

## 161. Contribution à l'étude d'un produit de $\beta$ -hydroxyéthylation du rutoside

Partie 2

### Identification des constituants majeurs par spectrophotométrie ultraviolette

par P. Courbat, G. Uhlmann et R. Guerne<sup>1)</sup>

(2 II 66)

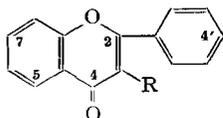
**Introduction.** – Dans la précédente communication [1] nous avons montré que l'hydroxyéthylation du rutoside par la glycolchlorhydrine en milieu alcalin conduit à la formation d'un mélange d'O-hydroxyéthyl-rutosides (désigné par HER, formules voir p. 1424), duquel la chromatographie sur papier a permis d'isoler 5 constituants principaux ( $B_1$ ,  $B_2$ ,  $J_1$ ,  $J_2$  et  $J_3$ ); toujours par chromatographie sur papier, les structures de 2 d'entre eux ont été établies, à savoir celles de  $B_1$  qui est le tétra-O-hydroxyéthyl-5,7,3',4'-rutoside, et  $J_1$ , le tri-O-hydroxyéthyl-7,3',4'-rutoside. En outre, la chromatographie a montré que  $B_2$ ,  $J_2$  et  $J_3$  étaient respectivement des dérivés tri-, di- et mono-éthérisés, sans qu'il fût possible de définir plus à fond leurs structures respectives.

La présente communication se propose d'établir par spectrophotométrie ultraviolette les structures des composés  $B_2$ ,  $J_2$  et  $J_3$  et de confirmer celles des composés  $B_1$  et  $J_1$  (voir formules p. 1424).

#### Partie théorique

Les spectres d'absorption UV. des flavones et flavonols présentent une similitude générale dans la position de certains maximums d'absorption, à savoir les deux maximums dits bande I dans la région de 320–380 nm et bande II dans la région de 240–270 nm [2] [3].

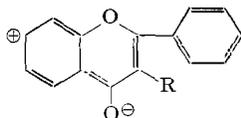
Pour expliquer l'existence de ces bandes d'absorption, JURD [3] fait appel aux structures limites de résonance. Selon cet auteur, la bande I serait due à la forme cinnamoyle, tandis que la bande II relèverait de la forme benzoyle. Il en résulte que



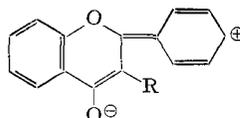
Flavone (R = H)

Flavonol (R = OH)

l'introduction ou le blocage de groupements donneurs d'électrons soit sur le noyau phényle placé en C-2, soit sur le noyau benzo- $\gamma$ -pyrone, provoquera des déplacements respectivement de la bande I et de la bande II du spectre.



(forme benzoyle)



(forme cinnamoyle)

<sup>1)</sup> Département Science, ZYMA S.A. (Directeur D<sup>r</sup> P. GRUMBACH).

HERGERT & KURTH [4] de même que INGLETT [5] et LEBRETON & CHOPIN [6] relèvent que dans les flavones et flavonols, un hydroxyle phénolique en 5 est lié par pont hydrogène à l'oxygène carbonyle en 4. L'éthérisation de cet hydroxyle supprime cette liaison hydrogène, ce qui entraîne dans le spectre un déplacement hypsochrome considérable (5 à 15 nm) des bandes I et II. Par contre, l'éthérisation d'un hydroxyle situé en 7 n'a aucun effet appréciable sur la position de ces bandes. En outre, le remplacement d'un hydroxyle énoïque situé en 3 par un groupe alcoxy ou osyloxy produit un déplacement hypsochrome de 10 à 20 nm de la bande I alors que la bande II n'en est guère affectée. Enfin, dans le cas des flavonols, l'éthérisation d'un groupe phénolique en 4' se traduit par un déplacement hypsochrome de 2 à 10 nm de la bande I et, souvent, de 1 à 2 nm de la bande II.

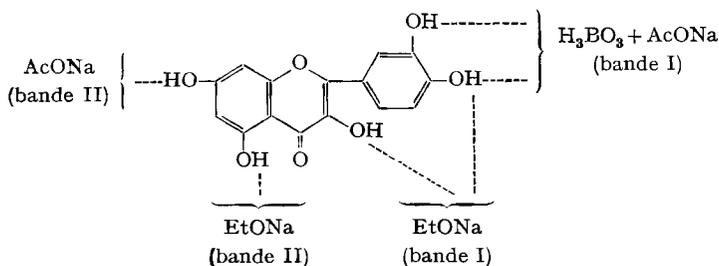
Depuis les travaux de JURD [3] [7] [8] et de JURD & HOROWITZ [9] il est généralement admis qu'en milieu alcoolique des réactifs tels que l'éthylate de sodium, l'acétate de sodium anhydre et le mélange d'acide borique et d'acétate de sodium anhydre produisent des déplacements des bandes spectrales, qui sont en relation avec la position des OH phénoliques ou énoïques dans les flavonols.

On sait que l'ion borate forme un complexe soit avec deux OH phénoliques voisins soit avec un OH phénolique en *ortho* par rapport au C d'un groupe carbonyle, ce qui s'est vérifié également pour les composants du HER [1]. Or, d'après SWAIN [10] et surtout JURD [7], en présence d'acétate de sodium l'ion borate ne semble se complexer qu'avec deux OH phénoliques voisins mais non avec un groupe formé par l'oxygène carbonyle en 4 associé avec un OH phénolique en 5 ou énoïque en 3.

D'après JURD [3] [8] et JURD & HOROWITZ [9], en milieu alcoolique l'acétate de sodium anhydre est capable de ioniser les groupes phénoliques ou énoïques des flavonols, qui présentent les caractères acides les plus forts, c'est-à-dire ceux situés en 3, 7 et 4'. Or, le rutoside et ses dérivés ne possèdent pas de OH libre en 3. En outre, l'ionisation de l'hydroxyle situé en 4' produit un déplacement bathochrome de la bande I sans affecter la position de la bande II. Par contre, l'ionisation de l'hydroxyle en 7 provoque un déplacement bathochrome de 8 à 20 nm de la bande II. Notons enfin que chez les composés ne possédant pas de OH libre en 7 (OH absent ou éthérisé) aucun changement significatif de la position de la bande II du spectre n'apparaît sous l'influence de l'acétate de sodium.

L'éthylate de sodium, beaucoup plus basique que l'acétate de sodium, peut ioniser les groupes phénoliques localisés en n'importe quelle position du noyau flavone. En présence d'un hydroxyle en 5, l'éthylate de sodium provoque un déplacement bathochrome de la bande II. Ce même réactif permet en outre de révéler la présence ou l'absence d'un groupement de deux OH libres situés en 3 et 4'. En effet, DECHENE [11] et JURD & HOROWITZ [9] ont montré que chez les flavonols ayant des OH en 3 et 4', l'addition d'éthylate de sodium à leurs solutions alcooliques provoque la disparition de la bande I. Par contre, dès que l'un ou l'autre ou les deux OH en 3 et 4' sont éthérisés, ce phénomène disparaît; il peut donc être considéré comme caractéristique de la présence de deux OH en 3 et 4' chez les flavonols [3].

Le schéma ci-après résume la spécificité des réactifs cités, pour la caractérisation, par spectrophotométrie UV., des OH phénoliques ou énoïques libres ou éthérisés dans la molécule de flavonol:



Nous remercions M. J.-CL. DAGUET de l'aide qu'il nous a accordée particulièrement dans la partie expérimentale de ce travail.

### Partie expérimentale

**Appareils.** Les spectres ont été déterminés soit au spectrophotomètre ZEISS PMQ II avec lampe à vapeur de mercure, soit au spectrophotomètre BECKMAN DB avec lampe à hydrogène et enregistreur PHOTOVOLT VARICORD 43, dans des cuves de quartz de 1 cm d'épaisseur, à température ambiante, en solution éthanolique.

**I. - Préparation des solutions des dérivés hétérosidiques.** - a) *Solution-mère.* On dissout  $10^{-6}$  mole (environ 7 mg) du composé à étudier (rutoside, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub> ou J<sub>3</sub>) dans 100 ml d'éthanol absolu<sup>2)</sup>. Cette solution-mère est  $10^{-4}$ M.

b) *Solutions «spectrales» (solutions S).* - 1. *Solution S simple.* 4 ml de la solution-mère sont portés à 10 ml avec de l'éthanol absolu<sup>2)</sup> dans un ballon jaugé. Cette solution est  $4 \cdot 10^{-5}$ M.

2. *Solution S avec acétate de sodium.* A 10 ml de solution S simple on ajoute de l'acétate de sodium<sup>3)</sup> en léger excès et agite. Le spectre peut être déterminé après 5 à 10 min.

3. *Solution S avec éthylate de sodium.* Dans un ballon jaugé de 10 ml, on introduit successivement 4 ml de solution-mère et 4 ml d'éthylate de sodium éthanolique (0,01M<sup>4)</sup>), puis complète au trait de jauge avec de l'éthanol absolu<sup>2)</sup>. Le spectre est déterminé après 1 h et après 18 h.

4. *Solution S avec acide borique et acétate de sodium.* Dans un mélange de 4 ml de solution-mère et de 4 ml d'éthanol absolu<sup>2)</sup> saturé d'acide borique<sup>3)</sup>, amené à 10 ml avec de l'éthanol absolu<sup>2)</sup> dans un ballon jaugé, on ajoute de l'acétate de sodium<sup>3)</sup> en léger excès et agite. Le spectre est déterminé après 20 min.

Les données spectrales relatives à ces solutions S figurent dans le Tableau I.

**II. - Obtention des aglycones et préparation de leurs solutions spectrales (solutions S).** - 25 ml de solution-mère de l'hétéroside et 15 gouttes d'acide chlorhydrique concentré sont chauffés 90 min. à reflux au bain-marie. La solution est alors distillée à sec sous vide puis par deux ou trois remises en solution éthanolique et distillations à sec sous vide successives, on assure l'élimination totale de l'acide chlorhydrique. Le résidu repris dans 25 ml d'éthanol absolu<sup>2)</sup>, fournit la solution-mère d'aglycone.

a) *Solution S simple d'aglycone.* 4 ml de solution-mère d'aglycone sont amenés à 10 ml dans un ballon jaugé au moyen d'éthanol absolu<sup>2)</sup>. Le spectre est déterminé aussitôt.

b) *Solution S d'aglycone avec éthylate de sodium.* Dans un ballon jaugé de 10 ml, on mélange 4 ml de solution-mère d'aglycone et 4 ml de solution 0,01M d'éthylate de sodium éthanolique<sup>4)</sup>, puis amène au trait de jauge avec de l'éthanol absolu<sup>2)</sup>. Le spectre est déterminé après 1 h et après 18 h.

Les données spectrales relatives à ces solutions S d'aglycones figurent dans le tableau II.

**III. - Interprétation des données spectrales.** - a) *Spectres en présence d'acétate de sodium.* Parmi les 5 dérivés du rutoside étudiés, seul J<sub>3</sub> accuse un déplacement bathochrome (Tableau I,

<sup>2)</sup> Ethanol absolu dénaturé avec 5% de méthanol, fraîchement distillé.

<sup>3)</sup> Produit anhydre, puriss. p. a, FLUKA A.G., Buchs SG.

<sup>4)</sup> La solution peut être préparée soit par dissolution de 68 mg d'éthylate de sodium (produit purum, FLUKA A.G., Buchs SG) dans 100 ml d'éthanol absolu, soit par réaction de 23 mg de sodium dans 100 ml d'éthanol absolu. Cette deuxième préparation nous a paru plus stable que la première.

Tableau I. *Données spectrales des constituants majeurs du HER et du rutoside en solution éthanolique et en présence des différents réactifs*

Composé	EtOH		EtOH/AcONa				EtOH/EtONa				EtOH/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> /AcONa					
	Bande I		Bande II		Bande I		Bande II		Bande I		Bande II		Bande I		Bande II	
	$\lambda_{max}$ (nm)	$\log \epsilon_{max}$	$\lambda_{max}$ (nm)	$\log \epsilon_{max}$	$\lambda_{max}$ (nm)	$\Delta\lambda a$ (nm)	$\lambda_{max}$ (nm)	$\Delta\lambda a$ (nm)	$\lambda_{max}$ (nm)	$\Delta\lambda b$ (nm)	$\lambda_{max}$ (nm)	$\Delta\lambda b$ (nm)	$\lambda_{max}$ (nm)	$\Delta\lambda c$ (nm)	$\lambda_{max}$ (nm)	$\Delta\lambda c$ (nm)
B <sub>1</sub>	345	4,33	251	4,39	345	0	251	0	345	0	251	0	345	0	251	0
B <sub>2</sub>	351	3,97	254	4,05	351	0	254	0	399	+48	258	+4	351	0	254	0
J <sub>1</sub>	355	4,28	256	4,36	354	-1	255	-1	382	+27	285	+29	355	0	255	-1
J <sub>2</sub>	358	4,07	257	4,15	359	+1	258	+1	400	+42	276	+19	358	0	257	0
J <sub>3</sub>	358	3,78	257	3,87	366	+8	269	+12	405	+47	275	+18	360	+2	257	0
Rutoside	365		258		396	+31	270	+12	420	+55	273	+15	390	+25	265	+7

$\Delta\lambda a = \lambda_{max}(\text{EtOH/AcONa}) - \lambda_{max}(\text{EtOH})$ ;  $\Delta\lambda b = \lambda_{max}(\text{EtOH/EtONa}) - \lambda_{max}(\text{EtOH})$ ;  
 $\Delta\lambda c = \lambda_{max}(\text{EtOH/H}_3\text{BO}_3/\text{AcONa}) - \lambda_{max}(\text{EtOH})$

$\Delta\lambda a = +12$  nm) de la bande II, déplacement présenté également par le rutoside. Ce fait traduit pour J<sub>3</sub> comme pour le rutoside la présence en 7 d'un OH phénolique libre.

Cette bande II n'est guère affectée dans le cas des substances B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, J<sub>1</sub> et J<sub>2</sub> (Tableau I,  $\Delta\lambda a = -1$  à  $+1$ ), ce qui révèle chez celles-ci un groupe alcoyloxy en 7.

b) *Spectres en présence d'éthylate de sodium.* On constate (Tableau I) des déplacements bathochromes marqués de la bande II pour J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub>, J<sub>3</sub> et le rutoside ( $\Delta\lambda b =$  resp.  $+29$ ,  $+19$ ,  $+18$  et  $+15$  nm) mais non pour B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub> ( $\Delta\lambda b =$  resp.  $0$  et  $+4$  nm). Ces observations indiquent qu'un OH phénolique libre en 5 est présent dans J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub>, J<sub>3</sub> et le rutoside, alors qu'il est étherifié dans B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub>.

La stabilité vis-à-vis de l'alcali de la bande I de chacune des 5 substances et du rutoside indique qu'aucune de ces substances ne possède de OH libre ni en 3 ni en 4'. Effectivement le rutoside comme ses dérivés hydroxyéthylés présentent en 3 un reste osyloxy (rhamnosido-glucose).

Par hydrolyse acide (voir p. 1422), la chaîne osidique est scindée avec création d'un OH éno-lique libre en 3. Nous constatons alors que la bande I des spectres des aglycones (Tableau II) subsiste en présence d'éthylate de sodium pour les aglycones de B<sub>1</sub>, de B<sub>2</sub>, de J<sub>1</sub>, de J<sub>2</sub> et de J<sub>3</sub> alors qu'elle disparaît pour la quercétine (aglycone du rutoside). Cette stabilité vis-à-vis de l'alcali des spectres des aglycones des constituants du HER ne peut être attribuée qu'à l'absence, chez chacun d'eux, d'un OH libre en 4', tandis que l'instabilité du spectre observée dans les mêmes conditions pour la quercétine indique bien la présence d'un OH phénolique libre dans cette position.

c) *Spectres en présence d'acide borique – acétate de sodium.* En présence d'acide borique et d'acétate de sodium (Tableau I) les bandes I des spectres ne montrent pas de déplacements sensibles ( $\Delta\lambda c = 0$  à  $+2$  nm) sauf dans le cas du rutoside ( $\Delta\lambda c = +25$  nm). Ceci indique qu'aucun des 5 constituants examinés du HER ne possède deux OH phénoliques libres en 3' et 4', alors que

Tableau II. *Données spectrales des aglycones des 5 constituants majeurs du HER et de la quercétine en solution éthanolique et en présence d'éthylate de sodium*

Composé	EtOH		EtOH/EtONa	
	Bande I	Bande II	Bande I	Bande II
	$\lambda_{max}$ (nm)	$\lambda_{max}$ (nm)	$\lambda_{max}$ (nm)	$\lambda_{max}$ (nm)
Aglycone de B <sub>1</sub>	364	253	407	264
Aglycone de B <sub>2</sub>	373	257	433	270
Aglycone de J <sub>1</sub>	370	255	416	266
Aglycone de J <sub>2</sub>	371	256	442	275
Aglycone de J <sub>3</sub>	369	257	440	277
Quercétine	375	257	—	317

