

ISOLEMENT, STRUCTURE ET SYNTHÈSE DE LA VOCHYSINE, PYRROLIDINOFLAVANNE DE *VOCHYSIA GUIANENSIS*

GENEVIÈVE BAUDOIN, FRANÇOIS TILLEQUIN, MICHEL KOCH,*
Département de Pharmacognosie de l'Université René Descartes E.R.A. au C.N.R.S. n°950,
Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques,
4, avenue de l'Observatoire, F-75006 Paris, France

MARC VUILHORGNE, JEAN-YVES LALLEMAND,

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

et HENRI JACQUEMIN

Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer B.P. 165, 97305 Cayenne, Guyane

ABSTRACT.—Vochysine, the first naturally occurring pyrrolidinoflavanne has been isolated from the fruits of *Vochysia guianensis*. Its structure (1) has been determined from its spectral data and chemical properties and has been confirmed by its synthesis.

La famille des Vochysiacees, dont la place dans la classification botanique demeure incertaine (1), comporte six genres et environ deux cents espèces, toutes d'origine tropicale. Les Vochysiacees n'ont fait jusqu'ici l'objet que de quelques études chimiques, limitées aux dérivés polyphénoliques (2-4). Des essais préliminaires réalisés par l'un d'entre nous (H.J.) ont montré la présence d'un alcaloïde en quantité notable dans les fruits de *Vochysia guianensis* (Aubl.) Poir. (5). Compte-tenu des rares données phytochimiques disponibles sur la famille des Vochysiacees, il paraissait intéressant d'aborder l'étude de cet alcaloïde. La présente publication relate l'isolement, la détermination de structure et la synthèse de la vochysine (1), alcaloïde des fruits de *Vochysia guianensis*.

L'extraction des fruits de *Vochysia guianensis*, selon la technique habituelle, fournit 0,18% d'un alcaloïde unique, la vochysine 1 qui cristallise dans le méthanol en prismes incolores, $C_{20}H_{23}NO_4$, $F=138^\circ$, $[\alpha]^{20}_D=0^\circ$. Le spectre uv présente deux maximums d'absorption à 215 et 275 nm. Il n'est pas modifié en milieu acide mais nettement en milieu alcalin ce qui indique la présence de fonctions phénol. En accord avec cette hypothèse, le spectre ir présente des bandes caractéristiques à 755, 1595 (noyaux aromatiques) et à 3300 cm^{-1} (hydroxyle). Le spectre de masse, réalisé par impact électronique, ne montre pas d'ion moléculaire mais d'importants ions de fragmentation à $m/z=272, 153, 120$ et 69. Les trois premiers suggèrent l'existence d'un système hydroxy-4' flavanne (6,7). Le dernier caractérise une pyrrolidine (8). Le spectre de rmn du ^1H présente un système AB de quatre protons aromatiques à 7,24 et 6,76 ppm caractéristique d'un phényle *p*-disubstitué. A 5,93 ppm apparaît un singulet d'un proton aromatique isolé. Deux doublets de doublets à 4,82 ($J=10\text{Hz}, J'=2\text{Hz}$) et 4,58 ppm ($J=9\text{Hz}, J'=7\text{Hz}$) indiquent la présence de deux protons tertiaires respectivement en α d'un oxygène et d'un noyau aromatique et en α d'un azote et d'un noyau aromatique. Un singulet de trois protons à 3,65 ppm traduit l'existence d'un groupement méthoxyle. Enfin, un massif complexe de dix protons de 3,20 à 1,75 ppm correspond à cinq méthylènes alicycliques.

L'ensemble de ces données conduit à attribuer à la vochysine une structure d'hydroxy-4' flavanne possédant en positions 5,6 et 7 ou 5,7 et 8 trois substituants: hydroxyle, méthoxyle et pyrrolidyle-2. Cette hypothèse est en accord avec le spectre de rmn du ^{13}C de la vochysine (voir partie expérimentale). Toutefois, en raison de la symétrie du système "phloroglucinol" du noyau A, un examen approfondi des spectres ne permet pas de

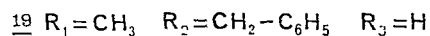
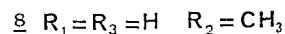
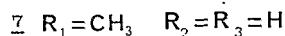
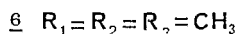
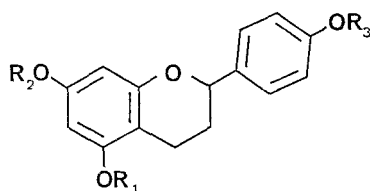
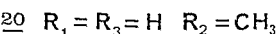
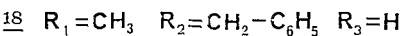
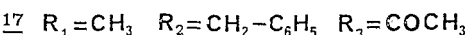
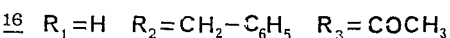
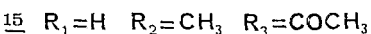
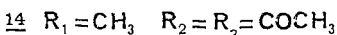
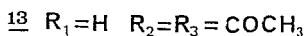
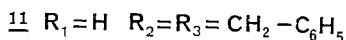
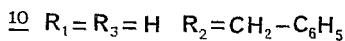
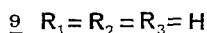
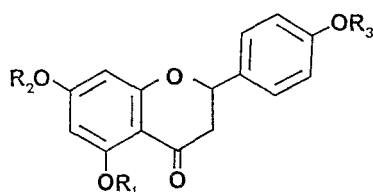
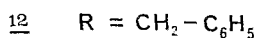
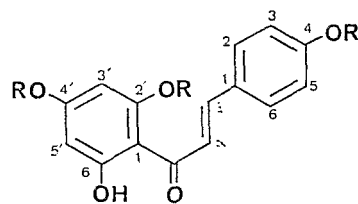
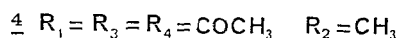
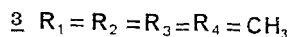
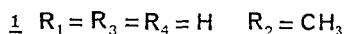
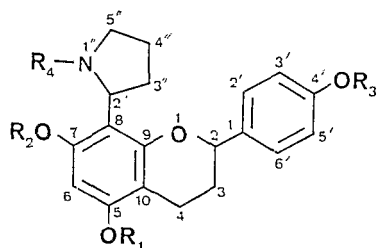
O. R. S. T. O. M. Fonds Documentaire

N° : 15789

Cote : B

178

préciser la position des substituants. Divers dérivés de la vochysine ont donc été préparés.



La méthylation de la vochysine par HCHO/NaBH₃CN/AcOH (9) conduit à un dérivé *N*-méthylé (2) caractérisé par un ion moléculaire $M^+ = 355$ et par d'importants ions de fragmentation à $m/z = 83$ et 84 (*N*-méthylpyrrolidine) sur son spectre de masse, et par un singulet de trois protons à 2,33 ppm sur son spectre de rnm du ¹H. La méthylation de ce dérivé par CH₃I/K₂CO₃/Me₂CO (10) conduit à un dérivé triméthylé (3) dont le spectre de masse présente un ion moléculaire $M^+ = 383$ et d'importants ions de fragmentation à $m/z = 369$, 134 et 84.

L'acétylation de la vochysine conduit à un dérivé triacétylé (4) caractérisé par la présence d'un ion moléculaire $M^+ = 467$ sur son spectre de masse et des bandes à 1775,

1200 (ester acétique) et 1640 cm^{-1} (amide) sur son spectre ir. Le spectre de rmn montre trois singulets de trois protons chacun à $\delta=2,30, 2,25$ et $1,76$ ppm mettant en évidence deux groupements esters acétiques de phénols et un groupement acétamide.

En solution éthanolique, la vochysine se dégrade lentement pour fournir un composé dont le spectre de masse présente un ion moléculaire $M^+=272$ et d'importants ions de fragmentation à $m/z=153$ et 120 . Dans la région des protons aromatiques, le spectre de rmn de ce composé se distingue de celui de la vochysine par la disparition du singulet à $5,93$ ppm et par l'apparition d'un système AB ($J=3\text{Hz}$) de deux protons à $6,05$ et $5,94$ ppm. Ce composé fournit par acétylation un dérivé diacétylé. Sa méthylation par $\text{Me}_2\text{SO}_4/\text{K}_2\text{CO}_3/\text{Me}_2\text{CO}$ conduit à la triméthoxy-5,7,4' flavanne (6) identifiée par ses caractéristiques physiques et spectrales identiques à celles précédemment publiées (6,11). Le produit obtenu par dégradation de la vochysine est donc soit la dihydroxy-7,4' méthoxy-5 flavanne (7), soit la dihydroxy-5,4' méthoxy-7 flavanne (8). Ces deux produits n'ayant, à notre connaissance, pas encore été décrits, leur synthèse a été réalisée à partir de la naringénine (9), afin de préciser sans ambiguïté la position du groupement methoxyle.

L'hydroxyle en position 5 de la naringénine (9) étant chélaté donc peu réactif, la synthèse de la dihydroxy-7,4' méthoxy-5 flavanne (7) doit débiter par une protection des groupements phénol en 7 et 4'. Si la benzylolation de la naringénine (9) par un équivalent de chlorure de benzyle (12) fournit la benzyloxy-7 dihydroxy-5,4' flavanone (10), l'action de deux équivalents de chlorure de benzyle ne donne pas la dibenzyloxy-7,4' hydroxy-5 flavanone (11) attendue mais un mélange de benzyloxy-7 dihydroxy-5,4' flavanone (10) et de tribenzyloxy-4,2',4' hydroxy-6' chalcone (12) en quantités équimoléculaires. Par contre, l'acétylation de la naringénine (9) par deux équivalents d'anhydride acétique dans la pyridine (13) conduit bien à la diacétoxy-7,4' hydroxy-5 flavanone (13). Cependant, le traitement de cette dernière par l'iode ou le sulfate de méthyle ne fournit pas la diacétoxy-7,4' méthoxy-5 flavanone (14) attendue (14,15), mais un mélange complexe dont le constituant majoritaire est l'acétoxy-4' hydroxy-5 méthoxy-7 flavanone (15). Ces essais permettent de conclure que l'hydroxyle en 7 doit être protégé par un groupement benzyle et l'hydroxyle en 4' par un groupement acétylé. L'acétylation de la benzyloxy-7 dihydroxy-5,4' flavanone (10) par un équivalent d'anhydride acétique dans la pyridine fournit l'acétoxy-4' benzyloxy-7 hydroxy-5 flavanone (16) dont la méthylation par le sulfate de méthyle donne l'acétoxy-4' benzyloxy-7 méthoxy-5 flavanone (17). Le traitement de cette dernière par l'acide chlorhydrique dans le méthanol (16) permet d'accéder à la benzyloxy-7 hydroxy-4' méthoxy-5 flavanone (18). La réduction de cette molécule par l'amalgame de zinc en milieu acide (17) fournit la benzyloxy-7 hydroxy-4' méthoxy-5 flavanne (19) qui, après hydrogénéolyse, conduit à la dihydroxy-7,4' méthoxy-5 flavanne (7).

L'accès à la dihydroxy-5,4' méthoxy-7 flavanne (8) est beaucoup plus aisé du fait de la forte réactivité de l'hydroxyle en 7 de la naringénine (9) (17). La méthylation de la naringénine 9 par un équivalent d'iodure de méthyle fournit la dihydroxy-5,4' méthoxy-7 flavanone (18) (= sakuranétine) (20). La réduction de cette dernière par la méthode de Clemensen donne la dihydroxy-5,4' méthoxy-7 flavanne (8). Le produit de dégradation de la vochysine, distinct du composé 7, est identique au composé 8.

Il reste, à ce stade, à préciser la position (en 6 ou en 8) du groupement pyrrolidyle-2 sur la vochysine. La comparaison des spectres de rmn du ^1H de la vochysine (1) et de la triacétylvochysine 4 montre que le signal du proton aromatique isolé qui apparaît à $5,93$ ppm sur le spectre de la vochysine subit un fort déplacement vers les champs faibles sur le spectre de la triacétylvochysine où il apparaît à $6,38$ ppm. Cette modification indique que ce proton est voisin de l'hydroxyle phénolique en 5 de la vochysine. L'en-

semble de ces données permet donc d'attribuer à la vochysine une structure de dihydroxy-5,4' méthoxy-7 (pyrrolidyl-2)-8 flavanne (**1**).

Enfin, le traitement de la dihydroxy-5,4' méthoxy-7 flavanne (**8**) par une solution alcoolique de pyrrolidine-1 (**19**) conduit, avec un bon rendement, à la vochysine (**1**), identique au produit naturel.

La biogénèse de la vochysine résulte vraisemblablement d'une condensation de type Mannich entre le γ -aminobutyraldéhyde, issu de l'ornithine et la dihydroxy-5,4' méthoxy-7 flavanne (**8**) dont la position 8 est plus activée que la position 6, en raison de la présence de deux groupements éther-oxyde en position ortho.

L'instabilité de la vochysine n'est pas surprenante; il est en effet bien connu que les produits de condensation de Mannich issus d'amines primaires sont moins stables que ceux issus d'amines secondaires. En revanche, il est plus étonnant de constater que la vochysine naturelle est un produit racémique. Si la biogénèse postulée rend aisément compte de ce phénomène en ce qui concerne le C-2'', on ne peut exclure qu'au niveau du C-2, la racémisation puisse intervenir au cours de l'extraction en milieu alcalin. La vochysine synthétique, préparée à partir de naringénine racémique (fournie par Aldrich-Europe), est bien entendu également dénuée de pouvoir rotatoire.

La vochysine **1** représente le premier exemple connu de pyrrolidinoflavanne. Jusqu'ici, seuls trois flavonoïdes azotés avaient été décrits: la ficine et l'isoficine isolées de *Ficus pantoniana* (8,20) et la phyllospadine isolée de *Phyllospadix iwatensis* (21). Tous trois possèdent une structure de type N-méthylpyrrolidinoflavone.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Les points de fusion sont mesurés sur un microscope à platine chauffante Kofler et ne sont pas corrigés. Les spectres uv [EtOH, λ max, nm, (log ϵ)] sont enregistrés sur un spectrophotomètre Unicam SP 800. Les spectres ir (KBr, ν max, cm^{-1}) sont effectués sur un spectrophotomètre Beckman 4250. Les spectres de masse [m/z (%)] sont réalisés à l'aide d'un spectrographe VG Micromass 70-70 F. Les spectres de rmn du ^1H sont enregistrés sur des appareils Varian EM 360, Bruker WP 80 ou HX 270 avec le TMS comme indicateur interne. Les spectres de rmn du ^{13}C sont effectués à l'aide d'un appareil Varian CFT 20.

MATERIEL VEGETAL.—L'échantillon de *Vochysia guianensis* (Aubl.) Poir. a été récolté en mars 1977 à Trois Sauts (Guyane).

Des échantillons d'herbier ont été déposés au Museum d'Histoire Naturelle de Paris et au Centre ORSTOM de Cayenne, sous le numéro HJ 2022.

EXTRACTION ET ISOLEMENT DE LA VOCHYSINE (1).—Les fruits séchés (1 kg), réduits en poudre fine, sont humectés par la moitié de leur masse d'ammoniaque à 10% puis lixivés par le chloroforme (15 x 3 litres). Les solutions chloroformiques réunies sont épuisées par de l'acide sulfurique N jusqu'à réaction de Valsér-Mayer négative. Les solutions aqueuses acides ainsi obtenues sont réunies, alcalinisées par l'ammoniaque puis extraites par le chloroforme. Les solutions organiques réunies, lavées à l'eau, séchées sur sulfate de sodium anhydre et distillées sous pression réduite jusqu'à siccité, fournissent un résidu de 2,27 g d'alcoïdes qui donne après purification sur colonne de silice (solvant: CHCl_3 -MeOH 90:10) 1,80 g de vochysine (**1**) (Rdt: 0,18%). Cristallise dans le méthanol, $F = 138^\circ$ [α] $^{20}_D = 0^\circ$ (CHCl_3). $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_4$ (tr. C 70,28; H 6,80; N 4,14; O 18,76—calc.: C 70,36; H 6,79; N 4,10; O 18,75). U.V.: 215(4,45), 275(3,34); +NaOH: 228(4,46), 245(4,42), 288(3,57); ir: 3300, 1595, 755. Sm: 272(91), 153(100), 120(46), 69(42); ^1H -rmn (CDCl_3) δ (ppm): 7,24 (2H, d, $J=9$ Hz, H-2', H-6'); 6,76 (2H, d, $J=9$ Hz, H-3', H-5'); 5,93 (1H, s, H-6); 4,82 (1H, dd, $J=10$ Hz, $J'=2$ Hz, H-2); 4,58 (1H, dd, $J=9$ Hz, $J'=7$ Hz, H-2''); 3,65 (3H, s, OCH_3); 3,20-1,75 (10H, m). ^{13}C -rmn (DMSO) δ (ppm): 157,7 (s, C-4'); 156,9 (s, C-7); 155,6 (s, C-9); 154,7 (s, C-5); 132,2 (s, C-1'); 127,5 (2C, d, C-2', C-6'); 115,1 (2C, d, C-3', C-5'); 105,4 (s, C-10); 102,5 (s, C-8); 89,6 (d, C-6); 76,8 (d, C-2); 55,9 (d, C-2''); 55,3 (q, OMe); 44,7 (t, C-5''); 33,1 (t, C-3''); 29,2 (t, C-3); 25,1 (t, C-4''); 19,3 (t, C-4).

N-METHYLVOCHYSINE (2).—Une solution de vochysine (**1**) (140 mg, 0,41 mM) dans un mélange de HCHO à 30% (10 ml) et d'AcOH (2 ml) est additionnée de cyanoborohydrure de sodium (1,2 g) puis agitée pendant 90 min à 20°C . Le milieu est ensuite dilué à l'eau, alcalinisée par NH_4OH puis extrait par CHCl_3 . Une purification par chromatographie sur colonne de silice (solvant CHCl_3 -MeOH 96:4) permet d'isoler 63 mg de N-méthylvochysine (**2**), non obtenue à l'état cristallisé (Rdt: 43%). U.v.: 229, 276, 281(ép.). Sm: 355(M^+) (100), 248(52), 236(10), 235(59), 192(27), 191(40), 120(20), 84(48), 83(32).

$^1\text{H-rmn}$ (CDCl_3) δ (ppm): 7,27 (2H, d, $J=9$ Hz, H-2', H-6'); 6,79 (2H, d, $J=9$ Hz, H-3', H-5'); 5,95 (1H, s, H-6); 3,67 (3H, s, OCH_3); 2,33 (3H, s, N- CH_3).

TRIMETHYLVochysine (3).—Une solution de *N*-méthylvochysine (**2**) (12 mg, 0,03 mM) dans 5 ml de Me_2CO est additionnée de 0,5 ml de MeI et de 0,5 g de K_2CO_3 puis chauffée à reflux pendant 4 h. Le milieu réactionnel est ensuite évaporé sous pression réduite et le résidu obtenu extrait par CHCl_3 . Une purification par chromatographie sur colonne de silice (solvant: CHCl_3 -MeOH 98:2) permet d'isoler 5 mg de triméthylvochysine (**3**), non obtenue à l'état cristallisé (Rdt: 39%); sm: 383(M^+) (15), 369(97), 248(100), 192(32), 191(41), 134(61), 84(41), 83(13).

TRIACÉTYLVochysine (4).—Une solution de vochysine (**1**) (105 mg, 0,3 mM) dans 0,2 ml de pyridine est additionnée de 0,2 ml d' Ac_2O puis abandonnée 72 h à 20°C. Le milieu réactionnel est ensuite versé dans l'eau glacée. Le précipité alors obtenu fournit, après chromatographie sur colonne de silice (solvant: CHCl_3 -MeOH 95:5), 108 mg de triacétylvochysine (**4**), non obtenue à l'état cristallisé (Rdt: 75%); ir: 1775, 1640, 1200; sm: 467(M^+) (17), 425(17), 424(14), 408(42), 314(8), 220(13), 204(33), 191(22), 133(8), 120(19), 112(100). $^1\text{H-rmn}$ (CDCl_3) δ (ppm): 7,36 (2H, d, $J=9$ Hz, H-2', H-6'); 7,02 (2H, d, $J=9$ Hz, H-3', H-5'); 6,38 (1H, s, H-6); 4,99 (1H, m, H-2); 4,85 (1H, m, H-2''); 3,61 (3H, s, OCH_3); 2,30 (3H, s, OAc); 2,26 (3H, s, OAc); 1,79 (3H, s, NAc).

DEGRADATION DE LA VOCHYSINE: DIHYDROXY-5,4'METHOXY-7 FLAVANNE (8).—Une solution de vochysine (**1**) (377 mg, 1,1 mM) dans 75 ml d'EtOH est agitée à 20°C pendant 72 h. La solution est alors évaporée sous pression réduite. Le résidu fournit, après chromatographie sur colonne de silice (solvant: CHCl_3 -MeOH 90:10) puis cristallisation dans EtOAc, 98 mg de dihydroxy-5,4' méthoxy-7 flavanne (**8**) (Rdt: 40%); F=190-191°; uv: 235, 276; ir: 3370, 1625, 1600, 1140; sm: 272(M^+) (71), 166(18), 165(10), 153(100), 133(25), 120(48), 107(17). $^1\text{H-rmn}$ (CDCl_3) δ (ppm): 7,24 (2H, d, $J=9$ Hz, H-2', H-6'); 6,78 (2H, d, $J=9$ Hz, H-3', H-5'); 6,05 (1H, d, $J=3$ Hz, H-8); 5,94 (1H, d, $J=3$ Hz, H-6); 4,87 (1H, dd, $J=10$ Hz, $J'=2$ Hz, H-2); 3,67 (3H, s, OCH_3); 2,65 (2H, m, CH_2 -4); 2,20 (2H, m, CH_2 -3).

DIACÉTOXY-5,4' METHOXY-7 FLAVANNE (5).—Une solution de dihydroxy-5,4' méthoxy-7 flavanne (**8**) (27 mg, 0,1 mM) provenant de la dégradation de la vochysine dans 0,1 ml de pyridine est additionnée de 0,1 ml d' Ac_2O puis abandonnée 24 h à 20°C. Le milieu réactionnel est dilué à l'eau puis extrait par CHCl_3 . L'évaporation de CHCl_3 fournit 31 mg de diacétoxy-5,4' méthoxy-7 flavanne (**5**), non obtenue à l'état cristallisé (Rdt: 87%); sm: 356(M^+) (45), 314(49), 272(57), 153(95), 133(34), 120(100), 107(42). $^1\text{H-rmn}$ (CDCl_3) δ (ppm): 7,40 (2H, d, $J=9$ Hz, H-2', H-6'); 7,08 (2H, d, $J=9$ Hz, H-3', H-5'); 6,37 (1H, d, $J=3$ Hz, H-6); 6,27 (1H, d, $J=3$ Hz, H-8); 4,95 (1H, dd, $J=10$ Hz, $J'=2$ Hz, H-2); 3,71 (3H, s, OCH_3); 2,60 (2H, m, CH_2 -4); 2,17 (6H, s, 2OAc); 2,10 (2H, m, CH_2 -3).

TRIMÉTHOXY-5,7,4' FLAVANNE (6).—Une solution de dihydroxy-5,4' méthoxy-7 flavanne (**8**) (21 mg, 0,08 mM) provenant de la dégradation de la vochysine dans 4 ml de Me_2CO est additionnée de 0,05 ml de Me_2SO_4 et de 100 mg de K_2CO_3 puis chauffée à reflux pendant 8 h. Le milieu réactionnel est ensuite évaporé sous pression réduite puis extrait par CHCl_3 . Une purification sur colonne de silice (solvant: CH_2Cl_2 -MeOH 90:10) suivie d'une cristallisation dans MeOH fournit 9 mg de triméthoxy-5,7,4' flavanne (Rdt: 39%); F=106-108° (réf. 11: 107-108°). Caractéristiques spectrales identiques à celles précédemment publiées (6,11).

BENZYLOXY-7 DIHYDROXY-5,4' FLAVANONE (10).—Une solution de naringénine (**9**) (5,44 g, 20 mM) dans un mélange de Me_2CO (20 ml) et de DMF (40 ml) est additionnée de chlorure de benzyle (2,53 g, 20 mM) et de K_2CO_3 (4 g) puis chauffée à reflux pendant 4 h. Le milieu réactionnel est ensuite versé sur de l'eau glacée et le précipité formé recueilli. Par cristallisation dans MeOH, 4,5 g de benzyloxy-7 dihydroxy-5,4' flavanone (**10**) sont obtenus (Rdt: 62%); F=186-187°; sm: 362(M^+) (14), 271(3), 243(4), 242(2), 120(9), 107(5), 91(100). $^1\text{H-rmn}$ (DMSO-d_6) δ (ppm): 12,11 (1H, s, éch. D_2O , OH-5); 9,60 (1H, s, éch. D_2O , OH-4'); 7,44 (5H, s, C_6H_5 -benzyl); 7,37 (2H, d, $J=9$ Hz, H-2', H-6'); 6,84 (2H, d, $J=9$ Hz, H-3', H-5'); 6,22 (2H, s, H-6, H-8); 5,51 (1H, dd, $J=12$ Hz, $J'=2$ Hz, H-2); 5,22 (2H, s, CH_2 -benzyl); 3,00 (2H, m, CH_2 -3).

ALKYLATION DE LA NARINGENINE (9) PAR DEUX EQUIVALENTS DE CHLORURE DE BENZYLE.—La naringénine (**9**) (5,44 g, 20 mM) est alkylée par le chlorure de benzyle (5,06 g, 40 mM) selon le mode opératoire précédent. Par cristallisation fractionnée dans le méthanol, on obtient 2,2 g de benzyloxy-7 dihydroxy-5,4' flavanone (**10**) (Rdt: 30%), puis 3,2 g de tribenzyloxy-4,2',4' hydroxy-6' chalcone (**12**) (Rdt: 29%); F=138-139°; sm: 542(M^+) (3), 452(3), 451(5), 273(4), 243(2), 237(2), 91(100). $^1\text{H-rmn}$ (DMSO-d_6) δ (ppm): 14,24 (1H, s, éch. D_2O , OH-6'); 7,72 (2H, s, H- α , H- β); 7,47 (15H, s, $3\text{C}_6\text{H}_5$ -benzyl); 7,20 (2H, d, $J=9$ Hz, H-2, H-6); 6,94 (2H, d, $J=9$ Hz, H-3, H-5); 6,45 (1H, d, $J=3$ Hz, H-3'); 6,29 (1H, d, $J=3$ Hz, H-5'); 5,24 (2H, s, CH_2 -benzyl); 5,20 (4H, s, 2CH_2 -benzyl).

DIACETOXY-7,4' HYDROXY-5 FLAVANONE (13).—Une solution de naringénine (**9**) (8,16 g, 30 mM) dans 15 ml de pyridine est additionnée d'Ac₂O (6,12 g, 60 mM) puis abandonnée 24 h à 20°C. Le milieu réactionnel est ensuite versé sur de l'eau glacée et le précipité formé recueilli. Par cristallisation dans MeOH, 9,5 g de diacétoxy-7,4' hydroxy-5 flavanone (**13**) sont obtenus (Rdt: 89%); F=142-143° (réf. 13: 144°); sm: 356(m⁺) (70), 314(53), 272(58), 271(57), 179(35), 166(41), 153(98), 152(61), 120(100), 107(35); ¹H-rmn (DMSO-d₆) δ (ppm): 11,99 (1H, s, éch. D₂O, OH-5); 7,68 (2H, d, J=9 Hz, H-2', H-6'); 7,27 (2H, d, J=9 Hz, H-3', H-5'); 6,41 (2H, s, H-6, H-8); 5,79 (1H, dd, J=12 Hz, J'=3 Hz, H-2); 3,40 (1H, dd, J=17 Hz, J'=12 Hz, H-3a); 2,90 (1H, dd, J=17 Hz, J'=3 Hz, H-3b); 2,30 et 2,27 (2 x 3H, 2s, 20Ac).

ALKYLATION DE LA DIACETOXY-7,4' HYDROXY-5 FLAVANONE (13) PAR L'IODURE DE METHYLE.—Une solution de diacétoxy-7,4' hydroxy-5 flavanone (**13**) (356 mg, 1 mM) dans Me₂CO (2,5 ml) est additionnée de CH₃I (0,2 ml) et de K₂CO₃ (0,2 g) puis chauffée à reflux pendant 2 h. Le milieu réactionnel est ensuite filtré puis évaporé sous pression réduite. Le produit majoritaire de la réaction, purifié par CCE de silice (solvant: toluène-EtOAc 80:20) puis cristallisé dans EtOAc est l'acétoxy-4' hydroxy-5 méthoxy-7 flavanone (**15**) (126 mg, Rdt: 38%); F=137-138°; sm: 328(M⁺) (100), 286(55), 285(60), 193(47), 180(50), 167(94), 166(57), 120(53). ¹H-rmn (CDCl₃) δ (ppm): 7,49 (2H, d, J=9 Hz, H-2', H-6'); 7,14 (2H, d, J=9 Hz, H-3', H-5'); 6,06 (2H, s, H-6, H-8); 5,42 (1H, dd, J=11 Hz, J'=4 Hz, H-2); 3,82 (3H, s, OCH₃); 2,96 (2H, m, CH₂-3); 2,31 (3H, s, OAc).

ACETOXY-4' BENZYLOXY-7 HYDROXY-5 FLAVANONE (16).—La benzyloxy-7 dihydroxy-5,4' flavanone (**10**) (1,81 g, 5 mM) est traitée par Ac₂O (0,51 g, 5 mM) selon le mode opératoire décrit pour la préparation de **13**. Après cristallisation dans MeOH, 1,86 g d'acétoxy-4' benzyloxy-7 hydroxy-5 flavanone (**16**) sont obtenus (Rdt: 92%); F=140-141°; sm: 404(M⁺) (18), 362(3), 361(2), 271(4), 243(2), 242(2), 120(7), 107(4), 91(100); ¹H-rmn (DMSO-d₆) δ (ppm): 12,12 (1H, s, éch. D₂O, OH-5); 7,62 (2H, d, J=9 Hz, H-2', H-6'); 7,44 (5H, s, C₆H₅-benzyl); 7,23 (2H, d, J=9 Hz, H-3', H-5'); 6,23 (2H, s, H-6, H-8); 5,66 (1H, dd, J=12 Hz, J'=2 Hz, H-2); 5,21 (2H, s, CH₂-benzyl); 3,00 (2H, m, CH₂-3); 2,29 (3H, s, OAc).

ACETOXY-4' BENZYLOXY-7 METHOXY-5 FLAVANONE (17).—Une solution d'acétoxy-4' benzyloxy-7 hydroxy-5 flavanone (**16**) (808 mg, 2 mM) dans 5 ml de Me₂CO est additionnée de Me₂SO₄ (0,3 ml) et de K₂CO₃ (1 g) puis portée à reflux pendant 2 h. Le milieu réactionnel est ensuite filtré puis évaporé sous pression réduite. Le résidu fournit, après purification par chromatographie sur colonne de silice (solvant: toluène-EtOAc 70:30), 570 mg d'acétoxy-4' benzyloxy-7 méthoxy-5 flavanone (**17**) non obtenue à l'état cristallisé (Rdt: 68%); sm: 418(M⁺) (33), 376(4), 375(6), 327(4), 285(5) 283(9), 257(5), 256(6), 120(7), 91(100); ¹H-rmn (CDCl₃) δ (ppm): 7,50 (2H, d, J=9 Hz, H-2', H-6'); 7,46 (5H, s, C₆H₅-benzyl); 7,14 (2H, d, J=9 Hz, H-3', H-5'); 6,16 (2H, s, H-6, H-8); 5,40 (1H, dd, J=12 Hz, J'=2 Hz, H-2); 5,11 (2H, s, CH₂-benzyl); 3,91 (3H, s, OMe); 2,87 (2H, m, CH₂-3); 2,32 (3H, s, OAc).

BENZYLOXY-7 HYDROXY-4' METHOXY-5 FLAVANONE (18).—Une solution d'acétoxy-4' benzyloxy-7 méthoxy-5 flavanone (**17**) (209 mg, 0,5 mM) dans EtOH (9 ml) est additionnée d'HCl concentré (1 ml) puis chauffée à reflux pendant 30 min. Après évaporation sous pression réduite et chromatographie sur colonne de silice (solvant: toluène-EtOAc 70:30), on isole 120 mg de benzyloxy-7 hydroxy-4' méthoxy-5 flavanone (**18**), non obtenue à l'état cristallisé (Rdt: 64%); sm: 376(M⁺) (20), 285(6), 284(7), 283(8), 257(12), 256(11), 120(9), 91(100); ¹H-rmn (CDCl₃) δ (ppm): 7,40 (5H, s, C₆H₅-benzyl); 7,34 (2H, d, J=9 Hz, H-2', H-6'); 6,93 (2H, d, J=9 Hz, H-3', H-5'); 6,17 (2H, s, H-6, H-8); 5,31 (1H, dd, J=12 Hz, J'=2 Hz, H-2); 5,05 (2H, s, CH₂-benzyl); 3,79 (3H, s, OMe); 3,00 (2H, m, CH₂-3).

BENZYLOXY-7 HYDROXY-4' METHOXY-5 FLAVANNE (19).—Une solution de benzyloxy-7 hydroxy-4' méthoxy-5 flavanone (**18**) (94 mg, 0,25 mM) dans AcOH (8 ml) est additionnée d'HCl concentré (1 ml) et de zinc amalgamé (1,9 g) puis abandonnée 24 h à 20°C. Le milieu réactionnel est ensuite dilué à l'eau puis extrait par CHCl₃. Après évaporation sous pression réduite et chromatographie sur colonne de silice (solvant: CH₂Cl₂), on isole 53 mg de benzyloxy-7 hydroxy-4' méthoxy-5 flavanne (**19**), non obtenue à l'état cristallisé (Rdt: 59%); sm: 362(M⁺) (26), 271(3), 243(10), 120(21), 107(6), 91(100); ¹H-rmn (CDCl₃) δ (ppm): 7,39 (5H, s, C₆H₅-benzyl); 7,28 (2H, d, J=9 Hz, H-2', H-6'); 6,79 (2H, d, J=9 Hz, H-3', H-5'); 6,18 (2H, s, H-6, H-8); 4,98 (2H, s, CH₂-benzyl); 4,93 (1H, dd, J=10 Hz, J'=2 Hz, H-2); 3,78 (3H, s, OMe); 2,67 (2H, m, CH₂-4); 2,08 (2H, m, CH₂-3).

DIHYDROXY-7,4' METHOXY-5 FLAVANNE (7).—La benzyloxy-7 hydroxy-4' méthoxy-5 flavanne (**19**) (36 mg, 0,1 mM) en solution dans EtOH (15 ml) est débénzylée par l'hydrogène en présence de charbon palladié (35 mg) pendant 3 h. Après filtration, évaporation sous pression réduite et chromatographie sur colonne de silice, on isole 19 mg de dihydroxy-7,4' méthoxy-5 flavanne (**7**), non obtenue à l'état cristallisé (Rdt: 70%); sm: 272(M⁺) (68), 166(12), 165(17), 153(100), 133(38), 120(76), 107(32); ¹H-rmn (DMSO-d₆) δ (ppm): 9,41 (1H, s, éch. D₂O, OH); 9,16 (1H, s, éch. D₂O, OH); 7,17 (2H, d, J=9 Hz,

H-2', H-6'); 6,73 (2H, d, $J=9$ Hz, H-3', H-5'); 5,94 (1H, d, $J=2$ Hz, H-8); 5,81 (1H, d, $J=2$ Hz, H-6); 4,82 (1H, dd, $J=10$ Hz, $J'=2$ Hz, H-2); 3,69 (3H, s, OMe); 2,51 (2H, m, CH₂-4); 1,97 (2H, m, CH₂-3).

DIHYDROXY-5,4' METHOXY-7 FLAVANONE (20).—Une solution de naringénine (**9**) (2,72 g, 10 mM) dans un mélange de Me₂CO (10 ml) et de DMF (10 ml) est additionnée de CH₃I (1,42 g, 10 mM) puis chauffée à reflux pendant 2 h. Le milieu réactionnel est ensuite versé sur de l'eau glacée et le précipité formé recueilli. Par cristallisation dans MeOH, 2,28 g de dihydroxy-5,4' méthoxy-7 flavanone (**20**) sont obtenus (Rdt: 79%); $F=151-152^\circ$ (réf. 18: 149,5-150,5°); sm: 286(90), 193(28), 180(34), 167(100), 120(37), 107(10); ¹H-rmn (DMSO-d₆) δ (ppm): 12,15 (1H, s, éch. D₂O, OH-5); 9,61 (1H, s, éch. D₂O, OH-4'); 7,37 (2H, d, $J=8$ Hz, H-2', H-6'); 6,85 (2H, d, $J=8$ Hz, H-3', H-5'); 6,12 (2H, s, H-6, H-8); 5,51 (1H, dd, $J=12$ Hz, $J'=3$ Hz, H-2); 3,81 (3H, s, OMe); 2,90 (2H, m, CH₂-3).

DIHYDROXY-5,4' METHOXY-7 FLAVANNE (8).—La dihydroxy-5,4' méthoxy-7 flavanone (**20**) (1,43 g, 5 mM) est réduite par le zinc amalgamé (15 g) selon le mode opératoire décrit pour la préparation **19**. Après cristallisation dans EtOAc, 0,94 g de dihydroxy-5,4' méthoxy-7 flavanne (**8**) sont obtenus (Rdt: 69%); $F=190-191^\circ$. Produit identique à celui obtenu par dégradation de la vochysine naturelle (F, uv, ir, sm, rnm, ccm).

VOCHYSINE (1).—Une solution éthanolique de pyrroline-1 (5 ml, préparée selon réf. 20 à partir de 1 ml de pyrrolidine) est additionnée de dihydroxy-5,4' méthoxy-7 flavanne (**8**) (136 mg, 0,5 mM) puis agitée pendant 3 h à 20°C. Le milieu réactionnel est dilué par 350 ml d'eau, additionné de 20 g de NH₄Cl et extrait par CH₂Cl₂. La solution organique, après séchage sur Na₂SO₄, évaporation sous pression réduite puis chromatographie sur colonne de silice (solvant: CHCl₃-MeOH 90:10) fournit 58 mg de vochysine qui cristallise dans MeOH (Rdt: 34%); $F=138^\circ$. Produit identique à la vochysine naturelle (F, uv, ir, sm, rnm, ccm).

REMERCIEMENTS

Nous exprimons nos remerciements au Docteur H.P. Husson (I.C.S.N. du C.N.R.S., Gif-sur-Yvette, France) pour une fructueuse discussion sur la biogenèse de la vochysine.

BIBLIOGRAPHIE

1. J.C. Willis; A dictionary of the flowering plants and ferns, 8th ed., Cambridge University Press, Cambridge, 1973.
2. D. de Barros Corrêa, E. Birchall, J.E.V. Aguilar, et O.R. Gottlieb, *Phytochemistry*, **14**, 1138 (1975).
3. J.L.C. Lopes, J.N.C. Lopes et H.F. Leitao Filho, *Phytochemistry*, **18**, 362 (1979).
4. D. de Barros Corrêa, L.F.B. Guerra, O.R. Gottlieb et J.G.S. Maia, *Phytochemistry*, **20**, 305 (1981).
5. A. Lemée, Flore de la Guyane française, Vol. 2, Lechevalier, Paris, 1952, p 239.
6. A. Birch et M. Salahuddin, *Tetrahedron Lett.*, 2211 (1964).
7. H. Audier, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 2892 (1966).
8. S.R. Johns, J.H. Russel et M.L. Heffernan, *Tetrahedron Lett.*, 1987 (1965).
9. M Dôe de Maindreville, Méthylène indolines, indolémines et indolémines: sur la réduction d'alcaloïdes du groupe de l'indole. Thèse ès Sc., Reims, 1976.
10. K.V. Rao et J.A. Owoyale, *J. Heterocyclic Chem.*, **13**, 1293 (1976).
11. F.E. King, J.W. Clark-Lewis, et W.F. Forbes, *J. Chem. Soc.*, 2948 (1955).
12. G. Aurnhammer, H. Wagner, L. Hörhammer, et L. Farkas, *Chem. Ber.*, **104**, 1703 (1971).
13. R. Hänsel et D. Heise, *Arch. Pharm.*, **292**, 398 (1959).
14. V.B. Mahesh, S. Neelakantan, et T.R. Seshadri, *J. Sci. Ind. Res. India*, **15B**, 287 (1956).
15. G. Zemplén, R. Bognár, et K. Thiele, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **77**, 446 (1944).
16. H. Wagner, L. Hörhammer, G. Hitzler, et L. Farkas, *Chem. Ber.*, **99**, 2430 (1966).
17. A. Robertson, V. Venkateswarlu, et W.B. Whalley, *J. Chem. Soc.*, 3137 (1954).
18. J.M. Guider, T.H. Simpson, et D.B. Thomas, *J. Chem. Soc.*, 170 (1955).
19. D.W. Fuhlhage et C.A. Vanderwerf, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 6249 (1958).
20. B. Anjaneyulu et T.R. Govindachari, *Tetrahedron Lett.*, 2847 (1969).
21. M. Takagi, S. Funahashi, K. Ohta, et T. Nakabayashi, *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 3019 (1980).

Received 5 November 1982