

317. Isolement et identification de l'évernine dans la «mousse de chêne» (*Evernia prunastri* (L.) Ach.)

2^e Communication

par Gilles Nicollier et Raffaele Tabacchi

Institut de Chimie de l'Université, 51, avenue de Bellevaux, 2000 Neuchâtel, Suisse

(9. IX. 76)

Isolation and identification of evernine in 'Oakmosses' (*Evernia prunastri* (L.) Ach.).
– *Summary.* A new depside, evernin (**1**), has been found in the lichen *Evernia Prunastri* (L.) Ach. The determination of the structure and the spectral parameters of **1**, especially the ¹³C-NMR. spectrum, are described.

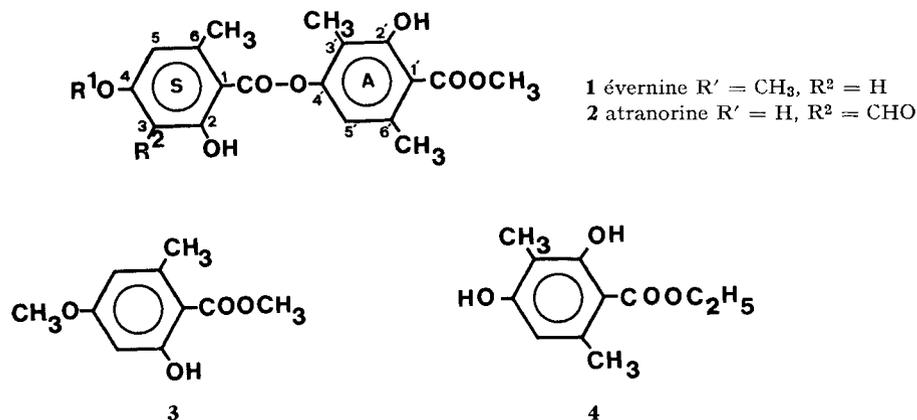
Introduction. – Dans un précédent mémoire [1] nous avons signalé la présence de nombreux composés depsidiques et phénoliques dans des extraits du lichen *Evernia Prunastri* (L.) Ach. Du point de vue quantitatif, l'acide évernique, l'atranorine, la chloratranorine et l'acide usnique représentent un très fort pourcentage. Cependant, de nombreux autres composés semblables ainsi que plusieurs dérivés monoaryliques, qui sont en fait des produits de dégradation des depsides, se retrouvent dans les fractions acides des extraits de «mousse de chêne». Une étude plus détaillée de la composition chimique de ces fractions semble montrer la présence de substances à structure inconnue. Le présent travail a trait à l'identification d'un nouveau depside, l'évernine, dont la présence n'a pas encore été relevée dans les lichens.

Résultats. – Le nouveau composé **1** a été isolé avec d'autres depsides connus [2] et des dérivés phénoliques à partir d'une fraction étherée obtenue par extraction d'une concrète de «mousse de chêne» de Yougoslavie. Par chromatographie sur une colonne de Silicagel (élution: acétate d'éthyle/ligroïne 8:2) suivie d'une purification sur colonne de Sephadex LH 20, nous avons obtenu **1** ainsi que les deux produits d'alkolyse **3** et **4** à l'état pur.

La structure de ces deux derniers composés a pu être établie immédiatement par spectroscopie IR., RMN. et par MS., ainsi que par comparaison avec les produits de synthèse.

Le spectre IR. de **1** présente les bandes caractéristiques des depsides et montre en particulier la présence de groupes hydroxyle en ortho d'une ou de deux fonctions carbonyles ($\nu(\text{CO}) = 1640 \text{ cm}^{-1}$).

Le spectre ¹H-RMN. (60 MHz) montre neuf singulets dont les déplacements chimiques correspondent pour une partie à ceux des signaux ou des substituants du cycle S de l'acide évernique et pour l'autre partie à ceux du cycle A de l'atranorine [3]. Nous observons en effet pour le cycle S de l'évernine (**1**) les déplacements chi-



miques suivants (δ en ppm) : un groupe méthyle à 2,68 ($\text{CH}_3\text{-C}(6)$), un groupe méthoxy à 3,85 ($\text{CH}_3\text{O-C}(4)$), deux protons aromatiques à 6,42 et un groupe hydroxyle à 11,97. Pour le cycle S on distingue 2 groupes méthyle à 2,13 ($\text{CH}_3\text{-C}(3')$) et 2,57 ($\text{CH}_3\text{-C}(6')$), un groupe méthoxycarbonyle à 3,99, un proton aromatique à 6,58 et un groupe hydroxyle à 11,50. L'absence de couplage entre les différents protons pourrait laisser subsister quelques doutes sur l'assignation empirique de ces singlets et surtout sur les positions relatives des divers substituants.

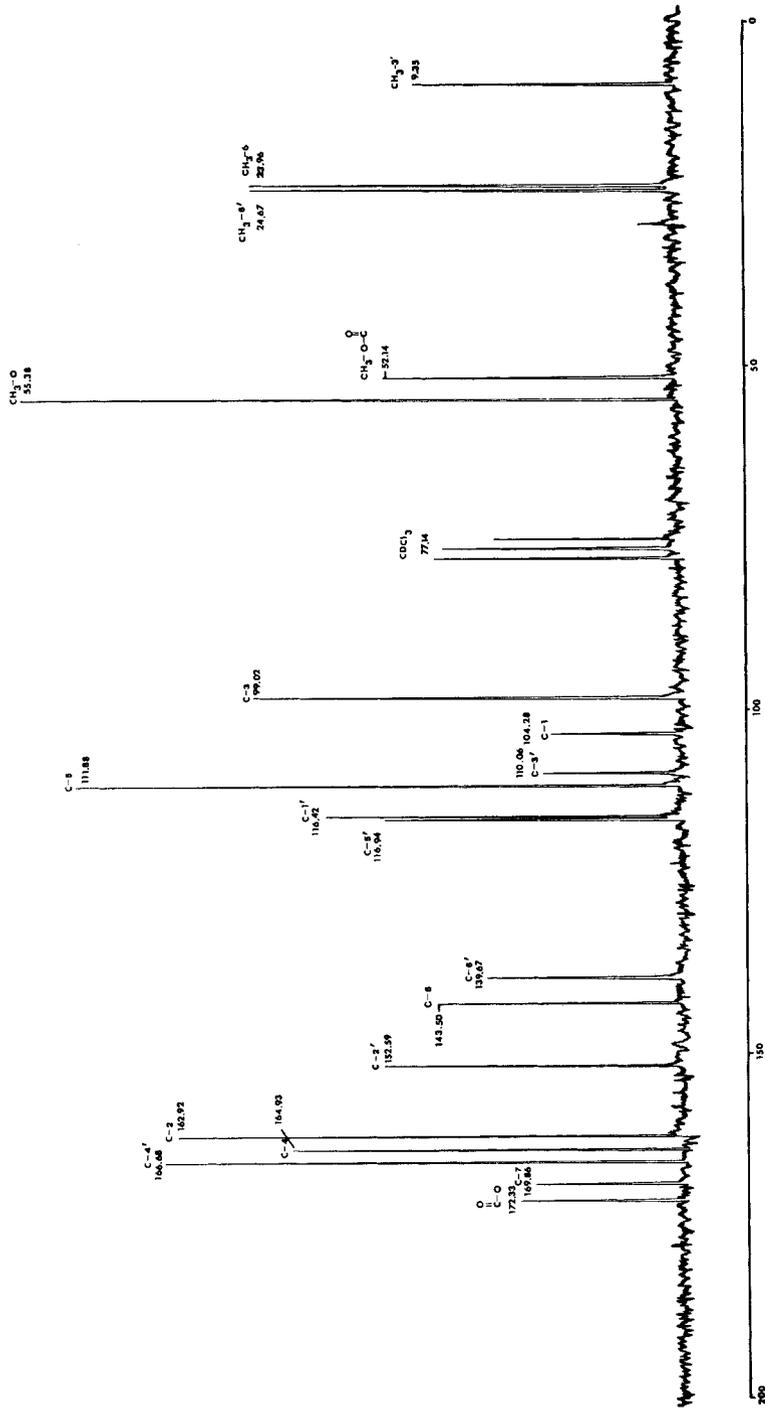
Le spectre ^{13}C -RMN. (22,63 MHz) de l'évernine **1** (fig.) et la comparaison avec celui de l'atranorine ou encore ceux des deux dérivés monoaryliques **3** et **4** (tableau) nous permettent de constater une correspondance remarquable des déplacements chimiques des différents atomes de carbone portant des substituants analogues. La seule différence notable se situe au niveau du C(3) qui, pour l'atranorine, est porteur d'une fonction carbonyle. Aucun spectre ^{13}C -RMN. du depside étant décrit, l'assignation des différents signaux a été faite d'abord sur **3** et **4** à l'aide des spectres « off resonance ». Le calcul théorique des déplacements chimiques des atomes de carbone aromatiques d'après les règles d'additivité d'après [4] confirme bien les valeurs expérimentales obtenues. Relevons pour les substituants la valeur très faible de l'atome de carbone $\text{CH}_3\text{-C}(3')$.

La fragmentation en spectrographie de masse de l'évernine (Schéma) est aussi univoque. L'intensité de l'ion moléculaire ($m/e = 360$) et des ions à m/e 194 et 164, 165 prouve bien la stabilité et la nature des cycles A et S du depside **1**.

La fragmentation successive de ces ions est en accord avec les données de la littérature [5].

Notons enfin que l'hydrolyse basique de l'évernine conduit à l'orcinol et au dihydroxy-2,6-diméthyl-1,4-benzène. Ces deux composés ont été caractérisés par chromatographie sur couche mince et par GC./MS.

Discussion. – Tous les depsides connus jusqu'ici se subdivisent en dérivés de l'orcinol ou du β -orcinol. Il est en effet généralement admis que ces deux composés, biosynthétisés par le lichen d'après la voie acétate-polymalonate, donnent lieu, par



Spectre $^{13}\text{C-RMN}$. (22,63 MHz) de l'évérimine I

Déplacements chimiques des atomes de carbone depsidiques¹⁾

	C(1)	C(2)	C(3)	C(4)	C(5)	C(6)	C(7)
1	104,28	162,92	99,02	164,93	111,88	143,50	169,86
2	104,51	163,50	84,15	163,00	112,90	149,00	169,01
3^{a)}	104,87	163,47	98,37	165,00	110,52	142,55	171,50
	C(1')	C(2')	C(3')	C(4')	C(5')	C(6')	
1	116,42	152,59	110,06	166,68	116,94	139,67	
2	115,80	152,07	110,50	166,00	116,90	140,01	
4^{a)}	109,00	158,67	105,20	163,28	110,70	140,08	

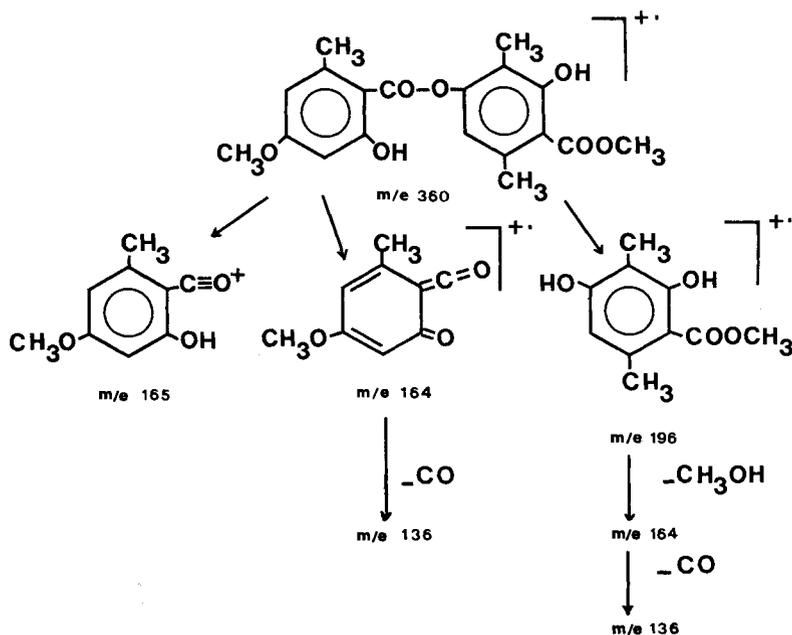
^{a)} Même numérotation que celle du cycle S ou A des depsides.

Déplacements chimiques des substituants¹⁾

	CHO—C(3)	CH ₃ O—C(4)	CH ₃ —C(6)	COO—C(1')	COOCH ₃	CH ₃ —C(3')	CH ₃ —C(6')
1		55,38	23,96	172,33	52,14	9,35	24,67
2	193,69		21,10	172,00	51,00	9,40	24,00
3		54,60	23,58		52,30		
4				172,25		7,72	24,10

¹⁾ Spectres enregistrés à 22,63 MHz dans CDCl₃ (δ en ppm par rapport au TMS).

Schéma de fragmentation de l'évérvine



esterification intermoléculaire de deux ou trois unités identiques ou analogues aux deux grandes classes de depsides. L'évernine, dont la structure comporte, pour le cycle S une unité orcinol et pour le cycle A une unité β -orcinol constitue en exception à cette règle.

Un autre exemple, mais dans lequel le cycle S est une unité β -orcinol, est l'acide obtusatique qui a été trouvé dans le genre *Ramalina* [2]. D'après Huneck¹⁾ la voie biosynthétique générale conduisant à l'évernine serait la même que pour les autres depsides. La seule modification importante interviendrait au stade de l'esterification.

Nous remercions le Prof. A. Jacot-Guillarmod et M. J. Garnero de tout l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail, la maison Robertet & Cie à Grasse pour la fourniture du matériel de départ, les maison Hoffmann-La Roche & Co. (Bâle) et Spectrospin (Zurich) pour l'enregistrement des spectres ¹³C-RMN.

Partie expérimentale

Généralités. – 400 g de concrète benzénique de «mousse de chêne» de Yougoslavie (produit Robertet & Cie, Grasse) sont extrait à chaud par de l'éther éthylique. On refroidit et élimine par filtration presque la totalité d'acide évernique, d'atranorine et de chloratranorine, d'acide usnique et de β -orcinol-carboxylate de méthyle. Les acides restants sont ensuite extraits par la voie classique et séparés sur colonne de silicagel (éluant AcOEt/ligroïne 8:2, la teneur en AcOEt est augmentée graduellement). Les produits **1**, **3** et **4** obtenus sont ensuite purifiés séparément par passage sur une colonne de Sephadex LH 20 (solvant MeOH).

Le depside **1** a été hydrolysé en milieu alcalin par chauffage à reflux. Les produits obtenus, l'orcinol et le dihydroxyl-2,6-diméthyl-1,4-benzène, sont ensuite analysés par chromatographie sur couche mince et par GC./MS.

Données analytiques. – Composé **1** (quantité isolée: 80 mg): F = 192° recristallisé dans MeOH. – UV.: λ_{\max} = 305, 265, 221 nm. – IR.: 2940f, 2840m, 1640ff, 1600ff, 1560f, 1430m, 1255m, 1225m, 1170m, 1140m, 1090m, 820m. – ¹H-RMN. (DCCl₃): 2,13 (s, H₃C–C(3')); 2,57 (s, H₃C–C(6')); 2,68 (s, H₃C–C(6)); 3,85 (s, H₃CO); 3,99 (s, H₃COOC); 6,42 (s, H–C(5 et 3)); 6,58 (s, H–C(5')); 11,50 (s, HO–C(2')); 11,97 (s, HO–C(4)). – SM. (m/e, (I%)): 360 (8,5) (M⁺), 196 (15), 166 (35), 165 (100), 164 (48), 149 (10), 137 (6,5), 136 (52), 135 (9,5), 121 (5), 109 (14,5), 108 (7), 107 (13), 94 (8), 93 (7), 79 (18), 78 (8), 77 (20), 67 (11), 55 (14), 39 (18). m*: 163,17 (196 → 179), 137,22 (196 → 164), 112,78 (164 → 136), 106,71 (360 → 196).

Les spectres IR., ¹H- et ¹³C-NMR. et les SM. ont été enregistrés respectivement sur les appareils Perkin-Elmer 521, Varian A60-A, Bruker HX-90 et Hitachi-Perkin-Elmer RMU-6L (75 eV).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] J. Gavin & R. Tabacchi, *Helv.* 58, 190 (1975).
- [2] C. F. Culberson. *Chemical and Botanical Guide to Lichen Products*. University of North Carolina Press 1969.
- [3] S. Huneck & P. Linscheid, *Z. Naturforsch.* 23b, 717 (1968).
- [4] G. C. Levy & G. L. Nelson, *Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance for Organic Chemists*, Wiley, Interscience 1972.
- [5] S. Huneck, C. Djerassi, D. Becher et M. Barber, M. von Ardenne, K. Steinfeldler & R. Tümmeler, *Tetrahedron* 24, 2707 (1968).

1) Communication privée.