

## SUR LA BIOSYNTHÈSE DES QUASSINOÏDES DE *SIMARUBA GLAUCA* (SIMARUBACEAE)

JACQUELINE MORON, MARIE-ANNICK MERRIEN et JUDITH POLONSKY

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

(Received 26 May 1970)

**Résumé**—Nous rapportons les expériences d'incorporation de l'acide mévalonique spécifiquement tritié en position 2 ou 4 dans la glaucarubolone (Ia) et la glaucarubinone (Ib), constituants amers de *Simaruba glauca* (Simarubaceae). Les résultats d'incorporation de l'acide [4R-4T, 5-<sup>14</sup>C]-mévalonique montrent que deux atomes de tritium sont retenus dans la glaucarubolone (Ia): en position 5 et 9. La rétention du tritium en cette dernière position exclut l'hypothèse d'un précurseur triterpénique tétracyclique possédant une double liaison  $\Delta^{8(9)}$  et rend celle d'un précurseur ayant un cyclopropane en 9,10 peu probable. L'expérience avec l'acide DL[2-T]-mévalonique montre que sur les trois atomes de tritium (en position 1, 7 et 15), prévus d'après le schéma de biogénése, deux sont éliminés dans la glaucarubolone radioactive: ceux en position 1 et 15. L'acide [2S-2T, 5-<sup>14</sup>C]-mévalonique ainsi que l'acide [2R-2T, 5-<sup>14</sup>C]-mévalonique sont incorporés dans la glaucarubolone. La plus importante incorporation du premier indique que l'atome de tritium retenu en position 7 dans la glaucarubolone dérive du proton  $7\beta$  du précurseur triterpénique.

**Abstract**—We report the incorporation of mevalonic acid specifically tritiated at C-2 or C-4 into glaucarubolone (Ia) and glaucarubinone (Ib), the bitter constituents of *Simaruba glauca* (Simarubaceae). Glaucarubolone (Ia) biosynthesized from [4R-4T, 5-<sup>14</sup>C] mevalonic acid retains two tritium atoms at C-5 and C-9. The retention of tritium at C-9 excludes the involvement of a triterpenic precursor with a  $\Delta^{8(9)}$  double bond and makes that of a 9,10-cyclopropane precursor unlikely. The experiment with DL[2-T]-mevalonic acid shows that out of the three tritium atoms (at C-1, C-7 and C-15) predicted by the biogenetic scheme, two (C-1 and C-15) have been eliminated in the radioactive glaucarubolone. Both the [2S-2T, 5-<sup>14</sup>C]- and the [2R-2T, 5-<sup>14</sup>C]-mevalonic acid are incorporated in glaucarubolone. The predominant incorporation of the former indicates that the tritium atom retained at C-7 of glaucarubolone is derived from the  $7\beta$  proton of the triterpenic precursor.

### INTRODUCTION

DANS des communications précédentes,<sup>1</sup> nous avons rapporté l'étude de la biosynthèse de la glaucarubolone,  $C_{20}H_{26}O_8$ , (Ia) et de la glaucarubinone,  $C_{25}H_{34}O_{10}$ , (Ib), constituants amers de *Simaruba glauca* (Simarubaceae). Ces 'quassinoïdes', dont nous avons prouvé l'origine triterpénique à l'aide des acides DL(2-<sup>14</sup>C)- et DL(5-<sup>14</sup>C)-mévaloniques, se formeraient par dégradation oxydative d'un triterpène tétracyclique du type apoeuphol (IIa) ou apo-tirucallol (IIb).<sup>2</sup>

Deux hypothèses avaient été envisagées pour la biogénése de ce précurseur triterpénique; celui-ci se formerait: (a) directement, par cyclisation du squalène via l'intermédiaire cationique (III) et la perte consécutive d'un proton en C-15;<sup>3,4</sup> (b) à partir du  $\Delta^7$ -euphol (butyrospermol) (IVa) ou du  $\Delta^7$ -tirucallol (IVb) par un 'réarrangement apoeuphol' au cours duquel le méthyle en C-14 reviendrait en C-8.<sup>4</sup> De tels réarrangements ont été réalisés *in vitro*, notamment par transposition de l' $\alpha$ -époxyde-7,8 de divers dérivés du  $\Delta^7$ -tirucallol.<sup>5,6</sup>

<sup>1</sup> (a) J. MORON, J. RONDEST et J. POLONSKY, *Experientia* 22, 511 (1966).

(b) J. MORON et J. POLONSKY, *Tetrahedron Letters* 385 (1968); J. MORON, Thèse, Orsay, France, (1967).

<sup>2</sup> J. POLONSKY, *Planta Med. Suppl.* 108 (1966) et les références qui y sont citées.

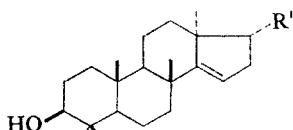
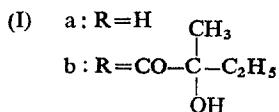
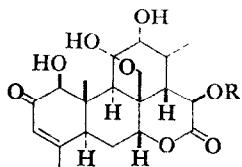
<sup>3</sup> G. P. MOSS, *Planta Med. Suppl.* 86 (1966).

<sup>4</sup> G. P. COTTEREL, T. G. HALSALL et M. J. WRIGLESWORTH, *Chem. Commun.* 1121 (1967).

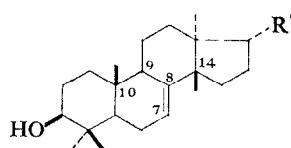
<sup>5</sup> J. G. ST. C. BUCHANAN et T. G. HALSALL, *Chem. Commun.* 242 (1969).

<sup>6</sup> D. LAVIE et E. C. LEVY, *Tetrahedron Letters* 2097 (1968).

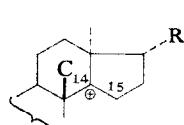
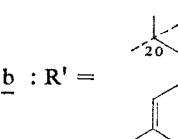
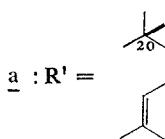
Quant au  $\Delta^7$ -euphol (IVa) [ou  $\Delta^7$ -tirucallol (IVb)], il peut se former soit par élimination d'un proton en C-7 du carbocation (V) résultant de la cyclisation du squalène, soit par isomérisation enzymatique de l'euphol (IVa) [ $\Delta^{8(9)}$ ] (ou de son diastéréoisomère en C-20, le tirucallol) ou encore par isomérisation d'un composé ayant un cyclopropane en position 9, 10.



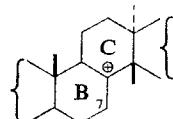
(II)



(IV)



(III)



(V)

Pour apporter quelques précisions sur le mode de formation du précurseur triterpénique des quassinoides, nous avons étudié l'incorporation dans la glaucarubolone (Ia) et la glaucarubinone (Ib) de l'acide mévalonique spécifiquement tritié en position 2 ou 4.

Les résultats de cette étude font l'objet du présent mémoire.

## RÉSULTATS

### Incorporation de l'Acide [4R-4T, 5-<sup>14</sup>C] Mévalonique ( $T = ^3H_1$ ) (VI)

Nous avons montré précédemment<sup>1b</sup> que, conformément au schéma de biogénèse des triterpènes, la glaucarubolone (Ia) et la glaucarubinone (Ib) biosynthétisées à partir de l'acide [5-<sup>14</sup>C]-mévalonique possédaient 5 atomes de carbone radioactifs (C-2, C-6, C-11, C-12 et C-16). Biosynthétisées à partir de l'acide [4R-4-T]-mévalonique, elles devraient, si

tous les atomes de tritium étaient retenus, comporter 3 atomes d'hydrogène radioactifs : H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub> et H<sub>9</sub> (voir protons encerclés, Schéma 1). Le rapport atomique (r.a.) T/<sup>14</sup>C dans les composés (Ia) et (Ib), obtenus après incorporation de ces deux acides mévaloniques, devrait donc être 3:5.

De jeunes plantules de *Simaruba glauca* ont été mises à pousser en présence de l'acide [4R-4-T, 5-<sup>14</sup>C] mévalonique (VI) (0,1 mc; T/<sup>14</sup>C = 13,1). On isole, au bout de 8 jours, la glaucarubolone (Ia) et la glaucarubinone (Ib) radioactives qui, après addition d'entraineur et cristallisation jusqu'à radioactivité constante, présentent respectivement des rapports T/<sup>14</sup>C de 5,06 et 5,4.

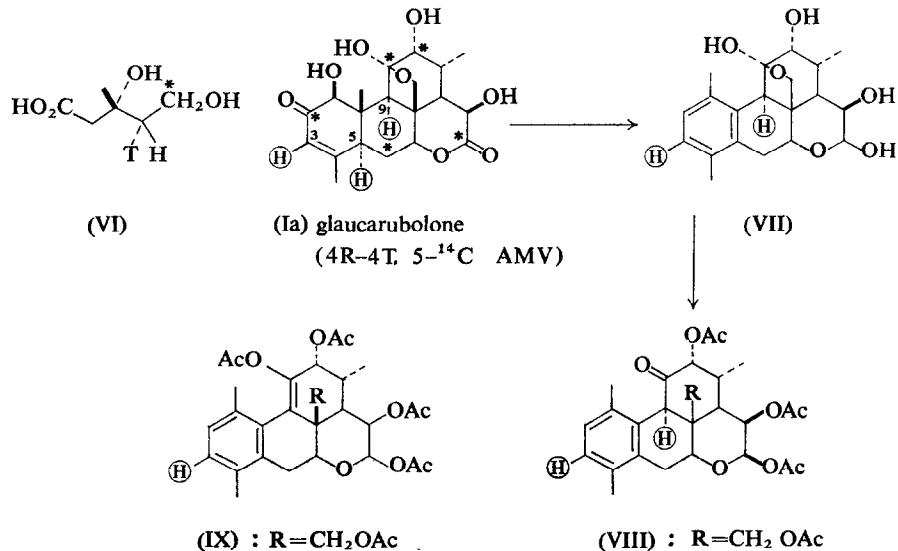


SCHÉMA 1.

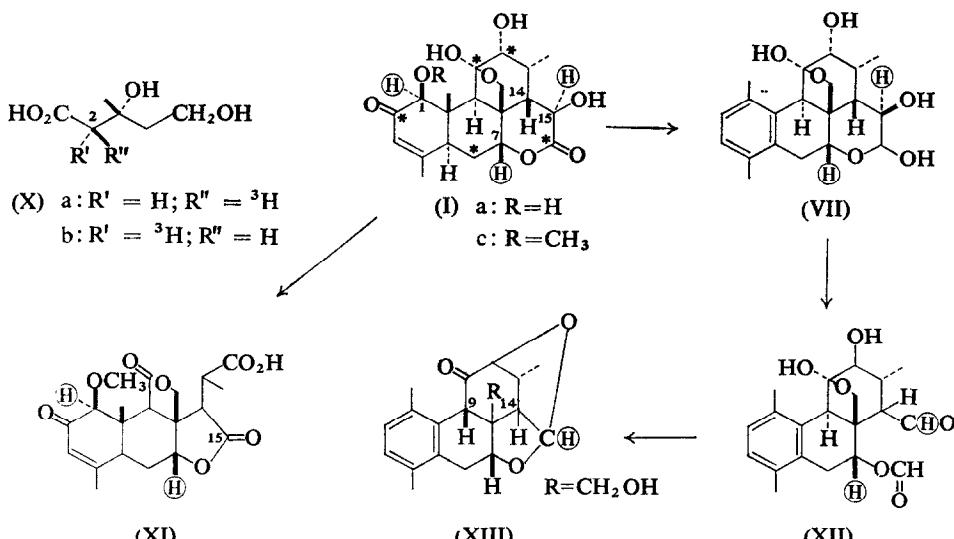


SCHÉMA 2.

Les valeurs des rapports atomiques (r.a.)  $T/^{14}C$  de la glaucarubolone (Ia) et de la glaucarubinone (Ib) (voir Tableau 1)\* indiquent la présence de deux atomes de tritium dans ces molécules.

Afin de localiser la radioactivité, nous avons dégradé la glaucarubolone (Ia) selon les réactions présentées dans le Schéma 1.

La réduction de la glaucarubolone (Ia) par l'hydrure double de sodium et de bore suivie d'un traitement par des acides dilués conduit au dihydroglaucanol (VII) ayant le cycle A benzénique et dans lequel la fonction lactone a été réduite en hémi-acétal.<sup>7</sup> La diminution du rapport atomique  $T/^{14}C$  du dihydroglaucanol (VII) (Tableau 1) est en accord avec l'élimination dans ce composé de l'un des deux atomes de tritium présents dans la glaucarubolone (Ia). La valeur du rapport  $T/^{14}C$  du tétraacétate (VIII), obtenu par acétylation douce du dihydroglaucanol (VII),<sup>7</sup> confirme ce résultat. L'atome de tritium éliminé dans ces deux composés doit être celui en position 5.<sup>†</sup>

TABLEAU 1

Composés	Expérience : MVA							
	[4R-4T, 5- $^{14}C$ ]-	DL[2-T]-	[2R-2T, 5- $^{14}C$ ]-	[2S-2T, 5- $^{14}C$ ]-				
	T/ $^{14}C$	r.a.	Activité spécifique dis/min/mM	T/ $^{14}C$	r.a.	T/ $^{14}C$	r.a.	
Acide mévalonique	13,1	1:1		9,95	1:1	10,4	1:1	
Glaucarubolone (Ia)	5,06	1,93:5	(a) $2,18 \times 10^5$ (b) $1,99 \times 10^5$	0,70	0,35:5	1,44	0,70:5	
Glaucarubinone (Ib)	5,4	2,06:5				1,60	0,77:5	
Dihydroglaucanol (VII)	3,32	1,27:5	(b) $1,91 \times 10^5$					
Tetraacétate (VIII)	3,27	1,24:5						
Pentaacétate (IX)	0,18	0,07:5						
O-méthyl-1 glaucarubolone (Ic)			(a) $2,01 \times 10^5$	0,69	0,34:5	1,41	0,68:5	
Nor-acide (XI)			(a) $1,93 \times 10^5$	0,93	0,37:4	2,05	0,78:4	
Acétal nor-glaucar- nolique (XIII)			(b) $1,89 \times 10^5$					

L'acétylation du dihydroglaucanol (VII) dans des conditions plus énergiques conduit au pentaacétate (IX).<sup>7</sup> La valeur du rapport  $T/^{14}C$  de cet énol-acétate montre que l'élimination du proton en position 9 est accompagnée de la perte pratiquement totale de tritium dans la molécule.

Ces résultats montrent que deux atomes de tritium sont retenus dans la glaucarubolone après incorporation de l'acide [4R-4T, 5- $^{14}C$ ] mévalonique: ceux en position 5 et 9.

L'absence du tritium en position 3 constitue un argument en faveur de l'hypothèse selon laquelle la perte du méthyle  $\alpha$ -équatorial en C-4<sup>‡</sup> du précurseur triterpénique procéderait

\* N'ayant pas isolé des précurseurs en  $C_{30}$ , nous avons calculé les rapports atomiques  $T/^{14}C$  sur la base de celui de l'acide mévalonique.

† Notons que les protons en position 3 et 9 ne sont pas échangés par le deutérium lorsque l'aromatisation du cycle A est effectuée en milieu deutérié ( $DCl$ ,  $D_2O$ ).<sup>7</sup>

‡ Il avait été montré que le méthyle en C-4 des quassinoides dérive du groupement méthyle de l'acide mévalonique.<sup>1a</sup>

<sup>7</sup> J. POLONSKY, C. FOUCHEY et A. GAUDEMER, Bull. Soc. Chim. 1818 (1964)

via un composé ayant un carbonyle en C-3 (décarboxylation d'un  $\beta$ -céto-acide)<sup>8</sup> (voir aussi Réf. 9).

La rétention du tritium en position 9 exclut l'hypothèse d'un précurseur triterpénique possédant une double liaison  $\Delta^{8(9)}$  ou un cyclopropane C-9/C-10.\*

Ces résultats ne permettent pas de trancher entre les deux hypothèses (a et b) de biogénèse du précurseur triterpénique des quassinoïdes. Ils montrent seulement que le  $\Delta^7$ -euphol (IVa) [ou le  $\Delta^7$ -tirucallol (IVb)], précurseur présumé selon la deuxième hypothèse, devrait se former par élimination d'un hydrogène en C-7 de l'intermédiaire cationique (V) et non pas par isomérisation de l'euphol (IVa) [ $\Delta^{8(9)}$ ] ou d'un composé ayant un cyclopropane en C-8/C-10.\*

Afin de préciser la stéréochimie de l'élimination éventuelle de cet hydrogène, nous avons étudié l'incorporation des acides [2R-2T+2S-2T]-, [2R-2T, 5-<sup>14</sup>C]- et [2S-2T, 5-<sup>14</sup>C]-mévalonique.

#### *Incorporation de l'Acide [2R-2T+2S-2T] Mévalonique (Xa) et (Xb)*

Il a été montré antérieurement<sup>1</sup> que les carbones C-1, C-7 et C-15 de la glaucarubolone dérivent spécifiquement de l'acide [2-<sup>14</sup>C] mévalonique; les hydrogènes H<sub>1</sub>, H<sub>7</sub> et H<sub>15</sub> (protons encerclés sur formule (I) du schéma 2) peuvent donc provenir d'un des hydrogènes en position 2 de l'acide mévalonique. Après incorporation de l'acide DL[2-T] mévalonique dans de jeunes pousses de *Simaruba glauca*, on isole la glaucarubinone (Ib) et la glaucarubolone (Ia) radioactives. Cette dernière a été dégradée selon les réactions présentées dans le schéma 2. Les valeurs de radioactivité sont consignées dans le tableau.†

L'action de diazométhane sur la glaucarubolone (Ia) fournit l'O-méthyl-1 glaucarubolone (Ic).<sup>10</sup> L'oxydation de cette dernière par l'acide chromique<sup>11</sup> s'accompagne d'un dégagement de CO<sub>2</sub> et conduit à l'acide- $\gamma$ -lactone (XI).<sup>11</sup>

La radioactivité de ce nor-acide (XI) ainsi que celle du dihydroglaucanol (VII) (préparé comme décrit ci-dessus) est tout à fait comparable à celle de la glaucarubolone de départ. Ce résultat prouve l'absence d'atome de tritium en position 1 et 15; toute la radioactivité de la glaucarubolone doit donc être localisée en position 7.‡

Nous avons tenu à vérifier l'absence de tritium en C-14, car la migration d'un atome de tritium de C-15 en C-14 lors de la stabilisation du carbocation intermédiaire (III) est concevable. Dans ce but nous avons traité l'aldéhyde-formiate (XII), préparé par oxydation du dihydroglaucanol par l'acide périodique, par l'acide chlorhydrique deutérié (DCl). On obtient ainsi l'acétal nor-glaucanolique (XIII), dans lequel les protons H<sub>9</sub> et H<sub>14</sub> ont été échangés par le deutérium.<sup>12</sup> Les valeurs de la radioactivité des composés (VII) et (XIII) sont tout à fait comparables, ce qui permet de conclure à l'absence de tritium en position 14.

\* Cette dernière conclusion est seulement valable dans le cas où il n'est pas tenu compte de la possibilité d'une nouvelle migration de tritium de C-8 en C-9 lors de l'ouverture du cyclopropane. Nous remercions le lecteur de ce manuscrit d'avoir attiré notre attention sur cette restriction.

† L'activité spécifique de la glaucarubolone a été mesurée après des dilutions différentes (a et b) par la glaucarubolone non radioactive. Les valeurs de radioactivité des produits de dégradation sont suivies de (a) ou de (b), selon qu'ils dérivent de l'une ou de l'autre glaucarubolone.

‡ Malgré de nombreux essais, nous n'avons pas réussi à éliminer l'hydrogène en cette position.

<sup>8</sup> W. L. MILLER, M. E. KALAFER, J. L. GAYLOR et C. V. DELWICHE, *Biochemistry* 6, 2673 (1967).

<sup>9</sup> E. L. GHISALBERTI, N. J. DE SOUZA, H. H. REES, L. J. GOAD et T. W. GOODWIN, *Chem. Commun.* 1403 (1969).

<sup>10</sup> A. GAUDEMÉR, J. L. FOURREY et J. POLONSKY, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 5, 1676 (1967).

<sup>11</sup> K. BOWDEN, I. M. HEILBRON, E. R. H. JONES et B. C. L. WEEDON, *J. Chem. Soc.* 39 (1946).

<sup>12</sup> A. GAUDEMÉR, Thèse, Orsay, France (1965).

Un échange des atomes de tritium en position 1 et 15 de la glaucarubolone au cours de l'extraction nous semble peu probable. L'absence de tritium en C-1 pourrait s'expliquer par la présence antérieure d'un carbonyle en C-1. L'absence de tritium en C-15 est bien plus surprenante; le stade auquel il a pu être éliminé reste à déterminer.

*Incorporation de l'Acide [2R-2T, 5-<sup>14</sup>C]-Mévalonique (Xa) et Incorporation de l'Acide [2S-2T, 5-<sup>14</sup>C]-Mévalonique (Xb)*

Compte tenu des travaux sur la stéréochimie de la biosynthèse du squalène<sup>13</sup> ainsi que du mécanisme de cyclisation de ce dernier,<sup>14</sup> ce sont les hydrogènes 7 $\alpha$  et 7 $\beta$  du produit cyclisé qui dérivent spécifiquement des hydrogènes pro-R et pro-S en C-2 de l'acide mévalonique.

Afin de savoir quel atome d'hydrogène en C-7 du précurseur est éliminé lors de la biosynthèse des quassinoïdes, nous avons effectué deux expériences parallèles: l'une consistait à incorporer dans de jeunes plantules de *Simaruba glauca* l'acide [2R-2T, 5-<sup>14</sup>C]-mévalonique (Xa) et l'autre l'acide [2S-2T, 5-<sup>14</sup>C]-mévalonique (Xb). Les valeurs des rapports T/<sup>14</sup>C de la glaucarubolone et de ses dérivés obtenus après incorporation de ces deux acides mévaoniques sont consignés dans le tableau. Dans les deux cas on constate une incorporation de tritium dans la glaucarubolone (Ia). La perte de stéréospécificité, déjà signalée par d'autres,<sup>15</sup> peut s'expliquer par la reversibilité de la réaction d'isomérisation du pyrophosphate de diméthylallyle en pyrophosphate d'isopentényle.<sup>16</sup>

L'incorporation la plus importante est celle de l'acide [2S-2T]-mévalonique; l'atome de tritium retenu en position 7 dans la glaucarubolone dérive donc probablement du proton 7 $\beta$  du précurseur triterpéique.

L'absence de tritium en position 15 dans la glaucarubolone, isolée de ces deux expériences, se trouve confirmée par la valeur du rapport atomique T/<sup>14</sup>C du nor-acide (XI) qui ne possède que 4 atomes de carbone radioactif.

#### PARTIE EXPERIMENTALE

Les points de fusion de ce travail, pris avec l'appareil de Kofler, ne sont pas corrigés. Les spectres de résonance magnétique nucléaire (R.M.N.) ont été mesurés avec un spectromètre Varian A-60 Mc. Les déplacements chimiques comptés à partir de la raie du tétraméthylsilane prise comme zéro de référence sont exprimés en ppm. Les spectres de masse ont été enregistrés sur un spectromètre de masse MS-9 (A.E.I.). Les chromatographies en couche mince (CCM) ont été effectuées sur des couches de gel de silice G (Merck). La révélation est faite par pulvérisation d'acide sulfurique à 50% suivie de chauffage vers 200°. Les échantillons radioactifs sont pesés sur une microbalance Mettler modèle M5 SA/M5.

Les mesures de radioactivité ont été effectuées sur un compteur à scintillation "Nuclear Chicago" modèle 6.860 équipé d'un dispositif de standardisation externe. Les échantillons radioactifs ont été dissous dans 15 ml de solution de toluène scintillant [4 g de diphenyl-2,5 oxazole, 300 mg de 1,4-bis, 2-(4 méthyl-5-phényl-oxazolyl)-benzène pour 1 l. de toluène sec non dégazé]. Les échantillons insolubles dans le toluène ont été dissous dans 1 ml de dioxane.

Les graines fraîches de *Simaruba glauca* nous ont été fournies par les Ets H. de Sola e Hijos (El Salvador) et ont été mises à germer au Phytotron (C.N.R.S., Gif-sur-Yvette). Les lactones DL-(2-T) mévalonique, (2R) (2-T) mévalonique et (2S) (2-T) mévalonique proviennent du "Radiochemical Center", Amersham (Angleterre); la lactone DL-(5-<sup>14</sup>C) mévalonique provient du Commissariat à l'Energie Atomique, Saclay (France).

La culture des plantes, l'administration des précurseurs et l'isolement des constituants amers ont été effectués comme il a été décrit précédemment<sup>17</sup>

<sup>13</sup> G. POPJAK et J. W. CORNFORTH, *Biochem. J.* **101**, 553 (1966).

<sup>14</sup> A. ESCHENMOSER, L. Ruzicka, O. Jeger et D. Arigoni, *Helv. Chim. Acta* **38**, 1890 (1955).

<sup>15</sup> A. R. H. SMITH, L. J. GOAD et T. W. GOODWIN, *Chem. Commun.* 926 (1968).

<sup>16</sup> P. W. HOLLOWAY et G. POPJAK, *Biochem. J.* **106**, 835 (1968).

<sup>17</sup> J. MORON, J. POLONSKY et A. MERRIEN, *European J. Biochem.* **3**, 488 (1968).

*Incorporation de l'Acide [4R-4T, 5-<sup>14</sup>C]-Mévalonique (VI)*

60 plantules de *Simaruba glauca* possédant encore leurs cotylédons sont placées dans 5 bechers contenant 10 ml d'eau. On y ajoute un mélange d'acides [4R-4T] mévalonique (1 mc) et DL-[5-<sup>14</sup>C] mévalonique (0,1 mc) dont le rapport T/<sup>14</sup>C est 13,1. Au bout de 8 jours les plantes sont récoltées et les constituants amers sont isolés de la façon habituelle.<sup>17</sup> La chromatographie de 620 mg de produit ainsi obtenu fournit 250 mg de glaucarubinone (Ib) et 160 mg de glaucarubolone (Ia), brutes. Après trois cristallisations dans le chloroforme la glaucarubinone (Ib) présente une radioactivité constante:  $1,8 \times 10^6$  dis/min <sup>14</sup>C/mM ; T/<sup>14</sup>C = 5,4. La glaucarubolone (Ia), purifiée, après addition d'entraineur, par chromatographie et 3 cristallisations dans l'acétate d'éthyle jusqu'à radioactivité constante, présente le rapport T/<sup>14</sup>C = 5,06.

*Dihydroglauconol (VII).* 51 mg de glaucarubolone (Ia) ( $2,4 \times 10^5$  dpm <sup>14</sup>C/mM; T/<sup>14</sup>C = 5,06) dissous dans 2,5 ml de méthanol sont additionnés d'une solution de 160 mg de NaBH<sub>4</sub> dans 0,5 ml d'eau. Au bout de 1 hr d'agitation à la température ambiante, on ajoute de l'eau et on évapore le méthanol sous pression réduite. Après acidification avec H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4N (jusqu'à pH 4) on chauffe à reflux pendant 1 hr; on extrait ensuite en continu par le chloroforme pendant 3 hr; on obtient 47 mg de produit que l'on chromatographie sur une colonne d'acide silicique-célite (3:1). La colonne est développée par le chloroforme contenant des proportions croissantes de méthanol. Le mélange chloroforme-méthanol (7:3) élue 28 mg de dihydroglauconol qui cristallise dans l'acétate d'éthyle, F = 215-220°; CCM: R<sub>f</sub> 0,89  $\times$  R<sub>f</sub> glaucarubolone (chloroforme-méthanol 15%). Après deux cristallisations, le dihydroglauconol (VII) présente une radioactivité constante:  $2,2 \times 10^5$  dis/min <sup>14</sup>C/mM ; T/<sup>14</sup>C = 3,32.

*Tetraacétate (VIII).* 22 mg de dihydroglauconol sont additionnés de 0,2 ml de pyridine et de 0,4 ml d'anhydride acétique. Après 12 hr de contact on isole le produit de la réaction de la manière habituelle. On obtient ainsi 31 mg de produit. Après addition de 9 mg de tetraacétate non radioactif, on chromatographie sur 2 g de silicate de Mg/célite (2:1). Le mélange benzène-éther (1:1) élue 19 mg de tétraacétate (VIII)<sup>7</sup> qui après deux cristallisations dans l'éther présente le rapport T/<sup>14</sup>C = 3,27.

*Pentaacétate (IX).* 57 mg de dihydroglauconol (VII), préparé à partir d'une glaucarubolone ayant une radioactivité de  $3,86 \times 10^5$  dis/min <sup>14</sup>C/mM et un rapport T/<sup>14</sup>C = 5,06 sont acétylés comme décrit précédemment.<sup>7</sup> On obtient ainsi 85 mg de produit que l'on chromatographie sur 8 g d'acide silicique-célite (4:1). La fraction éluee par le benzène-éther (1:1) fournit 63 mg de pentaacétate (IX) qui, après deux cristallisations dans l'éther, présente une radioactivité constante:  $3,89 \times 10^5$  dis/min <sup>14</sup>C/mM; T/<sup>14</sup>C = 0,18.

*Incorporation de l'Acide [2R-2T + 2S-2T]-Mévalonique [(Xa) et (Xb)]*

50 jeunes pousses de *Simaruba glauca* sont mises à pousser en présence de l'acide DL[2-T]mévalonique (1 mc; activité spécifique: 102 mc/mM). Au bout de 10 jours on isole, comme précédemment, 310 mg de produit que l'on chromatographie sur 35 g d'acide silicique-célite (3:1). On obtient ainsi 88 mg de glaucarubolone (Ia) brute que l'on purifie par chromatographie et par cristallisations, après addition d'entraineur, jusqu'à radioactivité constante.

*O-Méthyl-1 glaucarubolone (Ic).* 125 mg de glaucarubolone ( $2,18 \times 10^5$  dis/min/mM) sont méthylés par le diazométhane selon la référence.<sup>10</sup> On obtient ainsi 84 mg de dérivé O-méthylé (Ic) qui après deux cristallisations dans le chloroforme présente une radioactivité de  $2,01 \times 10^5$  dis/min/mM.

*Nor-acide (XI).* A une solution de 84 mg d'*O*-méthyl-1 glaucarubolone ( $2,01 \times 10^5$  dis/min/mM) dans 5 ml d'acétone (distillé sur CrO<sub>3</sub>) on ajoute goutte à goutte, à température ambiante, 1 ml de mélange chromique préparé selon.<sup>11</sup> Au bout de 15 hr l'excès d'oxydant est détruit par addition de quelques gouttes de méthanol. Après avoir ajouté de l'eau, la solution est extraite en continu par le chloroforme pendant 18 hr. On obtient ainsi 77 mg de produit qui sont chromatographiés sur 8 g d'acide silicique-célite (3:1). La colonne est développée par du chloroforme contenant un pourcentage croissant de méthanol. Les éluats contenant 3% de méthanol éluent 30 mg de produit acide. Après cristallisation dans l'acétate d'éthyle on obtient des cristaux, F = 234-237°. Radioactivité :  $1,93 \times 10^5$  dis/min/mM. Un échantillon non radioactif de l'acide (XI) est estérifié par le diazométhane ; on obtient après cristallisation dans l'acétate d'éthyle son ester méthyllique, F = 237-239° ; CCM ; R<sub>f</sub> 0,35 (acétate d'éthyle).

*Spectre infrarouge (nujol) .*  $\nu$  (C = O) 1760 cm<sup>-1</sup> (ester) 1778 cm<sup>-1</sup> et 1790 cm<sup>-1</sup> ( $\gamma$  lactones).

*Spectre de masse.* pic moléculaire à *m/e* 406 (calculé pour C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>8</sub> : 406); autres pics à *m/e* 135 et à *m/e* 165.<sup>18</sup>

*Spectre de RMN.* 1 (OCH<sub>3</sub>) et 1 (—COOCH<sub>3</sub>) à 3,65 et 3,40 ppm.

*Dihydroglauconol (VII).* 121 mg de glaucarubolone ( $1,99 \times 10^5$  dpm/mM) ont conduit à 50 mg de dihydroglauconol (VII) qui sont cristallisés dans l'acétate d'éthyle jusqu'à radioactivité constante :  $1,91 \times 10^5$  dis/min/mM.

*Acétal nor-glaucanolique (XIII).* L'aldéhyde-formiate (XII), préparé à partir de 45 mg de dihydroglauconol ( $1,91 \times 10^5$  dis/min/mM) selon<sup>7</sup> sont dissous dans 2 ml de dioxyane. La solution additionnée de 0,5 ml de DCl 3,4 N et de 1 ml de D<sub>2</sub>O, est chauffée pendant 2 hr. Après avoir dilué avec 2 cm<sup>3</sup> de D<sub>2</sub>O on extrait le produit de la réaction, en continu, par le chloroforme. Après chromatographie et recristallisation dans l'éther on obtient l'acétal nor-glaucanolique (XIII). Radioactivité:  $1,89 \times 10^5$  dis/min/mM.

<sup>18</sup> J. L. FOURREY, B. C. DAS et J. POLONSKY, *Org. Mass Spectrom.* 1, 819 (1968).

*Incorporation de l'Acide [2R-2T, 5-<sup>14</sup>C]-Mévalonique (Xa) et de l'Acide [2S-2T, 5-<sup>14</sup>C]-Mévalonique (Xb)*

(a) 36 plantules sont mises à pousser en présence d'une solution aqueuse de l'acide [2R-2T]-mévalonique (0,25 mc) et de l'acide DL[5-<sup>14</sup>C]-mévalonique (0,025 mc) dont le rapport T/<sup>14</sup>C est 9,95.

(b) Un deuxième essai d'incorporation a été effectué avec le mélange de l'acide [2S-2T]-mévalonique (0,25 mc) et de l'acide DL[5-<sup>14</sup>C]-mévalonique (0,025 mc) dont le rapport T/<sup>14</sup>C est de 10,4.

On isole de ces deux expériences, de la manière habituelle, la glaucarubolone radioactive.

*Expérience (a).* Radioactivité de la glaucarubolone [2R-2T, 5-<sup>14</sup>C] après dilution et après deux cristallisations:  $8,59 \times 10^4$  dis/min <sup>14</sup>C/mM; T/<sup>14</sup>C = 0,73; après trois cristallisations:  $8,12 \times 10^4$  dis/min <sup>14</sup>C/mM; T/<sup>14</sup>C = 0,70. Radioactivité de l'*O*-méthyl-1 glaucarubolone (Ic):  $7,8 \times 10^4$  dis/min <sup>14</sup>C/mM; T/<sup>14</sup>C = 0,69. Radioactivité du nor-acide (XI): après dilution avec le nor-acide non radioactif et après deux cristallisations:  $4,95 \times 10^4$  dis/min <sup>14</sup>C/mM; T/<sup>14</sup>C = 0,93; après trois cristallisations:  $5,19 \times 10^4$  dis/min <sup>14</sup>C/mM; T/<sup>14</sup>C = 0,93.

*Expérience (b).* Radioactivité de la glaucarubolone [2S-2T, 5-<sup>14</sup>C] après dilution et deux cristallisations:  $1,91 \times 10^5$  dis/min <sup>14</sup>C/mM; T/<sup>14</sup>C = 1,44. Radioactivité de l'*O*-méthyl-1 glaucarubolone (Ic) après dilution et cristallisation:  $1,53 \times 10^5$  dis/min <sup>14</sup>C/mM; T/<sup>14</sup>C = 1,41. Radioactivité du nor-acide (XI) après dilution et après une cristallisation:  $7,9 \times 10^4$  dis/min <sup>14</sup>C/mM; T/<sup>14</sup>C = 2,00; après deux cristallisations:  $7,8 \times 10^4$  dis/min <sup>14</sup>C/mM; T/<sup>14</sup>C = 2,10.

*Remerciements*—Nous adressons nos vifs remerciements aux Ets H. de Sola e Hijos (El Salvador) pour nous avoir aimablement envoyé des graines fraîches de *Simaruba glauca*, au Dr B.C. Das pour les mesures des spectres de masse et à Mme L. Alais pour celles des spectres de RMN.