

## ETUDE CHIMIO-TAXONOMIQUE DANS LE GENRE *CISTUS*

CHRISTIANE TABACIK et MICHÈLE BARD

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

(Reçu le 31 decembre 1970)

**Résumé**—On a analysé et comparé la composition de 3 espèces du genre *Cistus* L.: *Cistus labdaniferus* L. comporte essentiellement des composés du type labdane tel le labdane-8 $\alpha$ , 15, 19 $\alpha$ -triol dont la structure a été confirmée; *C. monspeliensis* L. renferme presque exclusivement des composés ayant un squelette nouveau à jonction A-B cis, le cistane; aucun diterpène cyclique n'a été isolé de *C. salvifolius* L. qui est très riche en acides aliphatiques insaturés parmi lesquels un acide triéthylénique conjugué.

**Abstract**—The composition of 3 species of genus *Cistus* L. has been analysed and compared: *C. labdaniferus* L. contains essentially compounds of labdane type, namely labdane-8 $\alpha$ , 15, 19 $\alpha$ -triol whose structure has been confirmed; *C. monspeliensis* L. contains almost exclusively compounds having a new skeleton, the cistane, with a cis-junction of A and B; no cyclic diterpenes have been isolated from *C. salvifolius* L. which has been found rich in unsaturated aliphatic acids one of which is a mono conjugated triethylenic acid.

LE GENRE *Cistus* de Linné est abondamment représenté sur le littoral méditerranéen où l'on rencontre, parmi les espèces principales: *C. labdaniferus*, *C. monspeliensis*, *C. salvifolius*, *C. albidus*, *C. laurifolius*.

Les 3 premières espèces font ici l'objet d'une étude comparative de leurs constituants terpéniques. Peu de différences apparaissent dans leur morphologie où dominent les caractères communs (arbustes à fleurs blanches); les caractères géographiques de distribution semblent jouer assez peu: les 3 espèces sont de basse et moyenne altitude, fuient le bord de mer et prospèrent en terrains secs. Bien qu'aucune ne pousse sur un calcaire libérant aisément sa chaux, on observe cependant des différences quant à la répartition en fonction de la roche d'origine: *C. salvifolius* reste nettement le plus calciphile des 3 cistes. Comme il s'est avéré être en même temps le plus pauvre en composés terpéniques, peut-être serait-il logique de chercher une relation entre ces deux particularités.

### *CISTUS LABDANTIFERUS* L.

C'est en 1956 que Cocker *et al.*<sup>1</sup> ont isolé, de la gomme de labdanum, l'acide labdano-lique I (premier représentant de l'importante série à squelette labdane) ainsi que l'acide 6-oxo-cativique II. L'étude de l'acide alcool I a été reprise ensuite par d'autres auteurs,<sup>2,3</sup> et nous avons nous-mêmes<sup>4,5</sup> isolé et identifié quelques constituants de la fraction neutre de

<sup>1</sup> J. COCKER et T. G. HALSALL, *J. Chem. Soc.* 4262 (1956).

<sup>2</sup> S. BORY et E. LEDERER, *Croat. Chim. Acta* 29, 157 (1957).

<sup>3</sup> J. DELOBELLE et M. FETIZON, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1429 (1961).

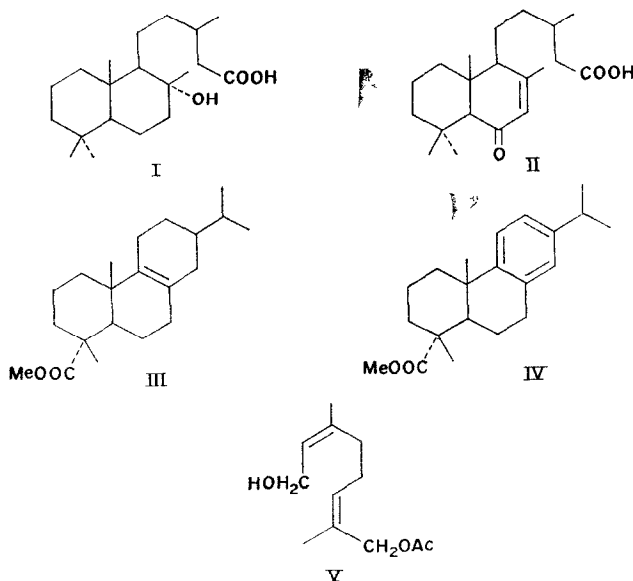
<sup>4</sup> C. TABACIK-WLOTZKA, M. MOUSSERON et A. CHAFAI, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 2299 (1963).

<sup>5</sup> C. TABACIK-WOLTZKA, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 618 (1964).

l'extrait benzénique de *C. labdaniferus* L.\*: deux esters résiniques, le  $\Delta$  (13-14) dihydropalustrate de méthyle III et le déhydro abiétate de méthyle IV; deux alcools: le labdane-8 $\alpha$ , 15-diol VII et le labdane-8 $\alpha$ , 15, 19 $\alpha$ -triol VI.

Il nous a paru intéressant de compléter ce travail:

Nous avons vérifié que les seuls constituants diterpéniques de la fraction acide sont les composés I et II; le reste de la fraction étant constitué par les acides aliphatiques. Nous avons examiné l'ensemble de la fraction neutre et déterminé sa composition: mélange d'esters III et IV 27%; mélange complexe de composés odorants (non identifiés) 3,5%; mélange d'esters d'acides aliphatiques et des alcools suivants:  $\beta$ -sitostérol, alcool V, alcool



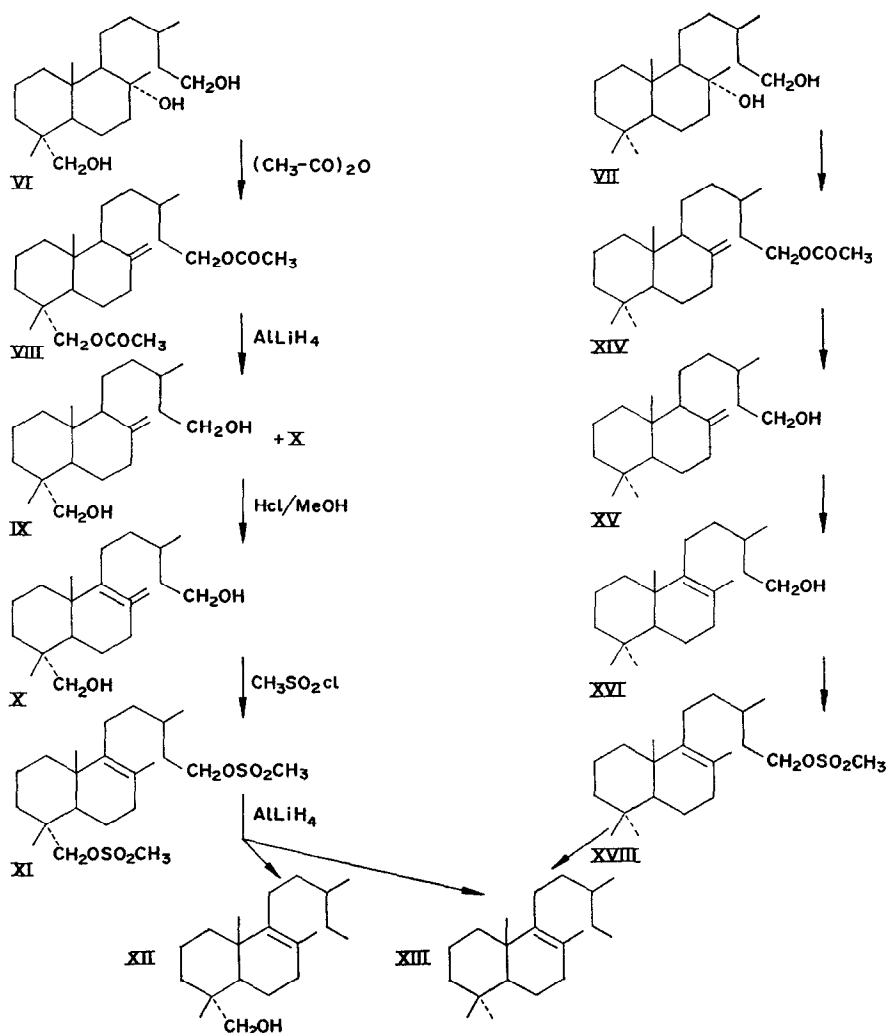
VI, 48%; diol VI, 10%; et triol VII, 3%. L'ensemble des caractéristiques de l'acétate de l'alcool V (analyse élémentaire, spectre IR, spectre de masse, spectre de RMN) sont en accord avec la formule du diméthyl-2,6-diacétoxy-1, 8-octadiène-2,6 (ou acétoxy géraniol), mais nous n'avons pas, faute de matière première, confirmé cette structure par une étude chimique.

Nous avons repris l'étude du triol VII dans l'optique des connaissances actuelles concernant les composés diterpéniques et confirmé sa structure ainsi que sa stéréochimie.

### Squelette

Par élimination de leurs fonctions, (suivant le processus décrit dans le schéma 1), les alcools VI et VII, conduisent au même carbure. L'identité des composés obtenus dans l'étape finale a été contrôlée par co-injection en chromatographie en phase gazeuse; leurs spectres IR et de RMN sont superposables. En particulier, on observe bien les bandes du gem-diméthyle, dans l'IR (doublet à 1360-1380  $\text{cm}^{-1}$  ( $\delta_{\text{CH}_3}$ ) et en RMN, (deux signaux à 9,11 et 9,17  $\tau$ , valeurs attendues).

\* La matière première utilisée a la même origine géographique que celle qui a été élaborée en 1960; nous remercions vivement Mr Peyron, chef du Service de recherche des Ets Lautier fils, qui nous l'a gracieusement fournie.



SCHEMA I.

La réduction par  $\text{AlLiH}_4$  des acétates **VIII** et **XIV** s'accompagne de l'isomérisation partielle de la double liaison  $\Delta 8(20)$  en position  $\Delta 8(9)$ . Nous avons jugé préférable d'achever la réaction d'isomérisation afin de travailler sur un produit unique, l'isomère  $\Delta 8(9)$  (**X** ou **XVI**). La réduction du diméthane sulfonate **XI** fournit un mélange de carbure (**XIII**) et de mono-ol **XII**. Dans le spectre de RMN des composés **VI** à **XII**, on observe bien le système AB du groupement  $\text{CH}_2\text{O}$  en C-4.<sup>6-8</sup>

D'autre part, la comparaison des pouvoirs rotatoires des acétates **VIII** et **XIV** ( $+16^\circ 5$  et  $+26^\circ 8$ ) est en accord avec la structure labdanolique. En effet tous les composés appartenant à la série labdanolique sont dextrogyres.<sup>9</sup>

<sup>6</sup> R. CARMAN et N. DENNIS, *Austral. J. Chem.* **17**, 390 (1964).

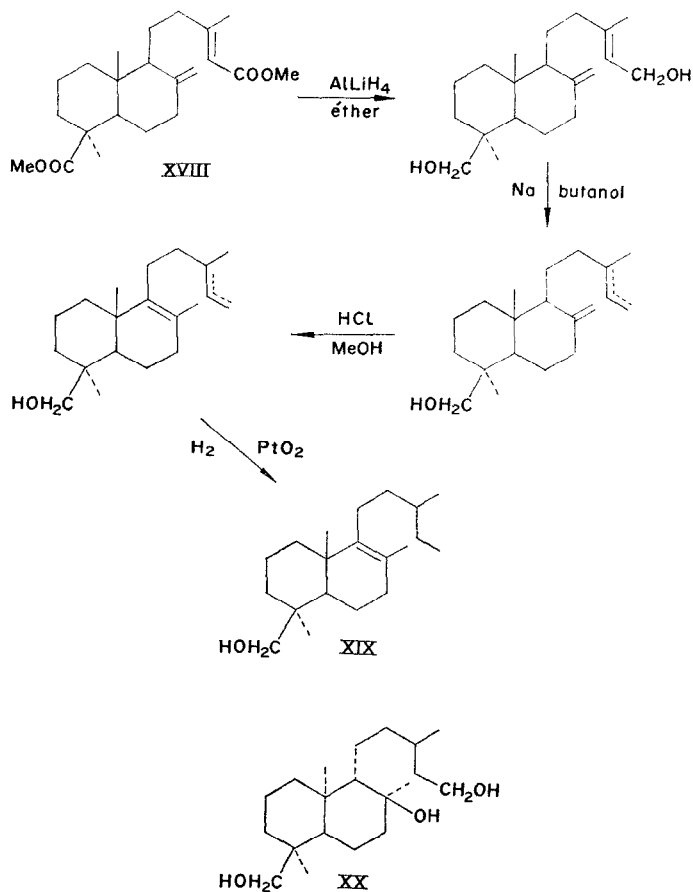
<sup>7</sup> A. GAUDEMER, J. POLONSKY et E. WENKERT, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 407 (1964).

<sup>8</sup> C. R. NARAYANAN, N. R. BHADANE et M. R. SARMA, *Tetrahedron Letters* **13**, 1561 (1968).

<sup>9</sup> R. M. CARMAN, *Austral. J. Chem.* **17**, 390 (1964).

### Stereochimie en C-4

Elle est déduite par référence à des dérivés de l'acide agathique, dont la stéréochimie en C-4 est connue. Selon le processus décrit dans le schéma 2, on prépare, à partir du diagathate de méthyle XVIII, le labd-8(9)-ène-18-hydroxy XIX, épimère en C-4 du labd-8(9)-ène-19-hydroxy XII.



SCHEMA II.

Les composés XIX et XII se comportent bien comme deux stéréoisomères<sup>6-8</sup> d'après leurs spectres de RMN: ceux-ci sont identiques dans la région des méthyles; seul varie le déplacement chimique des protons géminés avec la fonction alcool, que l'on observe sous forme d'un quadruplet centré à  $6,41\tau$  pour XII et  $6,75\tau$  pour XIX.

La structure du triol VII est à rapprocher de celle de l'épéruane- $8\beta,15,18\beta$  triol XX, isolé par Henrick, et Jefferies de *Ricinocarpus muricatus*<sup>10</sup>—Le triol XX est l'antipode de VII en tous points, sauf en C-13, où la stéréochimie est identique pour les 2 composés (R).<sup>11</sup>

<sup>10</sup> C. A. HENRICK et P. R. JEFFERIES *Tetrahedron* **21**, 1175 (1965).

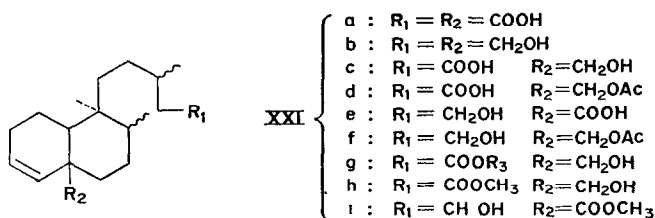
<sup>11</sup> K. H. OVERTON et A. J. RENFREW, *J. Chem. Soc. (c)* 931 (1967).

*CISTUS MONSPELIENSIS* L.\*

Alors que nous commençons cette étude, Berti *et al.*<sup>12,12a,13</sup> venaient d'isoler, d'un extrait de *Cistus monspeliensis* L. d'origine italienne, 3 constituants, dont ils ont déterminé la structure: une flavone, la myricétine-3,7,3', 4'-tétraméthyléther et 2 composés diterpéniques ayant un squelette nouveau†, caractérisé par la jonction cis des cycles A et B, le cistodiol XXIb et l'acide cistodioïque XXIa.

Les feuilles et rameaux de *C. monspeliensis* L. ont été récoltés près de Montpellier, au mois de juin. L'extraction de la plante (séchée et broyée) a été effectuée à l'éther de pétrole, dans un appareil du type Soxhlet. Par refroidissement de la solution éthéropétrolique, la myricétine 3,7,3',7' tétraméthyléther cristallise.

Après séparation de la flavone par filtration, on divise l'extrait brut en partie neutre et partie acide, lesquelles sont fractionnées par chromatographie. Les résultats expérimentaux obtenus indiquent une grande homogénéité de composition puisque l'extrait est presque exclusivement constitué par des composés possédant le squelette cistane.



En effet, on a isolé, dans la fraction acide, les 2 hydroxyacides XXIc et XXIe (45 et 8%); le premier qui est largement majoritaire existe également sous forme de son acétate XXId (20%). L'existence du groupement acétate (qui découle des résultats de l'analyse élémentaire et du spectre IR), est confirmée par la présence, dans le spectre de masse, du fragment M-60, et dans le spectre RMN du signal caractéristique à 7,93  $\tau$ . On remarque le déblindage des protons géminés avec la fonction acétate qui résonnent sous forme d'un singulet à 5,42  $\tau$ .

La saponification de XXId conduit à l'acide-alcool XXIc, et la réduction des trois composés XXIc, XXIe et XXId, au cistène-3(4)-15-18-diol XXIb.‡ Par déshydratation de l'acide cistène-3(4) hydroxy-18-oïque-15, on obtient l'acide cistodiène-1(2)-3(4) oïque-15 caractérisé par ses spectres UV et de RMN.

La fraction neutre comporte également un fort pourcentage de composés ayant la structure XXI (XXIb: 17%; XXId: 27%); on a isolé également une petite quantité de XXIc sous forme d'un mélange d'esters d'acides aliphatiques; du  $\beta$ -sitostérol (3%), ainsi que des composés purement aliphatiques (env. 30%, carbures, esters et alcools).

La série labdanolique est représentée, dans la fraction acide, par l'acide labdanolique (10%) et dans la fraction neutre par le labdane-8 $\alpha$ -15-diol (5%) et le labdane-8 $\alpha$ -hydroxy-15-acétoxy (5%). Il est intéressant de constater que nous n'avons pas isolé d'acide cistodioïque

\* Ce travail fait partie d'une thèse soutenue le 6.7.70 à Montpellier par Mme Bard-Blaquiere.

† Ces composés sont toutefois à rapprocher de l'ac. hardwicklique.<sup>20</sup>

‡ Nous remercions vivement le Professeur G. Berti de l'Université de Pise, pour l'envoi d'un échantillon de cistodiol et pour la communication de résultats avant publication.

<sup>12</sup> G. BERTI, O. LIVI et D. SEGNINI, *Tetrahedron Letters* **17**, 1401 (1970).

<sup>12a</sup> G. BERTI, O. LIVI, D. SEGNINI et I. CAVERO, *Tetrahedron* **23**, 2295 (1967).

<sup>13</sup> I. CAVERO, O. LIVI et D. SEGNINI, *Annali Chim.* **60**, 1 (1970).

<sup>20</sup> W. COCKER, A. L. MOORE et A. C. PRATT, *Tetrahedron Letters* 1983 (1965).

XXIa, alors que Berti *et al.*<sup>12</sup> ont obtenu ce composé par cristallisation directe à partir de la fraction acide.

### CISTUS SALVIFOLIUS L.

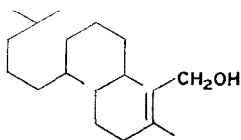
A notre connaissance, aucune étude chimique du ciste à feuille de sauge n'a été publiée. Cette espèce manifeste, vis à vis de la sécheresse, une fragilité beaucoup plus prononcée que les espèces cidessus mentionnées: en effet, dès la fin de la floraison, les feuilles revêtent un aspect sec et flétri, alors que *Cistus labdaniferus* et *C. monspeliensis* gardent un aspect vert et luisant, même durant les chaleurs de l'été; la récolte doit donc être faite dès l'épanouissement des fleurs (fin mai, ou début juin).

Après séchage et broyage, la plante est extraite à l'éther et l'extrait divisé en fraction acide (5%), phénolique (35%) et neutre (60%). Seule cette dernière a été étudiée. Du point de vue chimique, l'extrait est caractérisé par sa pauvreté en composés terpéniques: nous n'avons trouvé aucun représentant de la série labdane ou cistane. Sa composition a été déterminée d'après les résultats d'un fractionnement par chromatographie d'élution: les constituants principaux sont des *acides aliphatiques* fortement insaturés dont la proportion dépasse 50%. Ces acides se présentaient sous forme d'esters des alcools suivants: le  $\beta$ -sitostérol, le phytol, l'isophytol, des poly-isoprénols, des alcools aliphatiques.

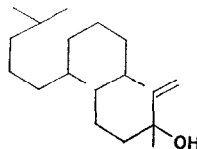
On a isolé, en outre, une quantité assez importante de composés aliphatiques saturés (carbures et esters) accompagnés d'un peu de carbures poly-isopréniques. Les alcools cidessus mentionnés existent également à l'état libre et sont élués, le plus souvent, sous forme de mélange avec des composés à chaîne longue. On suppose que ces mélanges constituent des complexes du type composés d'inclusion, en raison de l'élution simultanée de constituants de polarités très différentes (esters et alcools).

### Phytol et isophytol (XXII et XXIII)

Ce sont les seuls individus diterpéniques qui ont été mis en évidence dans l'extrait. Leur séparation a été rendue laborieuse par la présence de composés aliphatiques nécessitant le passage sur colonne d'urée.<sup>14</sup>



XXII



XXIII

Le spectre IR des isomères XXII et XXIII a fait l'objet d'une étude approfondie par Lederer et Demole<sup>15</sup> qui ont isolé pour la première fois l'isophytol; mais nous n'avons pas trouvé la description détaillée des spectres de RMN. Dans celui du phytol XXII, on remarque en doublet à 5,86  $\tau$  attribuable aux protons  $\text{CH}_2$  (OH) déblindés par la proximité de la double liaison; le méthyle sur double liaison résonne également à des champs plus faibles (8,28–8,33  $\tau$  au lieu de 8,40 env.) par suite de l'effet de la fonction OH; son dédoublement est vraisemblablement dû à la présence des 2 isomères cis et trans. Les alcools XXII et XXIII ont été comparés à des échantillons de référence.

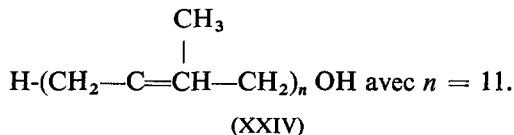
<sup>14</sup> C. ASSELINEAU et J. ASSELINEAU, *Ann. Chim.* **9**, 461 (1964).

<sup>15</sup> E. DEMOLE et E. LEDERER, *Bull. Soc. Chim.* 1128 (1958).

*Poly-isoprénols*

Par chromatographie d'un mélange d'alcools obtenus au cours de la saponification d'esters d'acides aliphatiques insaturés, on a isolé, à coté du  $\beta$ -sitostérol et du phytol, un alcool poly-isoprénique XXIV qui a été identifié à l'un des composants des pistaciaprénols.<sup>16</sup>

Cet alcool est accompagné d'une petite quantité d'un de ses homologues ( $n = 10$ ).



Le spectre IR comporte, outre les bandes de vibration de la fonction alcool primaire, des bandes intenses attribuables à des doubles liaisons tri-substituées; l'intensité de ces bandes est caractéristique des composés polypréniques (42). Le spectre de RMN présente également les éléments attendus pour de tels composés: méthylènes déblindés à 7,92 et 7,98  $\tau$ , méthyles également déblindés à 8,30  $\tau$  (cis) et 8,38  $\tau$  (trans)<sup>17</sup>; protons oléfiniques donnant un massif en forme de triplet (intense).

Il a été possible de déterminer la longueur de la chaîne,  $n = 11 + \epsilon$  ( $n = 10$ ) en comparant les acétates, par CCM à éluions multiples, à des acétates étalons de pistaciaprénols (issus de *Pistacia terebinthus*).

On a également séparé, dans les fractions peu polaires, une petite quantité de carbures poly-isopréniques dont la structure a été mise en évidence par l'examen des spectres IR et de RMN, mais dont la poids moléculaire n'a pas été déterminé.

*Acides aliphatiques insaturés*

Ce sont, du point de vue pondéral, les composants les plus importants de l'extrait dans lequel ils interviennent sous forme d'esters du  $\beta$ -sitostérol, du phytol, des pistacia-prénols, de monoals aliphatiques, de glycols.

Par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques sur Apiézon L., on obtient deux pics principaux qui coïncident, par co-injection, avec ceux des esters d'acides en  $C_{16}$  et  $C_{18}$ ; d'autre part, on observe, dans le spectre de masse du même mélange, des pics importants à  $m/e$  294,298,270, correspondant respectivement à des acides en  $C_{18}$  tri-éthyléniques et mono-éthyléniques et à un acide mono-éthylénique en  $C_{16}$ .

En CCM sur silicagel, le mélange donne une tache unique; en CCM sur silicagel imprégné de nitrate d'argent, le mélange est dédoublé en 2 taches, ayant respectivement même  $R_f$  que l'oléate de méthyle et le linolénate de méthyle. Par chromatographie sèche sur le même support, on sépare les esters mono-insaturés ( $C_1$ ) d'un ester poly-insaturé  $C_2$ . D'après les résultats de la spectrométrie de masse, les premiers sont donc l'oléate et le palmitoléate de méthyle (ou des isomères).

L'ester poly-insaturé  $C_2$  est hydrogéné en présence de platine Adams: on obtient du stéarate de méthyle. D'après son spectre de RMN,  $C_2$  comporte 3 doubles liaisons dont deux sont conjuguées [absorption à 233 nm, dans l'UV<sup>18,19</sup> et bandes caractéristiques des diènes dans le spectre IR]. Le signal des protons méthyléniques, large et très découpé

<sup>16</sup> C. TABACIK et P. PISTRE, *Phytochem.* **6**, 597 (1967).

<sup>17</sup> R. B. BATES et D. M. GALE, *J. Am. Chem. Soc.* **82**, 5749 (1960).

<sup>18</sup> M. FLORKIN et E. H. STOTZ, *Comprehensive Biochemistry*, Vol. 6, p. 5, Elsevier, Amsterdam (1965).

<sup>19</sup> L. CROMBIE et A. G. JACKLIN, *J. Chem. Soc.* 1632 (1957).

(5 pics à 8,52, 8,59, 8,63, 8,70 et 8,75  $\tau$ ) est très différent du signal unique et étroit obtenu avec un échantillon de linoléate de méthyle. Il suggère une structure comportant des protons méthyléniques non équivalents, c'est-à-dire une dispersion maximum des insaturations. Ceci peut-être représenté par l'une ou l'autre des formules:  $\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH=CH—CH=CH—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH=CH—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—COOH}$   
 $\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH=CH—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH=CH—CH=CH—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—COOH}$

L'ester tri-éthylénique  $\text{C}_2$  est un composé nouveau. La détermination exacte de sa structure nécessiterait une étude chimique par oxydation dégradative de la molécule.

### CONCLUSION

Malgré une grande similitude du point de vue botanique, les 3 espèces de *Ciste* étudiées présentent de profondes différences dans leur composition chimique.

*Cistus labdaniferus* L. est riche en constituants du type labdane, alors que *C. monspeliensis* L. comporte presque exclusivement des diterpènes possédant un squelette nouveau (avec une jonction cyclique cis), le cistane. *C. salvifolius* L. se distingue encore davantage des 2 espèces précédentes, par sa pauvreté en composés terpéniques, représentés par le phytol et l'isophytol ainsi que des polyprénols, et du  $\beta$ -sitostérol (seul composant commun aux 3 espèces). Par contre, il renferme un pourcentage élevé en constituants aliphatiques insaturés parmi lesquels un nouvel acide tri-éthylénique en  $\text{C}_{18}$ .

On peut chiffrer dans les 3 plantes la proportion en composés aliphatiques (A) et terpéniques (T). *C. labaniferus* a 30% A et 90% T; *C. monspeliensis*, 14% A et 75% T; et *C. salvifolius* 63% A et 27% T.

Ces différences traduisent, au niveau des 3 espèces, un comportement bio-chimique dissemblable, dont il faut peut-être chercher la raison dans la formation, chez l'une d'elles, d'une quantité très importante d'acides aliphatiques insaturés. La biosynthèse de ceux-ci est encore mal connue, mais on peut penser que leur utilisation par la plante, comme matière première pour la formation des composés terpéniques, soit malaisée.

Il reste cependant compréhensible que leur abondance dans *Cistus monspeliensis* soit responsable de la fragilité de la plante.

### EXPERIMENTALE

Sauf indications contraires, les spectres IR sont enregistrés sur Perkin-Elmer 221 ou 257, en solution dans  $\text{CCl}_4$ , les spectres de RMN sur Varian A 60, avec  $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$  comme référence interne, en solution dans  $\text{CDCl}_3$ ; les spectres UV sur Beckmann DK<sub>1</sub>, en solution dans EtOH; les spectres de masse sur spectromètre C.E.C. 21-110 C; les pouvoirs rotatoires sur Quick Polarimètre Roussel-Jouan, en solution dans l'éthanol.

#### *CISTUS LABDANIFERUS* L.

##### *Séparation des Composés Acides et Neutres*

500 g de concrète de ciste, en solution dans  $\text{Et}_2\text{O}$ , sont lavés plusieurs fois avec une solution de soude à 9% jusqu'à obtention d'une eau de lavage incolore; la solution étherique fournit, après concentration, 145 g d'extrait neutre, la solution aqueuse est acidifiée par HCl 10% et extraite à  $\text{Et}_2\text{O}$ ; on isole 340 g d'extrait acide.

##### *Chromatographie de l'Extrait Neutre*

145 g d'extrait neutre sont chromatographiés sur 2 kg d'alumine II-III; Volume des fractions = 1 l. Les fractions éluées avec l'éther de pétrole et le mélange éther de pétrole-benzène 85:15 (soit 39 g et 5 g) contiennent principalement le  $\Delta(13-14)$  dihydropalustrate de méthyle et le déhydroabiétate de méthyle; les fractions éluées avec le benzène et le mélange benzène-éther 90:10 sont constituées d'un mélange d'esters d'acides aliphatiques et des alcools:  $\beta$ -sitostérol, alcool (V), alcool (VI) (69,5 g).



Par élution avec le mélange benzène-éther, on obtient le labdane-8 $\alpha$ -15 diol (VI) (14,5 g). Enfin, le labdane-8 $\alpha$ -15-19 $\alpha$ -triol (VII) apparaît dans les fractions éluées avec le mélange éther-alcool 70:30 (4,4 g).

#### 2,6-diméthyl-1,8 diacétoxy 2,6 octadiène (V)

$Eb_{0,2} = 80-82^\circ$ . Spectre de masse = pic moléculaire:  $m/e = 254$ ; pic fragment à  $m/e = 134$  (M-120). (Tr.: C, 66,32; H, 8,68; O, 24,91;  $C_{14}H_{22}O_4 = 254$  Cal.: C, 66,11; H, 8,72; O, 25,17%). Spectre IR:  $\nu_{C=O} = 1740\text{ cm}^{-1}$ ;  $CH_3$  intense  $1365\text{ cm}^{-1}$ ; double liaison trisubstituée  $1670$  et  $840\text{ cm}^{-1}$ . Spectre UV:  $\lambda_{max} = 206\text{ nm}$ .  $\epsilon = 5000$ . Spectre de RMN: méthylènes  $7,99\tau$  et  $8,01\tau$ ;  $2(CH_3)$   $8,28$  et  $8,30\tau$ ;  $2(-OCOCH_3)$   $7,97\tau$ ;  $2CH-(OAc)$   $5,43\tau$ ; protons éthyléniques pics de  $4,30$  à  $4,80\tau$ .

#### Labdane 8 $\alpha$ -15-19 $\alpha$ -triol (VI)

Acétylation du labdane 8 $\alpha$ -15-19 $\alpha$ -triol (VI). A une solution de 430 mg de VI dans 10 ml d'anhydride acétique, on ajoute 100 mg NaOAc anhydre et chauffe 4 heures à reflux. Après dilution et extraction à  $Et_2O$ , on isole 580 mg de labd-8(20)ène-15-19 $\alpha$  diacétoxy (VIII) huileux.

$Eb_{0,2} = 187-189^\circ$ .  $[\alpha]_D = 16,5^\circ$  ( $c = 1,08$ ). Spectre IR:  $\nu_{C=O} = 1735\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{C-O} = 1240$  et  $1025\text{ cm}^{-1}$ ; double liaison méthylénique  $1640$  et  $890\text{ cm}^{-1}$ . Spectre de RMN:  $CH_3$ -13  $9,08\tau$  (d);  $CH_3$ -4  $9,12\tau$ ;  $CH_3$ -10  $9,29\tau$ ;  $CH_2(OAc)$  (cycle)  $5,50\tau$ ;  $CH_2(OAc)$  (chaîne)  $5,88\tau$ ;  $=CH_2$   $5,15$  et  $5,49\tau$ .

Réduction du labd-8(20)ène 15-19 $\alpha$  diacétoxy (VIII). A une solution de 250 mg d' $AlLiH_4$  dans 10 ml  $Et_2O$  anhydre, on ajoute 540 mg de VIII en solution dans 10 ml  $Et_2O$ . Après 3 heures de reflux, le mélange est décomposé ( $AcOEt$ ,  $HCl$  10%). On isole par extraction à  $Et_2O$  400 mg d'un mélange de labd-8(20)ène-15, 19-diols IX et de labd-8(9)ène-15,19-diols X.

Isomérisation du mélange (IX-X). 400 mg de mélange (IX-X) dissous dans 20 ml d'une solution méthanolique d' $HCl$  10% sont chauffés 5 hr à reflux. Le mélange réactionnel est dilué et extrait à  $Et_2O$ . On obtient 310 mg de labd-8(9)ène-15,19-diols (X). Spectre de RMN:  $CH_3$ -10  $9,05\tau$ ;  $CH_3$ -4  $9,20\tau$ ;  $CH_3$ -8  $8,45\tau$ ;  $CH_3$ -13  $9,06\tau$  (d;  $J = 4\text{ c/s}$ )  $CH_2(OH)$ , (chaîne)  $6,31\tau$  (t;  $J = 6\text{ c/s}$ ); (cycle) massif mal résolu. Spectre de RMN ( $C_5H_5N$ ):  $CH_2(OH)$  (chaîne)  $6,08\tau$  (t;  $J = 6,5\text{ c/s}$ )  $CH_2(OH)$  (cycle)  $6,63\tau$  (q;  $J = 7\text{ c/s}$ ).

Labd-8(9)ène-15,19 $\alpha$  diméthane sulfonate (XI). A 350 mg de X en solution dans 5 ml de pyridine à  $0^\circ$ , on ajoute 400 mg de chlorure de méthane sulfonyle. Après 48 hr, on dilue à  $H_2O$  glacée et extrait à  $Et_2O$ . On obtient 370 mg de labd-8(9)ène-15,19 $\alpha$  diméthane sulfonate (XI). Spectre IR:  $SO_2$   $1175\text{ cm}^{-1}$   $CH_3(-OSO_2CH_3)$   $1340\text{ cm}^{-1}$ . Spectre de RMN:  $CH_2(OSO_2CH_3)$   $6,98\tau$ ;  $CH_2(OSO_2CH_3)$  (chaîne)  $5,68\tau$ .

Réduction du labd-8(9)ène-15,19 diméthane sulfonate (XI). 350 mg de XI dissous dans 20 ml de dioxanne anhydre, sont réduits par 200 mg d' $AlLiH_4$ . On obtient 150 mg d'un mélange qui est chromatographié sur 10 g d'alumine neutre I. On sépare 50 mg d'un mélange C de deux carbures différemment insaturés et 60 mg de labd-8(9)ène-19-hydroxy (XII).

Labd-8(9)ène-19 hydroxy (XII). Spectre de RMN:  $CH_3$ -10  $9,06\tau$ ;  $CH_3$ -4  $9,22\tau$ ;  $CH_3$ -8  $8,45\tau$ ;  $CH_3$ -13  $9,06\tau$  (d);  $CH_2(OH)$  (cycle)  $6,75\tau$  (massif).

Hydrogénation du mélange C. 50 mg de mélange C dissous dans 10 ml  $MeOH$  sont hydrogénés en présence de  $PtO_2$  Adams. On obtient le labd-8(9)ène XIII sous forme d'huile. Spectre IR: aucune bande caractéristique de fonction;  $CH_3$  gem-diméthyle  $1360-1380\text{ cm}^{-1}$ . Spectre de RMN:  $CH_3$ -10  $9,06\tau$ ;  $CH_3$ -4 gem-diméthyle  $9,10-9,18\tau$ ;  $CH_3$ -8  $8,45\tau$ ;  $CH_3$ -13  $9,09\tau$  (d;  $J = 4,5\text{ c/s}$ ).

#### Labdane-8 $\alpha$ ,15 diol (VII)

Acétylation du labdane-8 $\alpha$ ,15 diol (VII). 300 mg de VII dissous dans 10 ml d'anhydride acétique sont chauffés à reflux 2 hr en présence de 50 mg d'acétate de sodium. On isole 330 mg de labd-8(20)ène-15 acétoxy (XIV).  $Eb_{0,2} = 178-180^\circ$ .  $[\alpha]_D = +26,8$  ( $c = 1,04$ ). Spectre IR:  $\nu_{C=O} = 1739\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{C-O} = 1235, 1050\text{ cm}^{-1}$ ; gem diméthyle  $1380$  et  $1360\text{ cm}^{-1}$ ;  $=CH_2$   $1640$  et  $890\text{ cm}^{-1}$ . Spectre de RMN: gem-diméthyle  $9,14$  et  $9,20\tau$ ;  $CH_3$ -10  $9,32\tau$ ;  $CH_3$ -13  $9,09\tau$  (d;  $J = 4,5\text{ c/s}$ );  $CH_2(OAc)$   $5,90\tau$  (t;  $J = 6\text{ c/s}$ );  $=CH_2$   $5,19-5,51\tau$ .

Réduction du labd-8(20)ène-15 acétoxy (XIV). 320 mg de XIV sont réduits par 150 mg d' $AlLiH_4$  en solution dans 18 ml  $Et_2O$  anhydre. Après 3 hr de reflux, on isole 300 mg d'un mélange de labd-8(20)ène-15 hydroxy (XV) et de labd-8(9)ène-15 hydroxy (XVI).

Isomérisation du mélange (XV-XVI). 260 mg de mélange dissous dans 15 ml d'une solution méthanolique d' $HCl$  à 10% sont chauffés 5 hr à reflux. On obtient 240 mg de labd-8(9)ène-15 hydroxy XVI. Spectre de RMN: gem-diméthyle  $9,12-9,16\tau$ ;  $CH_3$ -10  $9,0\tau$ ;  $CH_3$ -8  $8,44\tau$ ;  $CH_3$ -13  $9,08\tau$  (d;  $J = 4\text{ c/s}$ );  $CH_2(OH)$   $6,30\tau$  (t;  $J = 6,5\text{ c/s}$ ).

Labd-8(9)ène-15 méthane sulfonate (XVII). 230 mg de XVI dissous dans 23 ml de pyridine, sont traités par 200 mg de chlorure de méthane sulfonyle. On isole 260 mg de labd-8(9)ène-15 méthane sulfonate XVII. Spectre IR:  $CH_3-SO_2CH_3$   $1345\text{ cm}^{-1}$ ;  $SO_2$   $1175\text{ cm}^{-1}$ . Spectre de RMN: gem-diméthyle  $9,11-9,15\tau$ ;  $CH_3$ -10  $9,06\tau$ ;  $CH_3$ -8  $8,44\tau$ ;  $CH_3$ -13  $9,08\tau$  (d);  $-CH_2(OSO_2CH_3)$   $5,71\tau$  (t);  $-CH_2(OSO_2CH_3)$   $6,99\tau$ .

Réduction du labd-8(9)ène-15 méthane sulfonate (XVII). 230 mg de XVII dissous dans 5 ml de dioxanne anhydre sont réduits par 150 mg d' $AlLiH_4$  dans 10 ml de dioxanne anhydre. Après 15 heures de reflux, on isole 130 mg d'un mélange qui est chromatographié sur 12 g d'alumine neutre I. On obtient 40 mg de

labd-8(9)ène huileux XIII. Spectre IR : aucune bande caractéristique de fonction;  $\text{CH}_3$  gem-diméthyle  $1360\text{--}1380\text{ cm}^{-1}$ . Spectre de RMN : gem-diméthyle 9,11–9,16  $\tau$ ;  $\text{CH}_3$ –10 9,05  $\tau$ ;  $\text{CH}_3$ –8 8,44  $\tau$ ;  $\text{CH}_3$ –13 9,08  $\tau$  (d;  $J = 4,5\text{ c/s}$ ).

*Comparaison des 2 carbures obtenus à partir de (VI) et (VII). Chromatographie en phase gazeuse.* Phase stationnaire SE-30,10% sur anakrom 100-110-ABS; longueur de la colonne 2 m, température colonne:  $250^\circ$ , détecteur:  $270^\circ$ , injecteur  $280^\circ$ , gaz vecteur  $\text{N}_2$ . Les 2 carbures donnent un pic unique, séparément et en coïncidence.

#### Réduction de l'Agathate de Méthyle (XVIII)

130 mg d'agathate de méthyle sont réduits par 120 mg d' $\text{AlLiH}_4$ , en solution dans 15 ml d' $\text{Et}_2\text{O}$  anhydre; après 2 hr de reflux, on isole 125 mg d'agathadiol cristallisé. Spectre IR (KBr):  $=\text{CH}_2$  3080, 1640 et  $890\text{ cm}^{-1}$ ;  $\text{R}-\text{CH}=\text{CH}-$  1665 et  $850\text{ cm}^{-1}$ . Spectre de RMN:  $\text{CH}_3$ –4 9,05  $\tau$ ;  $\text{CH}_3$ –10 9,36  $\tau$ ;  $\text{CH}_3$ –13 8,33  $\tau$ ;  $\text{CH}_2(\text{OH})$  (chaîne) 5,89  $\tau$  (d,  $J = 6\text{ c/s}$ );  $\text{CH}_2(\text{OH})$  (cycle) 6,46  $\tau$  (q;  $J = 11\text{ c/s}$ );  $=\text{CH}_2$  5,19 et 5,49  $\tau$ .

*Réduction de l'agathadiol.* A 120 mg d'agathadiol dissous dans 15 ml of BuOH, on ajoute sous reflux 1 g Na et chauffe 20 min. On obtient 90 mg d'huile qui, chromatographiés sur 10 g de silicagel II–III donnent 40 mg de labd-8(20)-13(14) diène-18 hydroxy F =  $64\text{--}66^\circ$  ( $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O} = 290\text{ Tr.}$ : C, 82,18; H, 11,86; O, 5,80; Calc.: C, 82,69; H, 11,80; O, 6,51 %). Spectre IR:  $\nu_{\text{OH}}$   $3640\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{\text{C}=\text{C}}$   $1020\text{ cm}^{-1}$ ; insaturation méthylénique 3080, 1640, 1405 et  $890\text{ cm}^{-1}$ ;  $\text{R}-\text{CH}=\text{CH}-$  1665 et  $850\text{ cm}^{-1}$ . Spectre de RMN:  $\text{CH}_3$ –4 9,02  $\tau$ ;  $\text{CH}_3$ –10 9,33  $\tau$ ;  $\text{CH}_3$ –13 8,40  $\tau$ ;  $\text{CH}_3$ –14 8,49  $\tau$ ;  $\text{CH}_2(\text{OH})$  (cycle) 6,40  $\tau$  (q,  $J = 11\text{ c/s}$ );  $=\text{CH}_2$  5,15–5,43  $\tau$ .

*Isomérisation du labd-8(20)-13(14) diène-18 hydroxy.* 30 mg de labd-8(20)-13(14) diène-18 hydroxy dissous dans 2 ml d'une solution méthanolique d'HCl à 10% sont chauffés à reflux 2 hr. On isole 27 mg de labd-8(9)-13(14) diène-18 hydroxy.

*Hydrogénation du labd-8(9)-13(14) diène-18 hydroxy.* 27 mg de labd-8(9)-13(14) hydroxy dissous dans 5 ml de méthanol sont hydrogénés en présence de  $\text{PtO}_2$  Adams. On obtient 20 mg de labd-8(9) ène-18 hydroxy XIX. RMN:  $\text{CH}_3$ –10 9,07  $\tau$ ;  $\text{CH}_3$ –4 9,20  $\tau$ ;  $\text{CH}_3$ –8 8,45  $\tau$ ;  $\text{CH}_3$ –13 9,06  $\tau$  (d);  $\text{CH}_2(\text{OH})$  (cycle) 6,41  $\tau$  (q,  $J = 10\text{ c/s}$ ).

### CISTUS MONSPELIENSIS

*Cistus monspeliensis* est récolté au mois de Juin. Après séchage sur claies pendant 15 jours, les feuilles et petits rameaux sont broyés, puis extraits 24 hr à l'éther de pétrole dans un soxlhet. 4 kg de poudre donnent environ 500 g d'extrait brut. Par refroidissement, la solution éthéropétrolique laisse déposer des cristaux de myricétène-3,7,3',4' tétraméthyléther.

#### Séparation des Composés Acides et Neutres

Une solution de 100 g d'extrait brut dans 1,5 l d' $\text{Et}_2\text{O}$  est lavée plusieurs fois avec une solution  $\text{CO}_3\text{HNa}$  5%, puis avec une solution  $\text{CO}_3\text{Na}_2$  à 5% jusqu'à obtention d'une liqueur de lavage incolore. La solution éthérique fournit 55 g d'extrait neutre. Les eaux de lavage au carbonate monosodique et les premières eaux de lavage au carbonate disodique sont acidifiées avec HCl 20% et la solution obtenue extraite à  $\text{Et}_2\text{O}$ . On obtient 45% d'extrait acide.

#### Isolement des Composés Acides

50 g d'extrait acide sont chromatographiés sur 1 kg de silicagel III, on isole des fractions constituées essentiellement par: l'acide cistène-3(4)-acétoxy-18-oïque-15 XXId (22 g) (benzène-éther 90:10); l'acide cistène-3(4)-hydroxy-18-oïque-15 XXIC (10 g) (benzène-éther 80:20); l'acide cistène-3(4)-hydroxy-15-oïque-18 XXIE (4 g) (même éluant); et l'acide labdanolique (5 g) (éther-alcool 70:30).

#### Acide Cistène-3(4)-acétoxy-18 oïque-15 (XXIC)

5 g d'acide XXId brut en solution dans 50 ml de mélange isooctane-méthanol 99:1, sont placés sur une colonne de 100 g d'urée sèche finement pulvérisée.<sup>14</sup> Par élution avec le mélange isooctane-méthanol 99:1, on obtient 3,9 g d'acide cistène-3(4) acétoxy-18 oïque-15; le composé d'inclusion est décomposé par addition d'eau et on isole, par extraction à l'éther, 1 g de mélange d'acides aliphatiques saturés (RMN: pic à 8,73  $\tau$ ).

3,9 g de XXIC sont chromatographiés sur silicagel III, puis distillés. L'huile obtenue donne une tache unique en C.C.M. (benzène-éther 70:30):  $\text{Ebo}_{0,12} = 218\text{--}220^\circ$   $[\alpha]_D = +45,9$  ( $c = 1,01$ ) Spectre de masse: pic moléculaire à  $m/e = 364$ , fragments principaux à  $m/e = 304$  (M-60), 189 (M-175). ( $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_4 = 364\text{ Tr.}$  %: C, 72,87; H, 10,0; O, 17,05; Calc.: C, 72,49; H, 9,96; O, 17,56%). Spectre IR:  $\nu_{\text{C}=\text{O}}$  (acide)  $1710\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{\text{C}=\text{O}}$  (ester)  $1740\text{ cm}^{-1}$   $\nu_{\text{C}=\text{C}}$  1225, 1040,  $1020\text{ cm}^{-1}$ ; double liaison trisubstituée:  $1660\text{ cm}^{-1}$ . Spectre UV:  $\lambda_{\text{max}} = 205\text{ nm}$ ,  $\epsilon = 4500$ . Spectre de RMN:  $\text{CH}_3$ –5 8,90  $\tau$  (s);  $\text{CH}_3$ –9 9,24  $\tau$ ;  $\text{CH}_3$ –13 9,02  $\tau$  (d,  $J = 6\text{ c/s}$ );  $\text{CH}_3$ –8 9,26  $\tau$  (d,  $J = 6\text{ c/s}$ )  $\text{CH}_2(\text{OAc})$  5,42  $\tau$ ;  $(\text{OCO})\text{CH}_3$  7,93  $\tau$ ; proton éthylénique 4,32  $\tau$  (t).

*Saponification de L'acide Cistène-3(4) Acétoxy-18-oïque-15 (XXId)*

Une solution de 2 g de composé XXId dans 20 ml de KOH éthanolique à 10% est chauffée 2 hr à reflux. On évapore la plus grande partie de EtOH et dilue le résidu. La solution aqueuse est acidifiée avec HCl 15% et les acides libérés sont extraits à Et<sub>2</sub>O. On obtient 1,9 g d'acide cistène-3(4) hydroxy-18-oïque-15 huileux. Spectre IR:  $\nu_{OH}$  3630 cm<sup>-1</sup>;  $\nu_{C=O}$  1020 cm<sup>-1</sup>;  $\nu_{C=O}$  1710 cm<sup>-1</sup>; insaturation à 1660 cm<sup>-1</sup>. Spectre UV:  $\lambda_{max}$ : 205 nm,  $\epsilon$  = 4900. Spectre de RMN = CH<sub>3</sub>-5 8,88  $\tau$ ; CH<sub>3</sub>-9 9,24  $\tau$ ; CH<sub>3</sub>-13 9,02  $\tau$  (d,  $J$  = 6 c/s); CH<sub>3</sub>-8 9,26  $\tau$  (d  $J$  = 5,5 c/s) CH<sub>2</sub>(OH) 5,82  $\tau$  (s); proton éthylnique = 4,36  $\tau$  (t mal résolu).

*Déshydratation de L'acide Cistène-3(4) Hydroxy-18-oïque-15 (XXId)*

300 mg de XXId sont chauffés 20 mn à 170° sous atmosphère d'azote en présence de 600 mg de SO<sub>4</sub>KH. On reprend par l'eau le produit de réaction, puis extrait à Et<sub>2</sub>O. La solution étherique, séchée et concentrée, fournit 200 mg d'acide cistodène-1(2)-3(4) oïque-15 huileux qui est chromatographié sur silicagel II (benzène-éther 80:20). Spectre IR:  $\nu_{C=O}$  1708 cm<sup>-1</sup>; insaturation à 3030 cm<sup>-1</sup>; 1640-1585 cm<sup>-1</sup> ( $\nu_{C=O}$  diène), 1408-695 cm<sup>-1</sup> (double liaison disubstituée cis.) Spectre UV:  $\lambda_{max}$ : 212, 271 nm;  $\epsilon$  = 3800. Spectre de RMN: CH<sub>3</sub>-4 8,25  $\tau$ ; CH<sub>3</sub>-9 9,31  $\tau$ ; CH<sub>3</sub>-5 8,89  $\tau$ ; CH<sub>3</sub>-13 9,02  $\tau$ ; CH<sub>3</sub>-8 9,26  $\tau$  (d); protons éthylniques, série de pics de 3,90 à 4,55  $\tau$ .

*Réduction de l'Acide Cistène-3(4) Acétoxy-18-oïque-15 (XXId)*

A une solution de 150 mg AlLiH<sub>4</sub> dans 10 ml d'Et<sub>2</sub>O anhydre, on ajoute une solution de 350 mg de XXId dans 10 ml d'Et<sub>2</sub>O. Après 2 hr de reflux, le mélange est décomposé (AcOEt, puis HCl 10%) et extrait à Et<sub>2</sub>O. On isole, par chromatographie du résidu obtenu après concentration de la solution étherique (alumine neutre II: 30 g), 210 mg de cistène-3(4)-diol-15,18 XXIb. P.F. = 82-84° (éther isopropylique). Spectre de masse: pic moléculaire à  $m/e$ : 308, principal fragment à 207 (C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>-CH<sub>2</sub>OH). (C<sub>20</sub>H<sub>36</sub>O<sub>2</sub> = 306, Tr: C, 77,95; H, 11,65; O, 10,33. Calc. C, 77,86; H, 11,76; O, 10,37%). Spectre IR:  $\nu_{OH}$  3625 cm<sup>-1</sup>;  $\nu_{C=O}$  1045, 1020 cm<sup>-1</sup>; double liaison trisubstituée: 1670, 850 cm<sup>-1</sup>. UV:  $\lambda_{max}$  = 208 nm.;  $\epsilon$  = 3100. Spectre de RMN: CH<sub>3</sub>-5 8,88  $\tau$ ; CH<sub>3</sub>-9 9,24  $\tau$ ; CH<sub>3</sub>-13 9,08  $\tau$  (d,  $J$  = 6 c/s); CH<sub>3</sub>-8 9,25  $\tau$  (d,  $J$  = 5,5 c/s); CH<sub>2</sub>(OH) (chaîne) 6,32  $\tau$  (t,  $J$  = 6,5 c/s); CH<sub>2</sub>(OH) (cycle) 5,84  $\tau$  (s); proton éthylnique 4,39  $\tau$ .

*Acétate du Cistène-3(4) diol-15,18 (XXIb)*

50 mg de XXIb en solution dans 1,5 ml de (CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O, sont chauffés à reflux a hr en présence de 60 mg CH<sub>3</sub>COONa anhydre. On dilue puis extrait à l'Et<sub>2</sub>O. On obtient, par concentration de la solution étherique: 60 mg de cistène-3(4)-diacétoxy-15,18 huileux. Spectre IR:  $\nu_{C=O}$  1740 cm<sup>-1</sup>;  $\nu_{C=O}$  1235, 1040, 1020 cm<sup>-1</sup>; insaturation 1660 cm<sup>-1</sup>. Spectre de RMN: CH<sub>3</sub>-5 8,91  $\tau$ ; CH<sub>3</sub>-9 9,24  $\tau$ ; CH<sub>3</sub>-13 9,08  $\tau$  (d,  $J$  = 5,5 c/s); CH<sub>3</sub>-8 9,26  $\tau$  (d,  $J$  = 6 c/s); CH<sub>2</sub>(OAc) (chaîne) 5,90  $\tau$  (t,  $J$  = 6 c/s) CH<sub>2</sub>(OAc) cycle 5,43  $\tau$  (s); proton éthylnique: 4,34  $\tau$ .

*Acides Cistène-3(4) Hydroxy-18 oïque-15 XXIc et Cistène-3(4)-hydroxy-15-oïque-18 (XXIe)*

Dans la chromatographie de la fraction acide, on élue avec benzène-éther 80:20, un mélange d'hydroxy-acides XXIc et XXIe huileux qui est estérifié par le CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>; le mélange (1,9 g) d'esters méthyliques es chromatographié sur 70 g de silicagel imprégné de NO<sub>3</sub>Ag à 12%, d'activité II. On obtient 1 g de XXII et 600 mg de XXII.

*Cistène-3(4) carbométhoxy-15-hydroxy-18 XXIIh* Eb<sub>0,2</sub> = 206,5-209°. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> = +27,1° (c = 0,99). Spectre de masse: pic moléculaire à  $m/e$  = 336, principaux fragments à  $m/e$  = 218,305 (M-31), 275, 207. (C<sub>21</sub>H<sub>36</sub>O<sub>3</sub> = 336 Tr.: C, 74,90; H, 10,74; O, 14,15. Calc.: C, 74,95; H, 10,78; O, 14,26%). Spectre IR:  $\nu_{C=O}$  1740 cm<sup>-1</sup>;  $\nu_{C=O}$  1165 cm<sup>-1</sup>;  $\delta_{CH}$  (COOCH<sub>3</sub>) 1430 cm<sup>-1</sup>;  $\nu_{OH}$  3620 cm<sup>-1</sup>;  $\nu_{C=O}$  1030 cm<sup>-1</sup>; double liaison tri-substituée à 1660 cm<sup>-1</sup>. Spectre UV:  $\lambda_{max}$  = 206 nm,  $\epsilon$  = 5000. Spectre RMN: CH<sub>3</sub>-5 8,88  $\tau$ ; CH<sub>3</sub>-9 9,24  $\tau$ ; CH<sub>3</sub>-13 9,06  $\tau$  (d,  $J$  = 6 c/s); CH<sub>3</sub>-8 9,26  $\tau$  (d,  $J$  = 5,5 c/s); CH<sub>2</sub>(OH) 5,84  $\tau$  (s); OCH<sub>3</sub> 6,33  $\tau$ ; proton éthylnique 4,37  $\tau$  (t mal résolu).

*Saponification du Cistène-3(4) Carbométhoxy-15-hydroxy-18 (XXIIh)*

150 mg de XXIIh en solution dans 5 ml KOH éthanolique à 10% sont chauffés 2 hr à reflux. On isole 140 mg d'acide cistène-3 (4) hydroxy-8-oïque XXIc huileux. Spectre IR:  $\nu_{C=O}$  1710 cm<sup>-1</sup>;  $\nu_{OH}$  3620 cm<sup>-1</sup>;  $\nu_{C=O}$  1020 cm insaturation à 1660 cm<sup>-1</sup>. Spectre UV:  $\lambda_{max}$  = 205 nm;  $\epsilon$  = 4900. Spectre de RMN: CH<sub>3</sub>-5 8,88  $\tau$ ; CH<sub>3</sub>-9 9,24  $\tau$ ; CH<sub>3</sub>-13 9,06  $\tau$ ; CH<sub>3</sub>-8 9,26  $\tau$ ; CH<sub>2</sub>(OH) 5,82  $\tau$ ; proton éthylnique 4,36  $\tau$ .

*Acétate de l'Acide Cistène-3(4) Hydroxy-18-oïque-15 (XXIc)*

A une solution de 100 mg de XXIc dans 3 ml de pyridine, on ajoute 50 mg de (CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O. Après 12 hr à température ambiante, on obtient 100 mg d'acide cistène-3(4) acétoxy-18-oïque-15 qui sont distillés. Eb<sub>0,15</sub>: 220-221°. Spectre IR:  $\nu_{C=O}$  (acide) 1710 cm<sup>-1</sup>;  $\nu_{C=O}$  (ester) 1740 cm<sup>-1</sup>;  $\nu_{C=O}$  1225, 1040, 1020 cm<sup>-1</sup>; insaturation à 1660 cm<sup>-1</sup>. Spectre de RMN: CH<sub>3</sub>-5 8,90  $\tau$ ; CH<sub>3</sub>-9 9,24  $\tau$ ; CH<sub>3</sub>-13 9,03  $\tau$ ; (d); CH<sub>3</sub>-8 9,26  $\tau$ ; CH<sub>2</sub>(OH) 5,44  $\tau$ ; (-OCO)CH<sub>3</sub> 7,93  $\tau$ ; proton éthylnique: 4,33  $\tau$ .

*Cistène-3(4) Hydroxy-15 Carbométhoxy-18 (XXIi)*

600 mg de XXIi brut sont chromatographiés sur silicagel III, puis distillés en tube à boules.  $E_{b,2} = 209-212^\circ$ .  $[\alpha]_D = +50,1$  ( $c = 1,08$ ). Spectre de masse; pic moléculaire à  $m/e = 336$ , principaux fragments à  $m/e = 321$  (M-15); 305 (M-31); 235 ( $C_5H_{10} + CH_2OH$ ). ( $C_{21}H_{36}O_3 = 336$  Tr.: C, 74,45; H, 10,61; O, 14,74; Cal.: C, 74,95; H, 10,78; O, 14,26%). Spectre IR:  $\nu_{C=O} 1715\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{C-O} 1250, 1225, 1170\text{ cm}^{-1}$ ;  $\delta_{CH} (COOCH_3) 1425\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{OH} 3635\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{C-O} 1065, 1050\text{ cm}^{-1}$ ; double liaison trisubstituée conjuguée  $\nu_{C=C} 1635\text{ cm}^{-1}$ . Spectre UV:  $\lambda_{max} = 218\text{ nm}$ ,  $\epsilon = 6000$  Spectre de RMN:  $CH_3-5$  8,78  $\tau$ ;  $CH_3-9$  9,23  $\tau$ ;  $CH_3-13$  9,08  $\tau$  (d,  $J = 6\text{ c/s}$ );  $CH_3-8$  9,25  $\tau$  (d,  $J = 6\text{ c/s}$ ),  $CH_2(OH)$  6,28  $\tau$  (t,  $J = c/s$ ); proton éthylénique 3,49  $\tau$ . (t,  $J = 4\text{ c/s}$ ).

*Saponification du Cistène-3(4) Hydroxy-15 Carbométhoxy-18 (XXIi)*

120 mg de XXIi en solution dans 5 ml KOH/EtOH à 10% sont chauffés 1 hr à reflux, on isole 105 mg d'acide cistène-3(4) hydroxy-15-oïque-18 XXIe huileux. Spectre IR:  $\nu_{C=O} 1690\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{OH} 3620\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{C-O} 1060\text{ cm}^{-1}$ ; insaturation à  $1635\text{ cm}^{-1}$ . Spectre de RMN.  $CH_3-5$  8,78  $\tau$ ;  $CH_3-9$  9,23  $\tau$ ;  $CH_3-13$  9,08  $\tau$  (d,  $J = 6\text{ c/s}$ );  $CH_3-8$  9,25  $\tau$  (d,  $J = 6\text{ c/s}$ );  $CH_2(OH)$  6,32  $\tau$  (t,  $J = 6\text{ c/s}$ ); proton éthylénique 3,75  $\tau$ .

*Réduction du Cistène-3(4) Hydroxy-15 Carbométhoxy-8 (XXIi)*

150 mg de XXIi sont réduits avec 100 mg  $AlLiH_4$  en solution dans 20 ml d'éther anhydre (3 hr de reflux). On isole 130 mg de cistène-3(4) diol-15,18 XXIb qui sont chromatographiés sur 10 g de silicagel III.  $F = 83,5-85^\circ$  CCM (plaque  $SiO_2$  Merck, benzène-éther 80:20), même  $R_f$  que l'échantillon de référence de XXIb. Spectres IR et RMN: identiques.

*Acide Labdanolique*

Spectre IR.  $\nu_{C=O} 1710\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{OH} 3620\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{C-O} 1120\text{ cm}^{-1}$ ; gem-diméthyle  $\delta_{CH_3}$ :  $1390-1370\text{ cm}^{-1}$ . Ester méthylrique:  $F = 65-66,5$  (Litt.  $67-68^\circ$ )<sup>1</sup> Spectre IR (KBr):  $\nu_{OH} 3537\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{C-O} 1150, 1100\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{C=O} 1721\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{C-O} 1165\text{ cm}^{-1}$ ;  $\delta_{CH_3} (COOCH_3) 1430\text{ cm}^{-1}$ .

*Chromatographie des Composés Neutres*

100 g de fraction neutre ont été chromatographiés sur 2 kg de silicagel III. On isole successivement: un mélange de carbures aliphatiques saturés (20 g); un mélange d'esters aliphatiques saturés (2 g); un mélange d'esters d'acides aliphatiques insaturés et du  $\beta$ -sistostérol (2 g); un mélange d'alcools aliphatiques (4 g); le  $\beta$ -sistostérol (3 g), un mélange M des composés suivants (33 g). Le cistène-3(4) hydroxy-15 acétoxy-18 XXIf (27 g); esters d'alcools aliphatiques et de l'acide cistène-3(4) hydroxy-18-oïque-15 (1 g); le labdane-8 $\alpha$  hydroxy-15 acétoxy (5 g); le cistène-3(4) diol-15-18 (cistodiol) XXIb (17 g) et le labdane-8 $\alpha$ -15-diol (4 g).

*Séparation des Constituants du Mélange M*

Spectre IR: fonctions alcool et esters. Spectre de RMN: 5,40  $\tau$   $CH_2$  (OAc) cycle cistodiol; 6,30  $\tau$   $CH_2$  (OH) chaîne cistodiol; 5,88  $\tau$   $CH_2$  (OAc) chaîne labdanolique; 4,32  $\tau$  proton éthylénique cistodiol; 7,93 et 7,96  $\tau$   $CH_3$  (COO).

Acétylation de M. A 3,3 g de M en solution dans 15 ml de pyridine, on ajoute 1 g  $(CH_3CO)_2O$ . Après 24 hr à température ambiante, on obtient 3,4 g d'acétates qui sont chromatographiés sur 250 g de silicagel II-III; on isole 2 g d'un mélange M' de composés terpéniques et aliphatiques; 1,2 g de labdane-8 $\alpha$  hydroxy-15 acétoxy.

CCM. plaque silicagel Standard Merck; benzène-éther (70:30). même  $R_f$  que l'échantillon de référence. Spectre IR:  $\nu_{C=O}$  (ester)  $1740\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{C-O} 1235\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{OH} 3610\text{ cm}^{-1}$ ;  $\nu_{C-O} 1155, 1050\text{ cm}^{-1}$ ;  $\delta_{CH_3}$  (gem-diméthyle)  $1380, 1360\text{ cm}^{-1}$ . Spectre de RMN:  $CH_3-8$ : 8,86  $\tau$ ;  $CH_3-10$  9,20  $\tau$ ;  $CH_3-4$  9,12 et 9,20  $\tau$ ;  $CH_2$  (OAc) 5,88  $\tau$  (t);  $CH_3$  (COO) 7,96  $\tau$ .

*Saponification du Mélange M'*

1,3 g de mélange M' en solution dans 15 ml de KOH éthanolique à 15% sont chauffés 2 hr à reflux. On obtient 1,1 g de mélange (fraction neutre et fraction acide), qui sont chromatographiés sur 100 g de silicagel II-III. On isole 100 mg d'alcools aliphatiques; 700 mg d'acide cistène-3(4) hydroxy-18 oïque-15.

*Cistodiol (XXIb)*

Il cristallise dans les fractions éluées avec benzène-éther 90:10.

*CISTUS SALVIFOLIUS L.*

Il a été récolté début juin, 800 g de plante sèche (feuilles et petits rameaux) fournissent 15 g d'extract étherique.

*Séparation des Composés Aliphatiques à Chaîne Longue*

(a) 135 g d'extrait brut sont placés dans 400 ml d'Et<sub>2</sub>O et le mélange est agité puis filtré. Par concentration du filtrat, on obtient 121 g de résidu huileux E<sub>1</sub>. Spectre IR du précipité (KBr):  $\nu_{\text{C=O}}$  1730 cm<sup>-1</sup>;  $\nu_{\text{C-O}}$  1170 cm<sup>-1</sup>;  $\delta_{\text{CH}}$  715 et 730 cm<sup>-1</sup>. Spectre de RMN: protons méthyléniques 8,74  $\tau$  (signal très intense)

(b) 121 g de E<sub>1</sub> sont placés dans 350 ml d'EtOH. Le mélange est chauffé 1/2 hr à reflux, refroidi et filtré. On obtient 100 g d'extrait E<sub>2</sub>. Spectre IR du précipité:  $\nu_{\text{C=O}}$  1730 cm<sup>-1</sup>;  $\nu_{\text{C-O}}$  1170 cm<sup>-1</sup>. Spectre de RMN: protons éthyléniques 8,74  $\tau$  (signal intense).

*Séparation des Constituants Acides, Neutres et Phénoliques*

Une solution de 100 g d'extrait E<sub>2</sub> dans 700 d'Et<sub>2</sub>O est soumise à des lavages répétés avec une solution de CO<sub>3</sub>Na<sub>2</sub> 5%, puis une solution NaOH 5%. On sépare, avec CO<sub>3</sub>Na<sub>2</sub>, 5 g d'acides; avec NaOH, 35 g de phénols. Il reste, dans l'éther 57,7 g de composés neutres (extrait neutre).

Toutes les opérations de lavage ont été genées par d'abondantes émulsions qui ont pu être décantées par dilution progressive des 2 phases (organique et aqueuse) et grâce à une longue attente entre les lavages (12 à 24 hr).

*Fractionnement des Composés Neutres*

57 g d'extrait neutre sont chromatographiés sur 1,115 kg de silicagel II-III. On isole successivement: (1) à l'éther de pétrole: un mélange de *carbures aliphatiques* (5,7 g). Spectre IR: absence de fonction oxygénée. Spectre de RMN: pic intense à 8,75  $\tau$ . Puis un mélange de *carbures poly-isopréniques* (0,200 g) Spectre IR: absence de fonction oxygénée; bandes intenses à 3025, 1670, 970 cm<sup>-1</sup> (double liaison tri-substituée). Spectre RMN: méthyles 8,40 et 8,32  $\tau$ ; méthylènes 7,90 et 7,99  $\tau$ ; protons éthyléniques: massif centré à 4,78  $\tau$ .

(2) au mélange éther de pétrole-benzène (90:10) (a) Un mélange d'esters aliphatiques saturés (1 g) Spectre IR  $\nu_{\text{C=O}}$  1735 cm<sup>-1</sup>;  $\nu_{\text{C-O}}$  1175-1260 cm<sup>-1</sup>. Spectre de RMN: méthylènes 8,75  $\tau$  (signal intense); R-CH<sub>2</sub> (COOR') 7,18  $\tau$ ; (b) un mélange A d'esters d'acides aliphatiques insaturés et des alcools: phytol, isophytol, alcools aliphatiques,  $\beta$ -sitostérol, poly-isoprénols (14 g).

(3) Au mélange benzène-éther de pétrole (80:20).

Un mélange d'esters aliphatiques insaturés (1 g) Spectre IR:  $\nu_{\text{C=O}}$  1740 cm<sup>-1</sup>;  $\nu_{\text{C-O}}$  1160 cm<sup>-1</sup>; insaturation,  $\delta_{\text{CH}_2}$  3020;  $\nu_{\text{C=C}}$  1650 cm<sup>-1</sup>. Spectre de RMN: protons méthyléniques 8,73  $\tau$ ; protons éthyléniques 4,62  $\tau$  (t).

(4) Avec un mélange éther de pétrole-benzène (65:35), jusqu'au benzène pur: des esters d'acides aliphatiques insaturés et du  $\beta$ -sitostérol + alcool stérylique  $\pm$  isophytol (mélange B:14 g) puis:  $\beta$ -sitostérol + alcools aliphatiques (7 g).

(5) Avec le benzène et des mélanges benzène-éther: (10 g) de poly-esters d'acides aliphatiques insaturés.

*Mélange d'esters A*

Les fractions qui constituent le mélange A sont divisées en 2 groupes: les moins polaires constituent le mélange A1, les plus polaires, le mélange A2.

(1) *Mélange A1*. 2,8 g de A1 sont saponifiés par chauffage à reflux dans 75 ml KOH éthanolique à 10%, pendant 1 hr. On isole 1,7 g de fraction neutre A'1 et 0,800 g de fraction acide A'1.

*Chromatographie de la Fraction Neutre A'1*

1,2 g de A'1 sont chromatographiés sur 120 g de silicagel III-IV. On isole: 350 mg de mélange d'alcools aliphatiques insaturés Spectre IR:  $\nu_{\text{OH}}$  3640 cm<sup>-1</sup>. Spectre de RMN: protons méthyléniques 8,73  $\tau$ ; protons oléfiniques 4,63  $\tau$  (t). 500 mg de *phytol* Eb<sub>0,7</sub> = 145-160°, purifiés par passage sur une colonne d'urée sèche finement pulvérisée (20 g); élution avec l'isooctane (80 ml); rendement 300 mg de phytol Eb<sub>0,7</sub> = 158-160°. (C<sub>20</sub>H<sub>40</sub>O = 296 Tr.: C, 81,33; H, 13,29; O, 5,44; Calc.: C, 81,00; H, 13,60; O, 5,40.) Spectre IR:  $\nu_{\text{OH}}$  = 3620 cm<sup>-1</sup>;  $\nu_{\text{C-O}}$  1000 cm<sup>-1</sup>; double liaison trisubstituée 1670 cm<sup>-1</sup>;  $\delta_{\text{CH}_3}$  1365, 1380 cm<sup>-1</sup>. Spectre de RMN: méthyles 9,19 et 9,18  $\tau$ ; 8,33 et 8,28  $\tau$  (méthyles sur double liaison); CH<sub>2</sub>(OH) 5,86  $\tau$  (d); protons éthyléniques 4,58  $\tau$ , 60 mg d'isophytol.

(2) *Mélange A2*. 1,8 g de A2 sont saponifiés par reflux pendant 1 hr, dans 75 ml KOH éthanolique à 10%. On obtient 1 g de mélange A'2 d'alcools cristallisés et 0,600 g de mélange huileux A'2 d'acides.

1 g de A'2 sont chromatographiés sur 70 g de silicagel III-IV. On isole 0,700 g de  $\beta$ -sitostérol P.F. 136-137°; 0,080 g de *phytol* (identifié par ses spectres IR et RMN) 0,150 g de *pistaciaprénoles* (alcools polyisopréniques en C<sub>55</sub> et C<sub>60</sub>). Spectre IR:  $\nu_{\text{OH}}$  3620 cm<sup>-1</sup>; bandes intenses caractéristiques d'une double liaison tri-substituée 3025, 1660, 830 cm<sup>-1</sup>. Spectre de RMN: méthyles 8,30  $\tau$  (*cis*), 8,38  $\tau$  (*trans*); méthylènes 7,92, 7,98  $\tau$ ; CH<sub>2</sub>(OH) 5,91  $\tau$  (d); protons oléfiniques 4,82  $\tau$ .

*Acétate*. 100 mg de *pistaciaprénoles* sont estérifiés par (CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>OO. On isole 100 mg d'acétate de *pistacia* prénoles huileux, donnant une tache unique en CCM.

*CCM à éluions multiples.* Plaque silicagel Merck standard. 4 éluions avec le mélange éther de pétrole-benzène 90:10. Les acétates sont comparés avec un échantillon de référence d'acétate de pistaciaprénois; on obtient 2 taches (la première, d'intensité faible, la seconde de forte intensité) ayant même  $R_f$  que deux des taches données par les acétates de référence (alcools en  $C_{55}$  et  $C_{60}$ ) Spectre IR:  $\nu_{C=O}$  1740  $cm^{-1}$ ,  $\nu_{C-O}$  1230  $cm^{-1}$ ; double liaison trisubstituées 3025, 1660, 830  $cm^{-1}$ . Spectre de RMN: méthyles 8,30 et 8,38  $\tau$ ; méthylènes 7,93 et 7,98  $\tau$ ;  $-CH_3(OCO)$  7,98  $\tau$ ;  $-CH_2(OCOCH_3)$  5,41  $\tau$  (d); protons oléfiniques, massif centré à 4,85  $\tau$ .

### Mélange B

*Alcool stérylique.* Il cristallise directement dans le mélange: P.F. = 65–66° (pas de dépression avec un échantillon de référence). Spectre IR:  $\nu_{OH}$  3620  $cm^{-1}$ ;  $\nu_{C-O}$  1050  $cm^{-1}$ . Spectre de RMN.: protons méthyléniques 8,73  $\tau$  (intense);  $CH_2(OH)$  6,32 (t). ( $C_{18}H_{36}O$  = 268 Tr.: C, 80,55; H, 13,96; O, 5,67; Calc. C, 80,55; H, 13,52; O, 5,96)

*Isophytol.* 3 g de mélange B sont distillés. On obtient 500 mg d'isophytol qui est redistillé  $E_{b,6}$  = 152–155°. ( $C_{20}H_{40}O$  = 296 Tr.: C, 81,68; H, 13,21; O, 5,10, Calc.: C, 81,00, H, 13,60; O, 5,39.)

*Esters d'acides aliphatiques et du  $\beta$ -sitostérol.* 2 g de B débarrassés de l'isophytol sont saponifiés par reflux pendant 1/2 hr, dans 100 ml KOH éthanolique 5%. On obtient 500 mg de composés neutres et 1,4 g d'acides.

La fraction alcool est constituée essentiellement de  $\beta$ -sitostérol (comparaison en CCM). Le mélange d'acides est estérifié par le  $CH_2N_2$ ; le mélange C d'esters méthyliques donne une tache en CCM sur silicagel et 2 taches en CCM sur silicagel- $NO_3Ag$ , ayant respectivement même  $R_f$  que l'oléate et le linoléate de méthyle

*Chromatographie en phase gazeuse.* Support, Apiezon L. température colonne 250° injecteur 290°; détecteur 280°. On obtient 2 pics principaux intensifiés par co-injection avec le palmitate de méthyle et les esters d'acides en C-18 (stéarique, oléique, linoléique, linolénique). Spectre de masse pics importants à  $m/e$  = 294, 298, 270.

*Chromatographie sèche des esters C.* 1,4 g de mélange C distillé ( $E_{b,5}$  = 130–150°) sont chromatographiés par la méthode sèche sur 135 g de silicagel comportant 15% de  $NO_3Ag$  et désactivés par addition de 10% d'eau; éluant: hexane-éther 65:35. On sépare 2 fractions huileuses.

*Esters  $C_1$*  (1,10 g). Spectre IR:  $\nu_{C=O}$  1730  $cm^{-1}$ ;  $\nu_{C-O}$  1170  $cm^{-1}$ ; double liaison disubstituée 3010  $cm^{-1}$ , 1650  $cm^{-1}$ , 710  $cm^{-1}$ . Spectre de RMN: méthylènes 8,74  $\tau$ ;  $(R-COO)CH_3$  6,33  $\tau$ ;  $-CH_2(-COOCH_3)$  7,22  $\tau$  (t); protons allyliques 7,69 et 7,82  $\tau$ , protons éthyléniques 4,65  $\tau$  (t).

*Ester  $C_2$*  (200 mg). Spectre IR:  $\nu_{C=O}$  1730  $cm^{-1}$ ; 1130  $cm^{-1}$ ; double liaison disubstituée 3015, 1650, 950, 710  $cm^{-1}$ . Spectre UV  $\lambda_{max}$  = 233 n.m.,  $\epsilon$  = 3600. Spectre de RMN: méthylènes 8,52 8,59 8,63 8,70 8,75  $\tau$ ,  $(R-COO)CH_3$  6,33  $\tau$ ;  $-CH_2-(CO_2CH_3)$  7,18  $\tau$ ; protons oléfiniques 4,63  $\tau$  (t; 6 protons).

*Hydrogénation de  $C_2$ .* 0,150 g de  $C_2$  en solution dans 10 ml MeOH sont hydrogénés en présence de 65 mg de  $PtO_2$ . Après élimination du catalyseur et du solvant, l'ester hydrogéné cristallise. F: 34–35°—pas d'abaissement avec le stéarate de méthyle. ( $C_{19}H_{40}O_2$ . Tr.: C, 76,12; H, 13,10; O, 10,93; Calc.: C, 75,92; H, 13,42; O, 10,65%). Spectre IR:  $\nu_{C=O}$  1735  $cm^{-1}$ ;  $\nu_{C-O}$  1170  $cm^{-1}$ . Spectre de RMN: méthylènes 8,73  $\tau$ ;  $-CH_2(COOCH_3)$  7,70  $\tau$ ; pas de protons oléfiniques.

*Remarque*—les fractions acides A'1 et A'2 (provenant du mélange A) donnent, après estérification avec le  $CH_2N_2$  un spectre de masse semblable à celui du mélange B'.

*Remerciements*—Nous remercions vivement Mr. le Professeur R. Salgues, de l'Institut de Botanique de Montpellier qui mis à notre service ses profondes connaissances en botanique.