moitié du temps et toutes les raies qui lui sont couplées et qui ont vu leur allure se modifier durant l'irradiation (Fig. 4).

Cette technique permet de repérer rapidement les couplages entre protons, même dans le cas où des résonances sont superposées et de mettre en évidence des effets Overhauser par intégration du spectre de différence, la mesure étant faite en prenant comme référence d'intensité l'intensité du pic irradié (100% pour proton, 300% pour un CH_3).

Pour pouvoir mesurer les effets Overhauser sans être gêné par les effets de découplage, le second champ de radiofréquence est appliqué en temps partagé ("gated decoupling"); ainsi, au moment de l'enregistrement, seuls subsistent les effets Overhauser, alors que les couplages sont rétablis.

La solution utilisée contient 5 mg de subluteolide dans 0.5 ml de (CDCl_3); elle est dégazée et conservée en tube scellé.

Isolation du subluteolide 1. 500 g de feuilles broyées de *Veronica sublutea* Scott Elliot sont délipidées à l'éther de pétrole puis extraites au chloroforme de manière habituelle.¹¹ L'extrait est débarrassé de la chlorophylle par l'emploi de charbon végétal puis chromatographié sur colonne de gel de silice Davison.

Subluteolide 1. Amorphe. $[\alpha]_{D}^{20} -54^\circ$ (c 0.9, chloroforme): UV λ_{max} 213 nm (e = 9600, Ethanol); IR (chloroforme) 3600, 3450, 1765, 1740, 1660 et 1640 cm⁻¹; RMN (CDCl_3 , 240 MHz): H-1 3.40 m, H-2 1.86 ddd, (14; 4.5; 9.5), H-2' 2.48 ddd, (7; 9; 14), H-3 4.00 dd, (4.5; 7), H-5 2.08 dd, (11; 9), H-6 4.62 dd, (11; 9), H-7 3.12 m, H-8 5.04 ddd, (10; 3; 5), H-9 2.34 dd, (14; 3), H-9' 2.80 dd, (14; 5), H-13 5.72 d, (3), H-13' 6.25 d, (3.5), H-14 4.96 s, élargi, H-14' 5.19 s, élargi, H-15 3.08 d, (4.5), H-15' 3.34 d, (4.5), H-18 2.84 d, (6), H-18' 3.20 d, (6). CH_3 19.164 s; Spectre de masse: absence de pic moléculaire, m/e 331 (M-31; 20%), 260 (M-102; 26%), 242 (M-102-18; 6%) et 57 (100%). Spectre de dichroïsme circulaire: $\Delta\epsilon_{22,000} = 6.52$ et $\Delta\epsilon_{35,000} = -0.33$ (méthanol) (Calc. pour $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_2$: C 62.97; H 6.12. Trouvé: C 62.84; H 5.81%).

Dichlorhydrine 2. 33 mg de subluteolide 1 sont dissous dans 2.5 ml de méthanol anhydre. Après barbotage d'acide chlorhydrique gazeux pendant 5 min, le mélange réactionnel est abandonné pendant 30 min à température ambiante. Le solvant est évaporé et le résidu est extrait par le chloroforme de manière habituelle. Le produit obtenu (40 mg) est chromatographié sur une colonne de 8 g confectionnée dans le chloroforme. Les

Tableau 1. Tableau des effets Overhauser nucléaires

Protons saturés	Protons perturbés	Effet Overhauser %
H-6 (4,62)	H-8 (5,04) H-9 (2,80)	6% 14%
H-5 (2,08)	H-1 (3,40) H-7 (3,12)	11% 13%
H-1 H-15' (3,40)	H-2' (2,48) H-5 (2,08) H-14' (5,19)	10% 20% 5%

fractions 22-25, éluées par le mélange chloroforme/méthanol (98.9/1.1) livrent 32 mg de la dichlorhydrine 2 (rendement - 80%): amorphe, $[\alpha]_D^{25} +57^\circ$ (c 0.83; chloroforme); UV λ_{max} 212 nm ($\epsilon = 7000$, Ethanol); IR (chloroforme) 3500, 1780-1735, 1665, 1645 et 760 cm^{-1} ; RMN ($\text{CDCl}_3 + \text{D}_2\text{O}$, 240 MHz) H-1 3.63 m., H-3 4.20 d. élargi (7), H-5 2.35 t. (11), H-6 4.87 dd. (9; 11), H-7 3.17 tt. (9; 3.5), H-8 5.22 m., H-9 2.50 dd. (13; 1), H-9' 2.70 dd. (13; 4.5), H-13 5.90 d. (3.5), H-13' 6.32 d. (3.5), H-14 4.87 s. élargi, H-14' 5.20 s. élargi, CH_3Cl . Spectre de masse: absence de pic moléculaire, m/e 400 et 398 (M-HCl; 6 et 8%); 298 et 296 (M-138; 34 et 28%); 280 et 278 (M-138-18; 20 et 16%); 93 et 91 (100 et 80%); (Calc. pour $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_2\text{Cl}$; C 52.45; H 5.54. Trouvé: C 52.24; H 5.62%).

Acetylsublutéolide 3. 60 mg de sublutéolide 1 sont dissous dans 1 ml de pyridine; 1 ml d'anhydride acétique est ajouté et on abandonne 16 h. à température ambiante. Après extraction de manière habituelle, on obtient 43 mg d'acetylsublutéolide 3 (rendement - 65%): amorphe, $[\alpha]_D^{25} +56^\circ$ (c 0.66; chloroforme); UV λ_{max} 213 nm ($\epsilon = 7800$, éthanol); IR (chloroforme) 1775, 1740, 1660, 1640 et 1240 cm^{-1} ; RMN (CDCl_3 , 240 MHz) H-1 3.45 ddd. (9.5; 9; 9), H-2 1.87 ddd. (9.5; 14; 4.5), H-2' 2.65 ddd. (9; 14; 7), H-3 5.03 m., H-5 2.08 m., H-6 4.47 dd. (12; 9), H-7 3.12 m., H-8 5.12 m., H-9 2.46 dd. (14; 2), H-9' 2.75 dd. (14; 5.5), H-13 5.83 d. (3.5), H-13' 6.35 d. (4), H-14 5.03 s. élargi, H-14' 5.28 s. élargi, H-15 3.08 d. (4.5), H-15' 3.37 d. (4.5), H-18 2.90 d. (6), H-18' 3.23 d. (6) CH_3 ; 19 1.66 s. élargi, CH_3COO 2.12 S; Spectre de masse: $m/e = 404$ (M^+ ; 12%); 362 (M-42); 6%; 344 (M-60; 8%); 302 (M-102; 12%); 260 (M-102-60; 30%); 242 (M-102-60-18; 28%) et 57 (100%); (Calc. pour $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_6$ C 59.71; H 6.20. Trouvé: C 59.82; H 6.58).

Dérivé 4. 40 mg d'acetylsublutéolide 3 sont chromatographiés sur une colonne de 8 g de gel de silice Davison confectionnée

dans l'hexane. Les fractions 43 et 44, éluées par le mélange chloroforme/méthanol (99/1), fournissent 32 mg du dérivé réarrangé 4 (rendement - 78%): F 122-125° (chloroforme), $[\alpha]_D^{25} +424^\circ$ (c = 0.5; chloroforme), UV λ_{max} 211 nm ($\epsilon = 7400$, éthanol); IR (chloroforme) 3550, 1785, 1740, 1640, 1240 cm^{-1} ; RMN (CDCl_3 , 240 MHz) H-3 3.87 ddd. (10; 8; 7.5) dd. (10; 8) après deutérialisation, H-5 2.41 t. (11), H-6 4.42 dd. (11; 9), H-7 3.12 m., H-8 4.87 m., H-9' 2.88 dd. (14; 5), H-13 5.87 d. (3), H-13' 6.27 d. (3.5), H-14, 5.08 s. élargi, H-14' 5.16 s. élargi, H-15 4.13 d. (11), H-15' 4.35 d. (11), H-18 2.84 d. (6), H-18' 3.16 d. (6) CH_3 ; 19 1.60 s. élargi, CH_3COO 2.17 s. OH 2.77 d. (7.5) 3.00 s. (disparuissant par deutérialisation); Spectre de masse $m/e = 422$ (M^+ ; 4%); 404 (M-18; 10%); 391 (M-31; 13%); 380 (M-42; 8%); 362 (M-60; 6%); 349 (M-42-31; 8%); 344 (M-60-18; 12%); 320 (M-102; 27%); 302 (M-102-18; 12%); 260 (M-102-60; 30%); 242 (M-102-60-18; 28%) et 57 (100%); (Calc. pour $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_6$ C 59.71; H 6.20. Trouvé: C 59.82; H 6.58).

Remerciements—Nous remercions M. le Professeur E. Lederer pour l'intérêt porté à ce travail, M. P. Boiteau qui nous a permis d'obtenir les plantes et les a identifiées, MM. S. Kan et P. Gonord de nous avoir confié leur prototype I.E.F. 240 (Institut d'Electronique Fondamentale, Orsay) et M. G. Massiot de nous avoir initié au fonctionnement de cet appareil.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹B. Mompon, G. Massiot et R. Toubiana, *C.R. Acad. Sci., Paris, Série C* **279**, 907 (1974).
²A. G. Gonzalez, J. Bermejo, J. L. Breton et J. Triana, *Tetrahedron Letters* 2017 (1972).

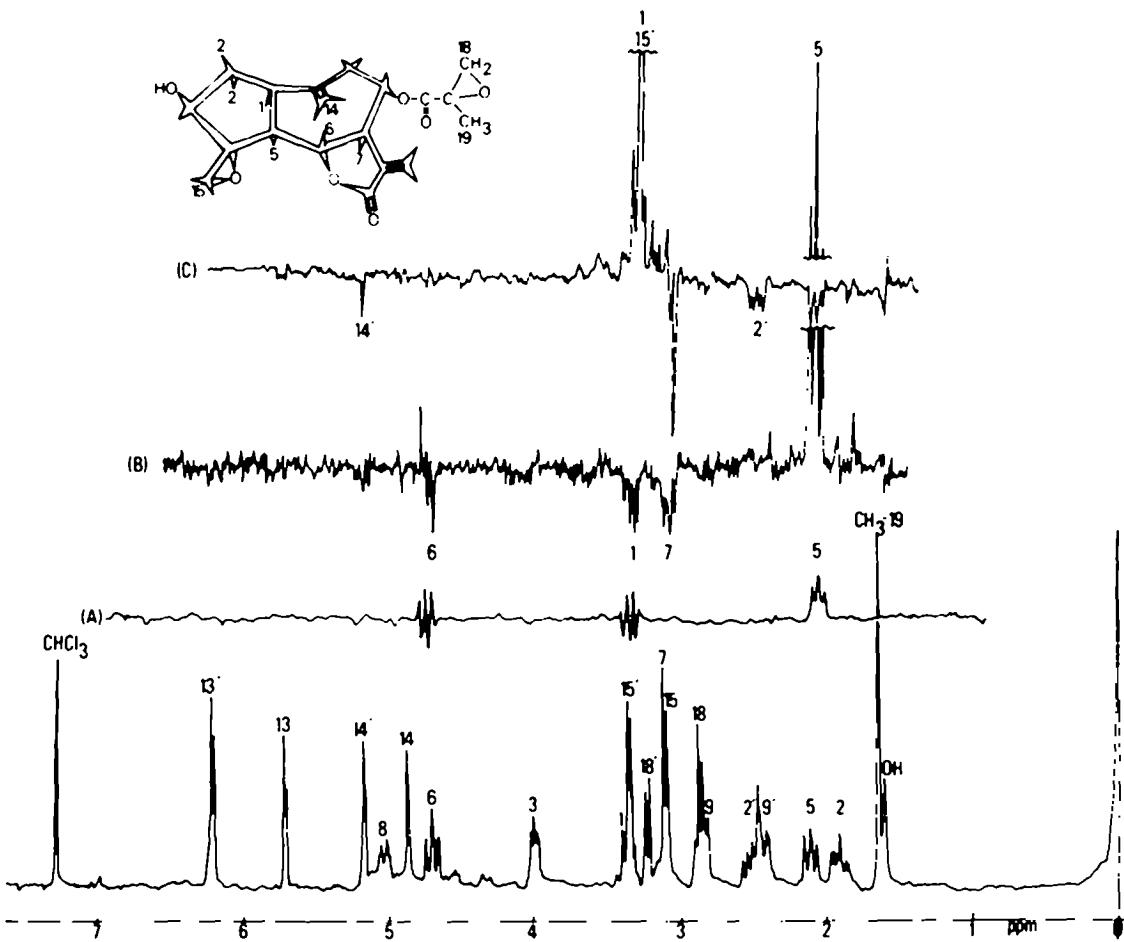


Fig. 4. Spectre de R.M.N. du subluteolide. (A) spectre de différence; (B) et (C) mesures des effets NOE (CDCl_3 , 240 MHz).

- ¹K. H. Lee, S. H. Kim, H. Furukawa, C. Diantadosi et E. S. Huang, *J. Med. Chem.* **18**, 59 (1975).
- ²S. Julia et J. P. Lavaux, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1231 (1963).
- ³S. Julia et B. Furer, *C.R. Acad. Sci., Paris, Série C* **257**, 710 (1963).
- ⁴K. Vokáč et Z. Samek, *Coll. Czech. Chem. Comm.* **39**, 480 (1974).
- ⁵W. Stöcklin, T. G. Waddell et T. A. Geissman, *Tetrahedron* **26**, 2397 (1970).
- ⁶Par analogie avec toutes les lactones sesquiterpéniques de configuration absolue connue,⁷ nous avons représenté l'enantiomère ayant la liaison C-7, C-11 en position β .
- ⁷S. M. Kupchan, J. E. Kelsey et G. A. Sim, *Tetrahedron Letters* 2863 (1967).
- ⁸R. E. Sievers, *NMR Shift Reagents*, Academic Press, New York (1973).
- ⁹R. E. Rondeau et R. E. Siever, *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 1522 (1971).
- ¹⁰J. W. Apsimon, H. Beierbeck et A. Fruchier, *Can. J. Chem.* **50**, 2725 (1972). J. W. Apsimon et H. Beierbeck, *Tetrahedron Letters* 581 (1973).
- ¹¹F. Bohlmann et C. Zdero, *Ibid.* 621 (1972).
- ¹²N. H. Fischer, R. Wiley et J. D. Wander, *Chem. Comm.* 137 (1972).
- ¹³W. Herz, K. Aota, A. L. Hall et A. Srinivasan, *J. Org. Chem.* **39**, 2013 (1974).
- ¹⁴W. Herz, J. Popolawski et R. P. Sharma, *Ibid.* **40**, 199 (1975).
- ¹⁵T. A. Dullforce, G. A. Sim, D. N. J. White, J. E. Kelsey et S. M. Kupchan, *Tetrahedron Letters* 973 (1969).
- ¹⁶R. Toubiana, B. Mompon, C. M. Ho et M. J. Toubiana, *Phytochemistry* **14**, 775 (1975).
- ¹⁷V. Herout et F. Sorm, *Perspectives in Phytochemistry*, p. 139. Academic Press, New York (1969).
- ¹⁸M. D. Sauzade et S. K. Kan, *Adv. Electronics Electron Phys.* **34**, 1 (1973). P. Gonord, C. Duret, C. Vibet, J. Salset et S. K. Kan, *Rev. Sci. Instrum.* **44**, 1725 (1973).
- ¹⁹C. Duret, P. Gonord et S. K. Kan, *C.R. Acad. Sci., Paris, Série B* **278**, 791 (1974).