

167. Contribution à l'étude du comportement de la catéchine en milieu alcalin

par Pierre Courbat, André Weith et Alban Albert

Groupe de chimie des polyphénols, Zyma SA, CH-1260 Nyon

et Andrew Pelter

University College of Swansea, Department of Chemistry, Swansea (Great-Britain)

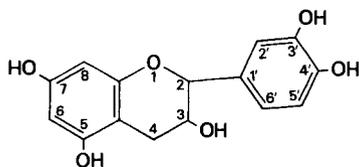
(7. IV. 77)

Contribution to the study of the behaviour of catechin in alkaline medium

Summary

When catechin (**1**) is warmed with aqueous alkali it first undergoes rapid epimerisation. After some time a novel bridged carbocyclic enol, catechinic acid (**3**) separates out and may be isolated in excellent yield. Eventually catechinic acid isomerises to 2-(3',4'-dihydroxyphenyl)-3,9-epoxy-6-oxo-bicyclo[3,3,1]-non-7-en-8,9-diol (**4**) via an open chain anion (**5**) which is also involved in the epimerisation of catechin. Assignments of structure are given and the equilibria observed are discussed.

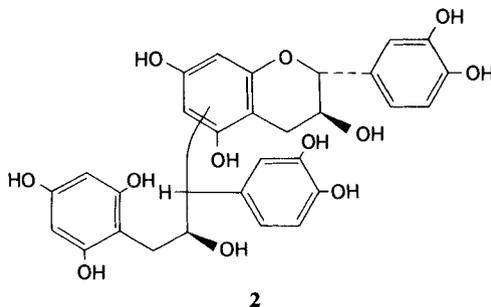
En 1830, *Nees von Esenbeck* [1] a montré qu'un extrait végétal, le catéchu, dont le constituant principal est la catéchine, appelée également cyanidanol-3, devient brun-rouge foncé dans une solution aqueuse de carbonate de potassium. Plus tard, *Freudenberg et al.* [2-4] ont trouvé qu'en milieu aqueux faiblement alcalin, la (+)-catéchine (**1a**) est épimérisée en (+)-épicatechine (**1b**) et la (-)-catéchine (**1c**) en (-)-épicatechine (**1d**).



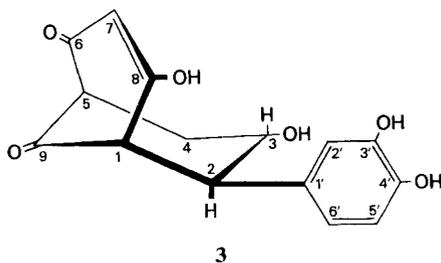
1a 2*R*,3*S* **1b** 2*S*,3*S* **1c** 2*S*,3*R* **1d** 2*R*,3*R*

Metha & Whalley [5] ont proposé que la catéchine s'épimérise par ouverture et fermeture de la liaison O(1)-C(2) avec la participation de l'ion phénate en position 4', formé en milieu alcalin. En effet, ils ont montré que la *O*-tétraméthyl-5,7,3',4'-(+)-catéchine, dans laquelle il ne peut pas se former de phénate en 4', ne s'épimérise pas.

Selon *Freudenberg & Weinges* [6], la (+)-catéchine (**1a**) se polymérise après chauffage dans une solution aqueuse faiblement alcaline. Ils ont isolé un dimère (**2**) formé par ouverture de la liaison O(1)–C(2) d'une molécule de catéchine et condensation avec la position 6 ou 8 d'une autre molécule de catéchine.



Nous avons ensuite trouvé [7] qu'en milieu dilué faiblement alcalin, **1a** et **1b** se transposent en un même produit, le (+)-dioxo-6,9-(dihydroxy-3',4'-phényl)-2-bicyclo-[3,3,1]-nonène-7-diol-3,8 (**3**); **1c** et **1d** forment l'énantiomère de **3**.



Récemment, *Sears et al.* [8] on préparé **3** à partir de **1a** dans des conditions réactionnelles semblables aux nôtres. Ils ont appelé **3** acide catéchinique et ont suggéré une voie réactionnelle passant par l'ouverture de la liaison O(1)–C(2) de **1a** puis recyclisation entre C(8) et C(2).

Nous présentons ici nos résultats sur le comportement de la catéchine en milieu alcalin. Cette étude complète et développe notre première publication [7] et aide à rationaliser les observations antérieures.

Résultats. – La littérature [2–5] n'indiquant pas si l'épimérisation de la catéchine en épicatechine est réversible, nous avons étudié la réaction de **1b** en milieu alcalin, à température ambiante. Nous l'avons tout d'abord suivie par chromatographie sur couche mince (CCM.) Un pic de même R_f que **1a** est apparu très rapidement. Après 3 heures de réaction, l'intensité du pic correspondant à **1a** était plus grande que celle du pic correspondant à **1b**. Avec le temps, l'intensité des deux pics a lentement diminué, au profit d'autres.

Nous avons ensuite répété la réaction, et après 6 heures nous avons isolé le mélange des produits et avons silylé les groupes hydroxyle avec de la *N,O*-bis(triméthylsilyl)-trifluoroacétamide. Par chromatographie en phase gazeuse, nous avons observé 2 pics principaux, l'un (70%) de même temps de rétention que celui de la pentakis(triméthyl-

silyl)-3, 5, 7, 3', 4'-(+)catéchine et l'autre (30%) de même temps de rétention que la pentakis(triméthylsilyl)-3, 5, 7, 3', 4'-(+)-épicatéchine.

Nous avons également chauffé à reflux une solution aqueuse à 1% de **1a** pendant 19 heures à pH 10. Par chromatographie sur colonne de Séphadex G-10, nous avons isolé les deux principaux produits de la réaction. Le premier a été obtenu avec un rendement de 83%. Il s'agit de l'acide catéchinique (**3**).

Les spectres UV., IR., ¹H-RMN. et les spectres de masse en prouvent la structure (voir partie expérimentale). Nous avons pris le spectre ¹³C-RMN. de **3** dans D₂O à

Tableau 1. Spectres ¹³C-RMN de **3** dans D₂O à différents pH (référence: dioxane)

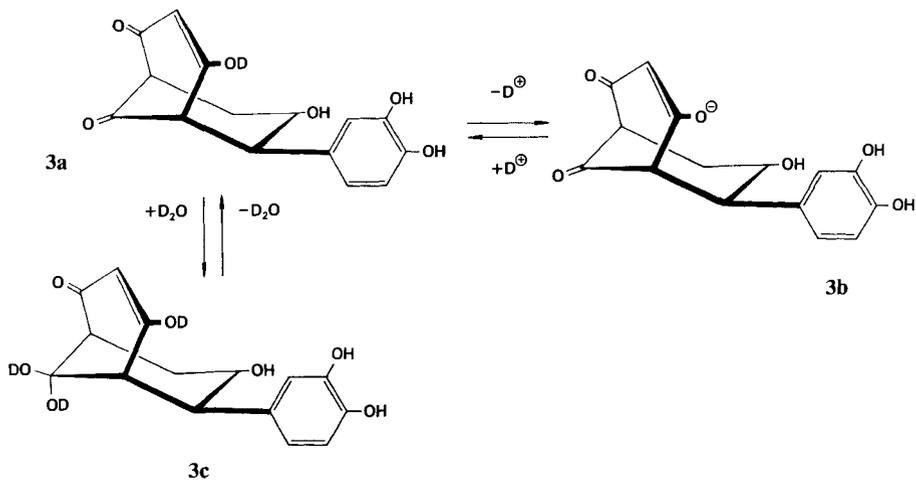
δ (ppm)			attributions		
N° 1 (pH ~6)	N° 2 (pH 4)	N° 3 (pH 1)	3b	3a	3c
		32,4 (t)			C(4)
36,7 (t) ^{a)}	36,7 (t)	36,7 (t)	C(4)	C(4)	
		47,9 (d)			C(2)
		50,8 (d)			C(1) ou C(5)
53,6 (d)	53,6 (d)	53,6 (d)	C(2)	C(2)	
	57,9 (d)	56,6 (d)		C(1) ou C(5)	
58,3 (d)			C(1) ou C(5)		
		59,3 (d)			C(1) ou C(5)
	65,8 (d)	64,2 (d)		C(1) ou C(5)	
66,4 (d)		66,4 (d)	C(1) ou C(5)		C(3)
	66,8 (d)	66,5 (d)		C(3)	
67,0 (d)			C(3)		
		96,6 (s)			C(9)
		105,3 (d)			C(7)
106,2 (d)			C(7)		
	106,4 (d)	107,3 (d)		C(7)	
117,1 (d)	117,1 (d)		C(2'), C(5')	C(2), C(5')	C(2'), C(5')
117,3 (d)	117,2 (d)	117,1 (d)			
	121,9 (d)	121,9 (d)		C(6')	C(6')
122,0 (d)			C(6')		
		131,1 (s)			C(1')
	131,6 (s)	132,4 (s)		C(1')	
131,8 (s)			C(1')		
		143,8 (s)			C(3')
144,1 (s)			C(3')		
	144,2 (s)	144,3 (s)		C(3')	
144,6 (s)			C(4')		
	144,7 (s)	144,7 (s)		C(4')	C(4')
		188,1 (s)			C(6) ou C(8)
	190,6 (s)	190,6 (s)		C(6) ou C(8)	
191,5 (s)			C(6) ou C(8)		
		191,9 (s)			C(6) ou C(8)
	192,5 (s)	192,5 (s)		C(6) ou C(8)	
193,1 (s)			C(6) ou C(8)		
	211,4 (s)	209,2 (s)		C(9)	
212,2 (s)			C(9)		

a) Multiplicité du spectre partiellement découplé.

différents pH. Nous avons d'abord préparé le sel de sodium de **3** (**3b**) que nous avons dissous dans D₂O; le pH était d'environ 6. La description et l'attribution des pics du spectre de **3b** est donnée dans le *Tableau 1* (spectre N° 1).

Les pics correspondant aux atomes de carbone du groupe pyrocatéchyle ont des déplacements chimiques proches de ceux de flavonoïdes [9] et de lignanes [10] ayant ce même groupe. Les pics de $\delta = 191,5$ et $193,1$ ppm peuvent être attribués aux C(6) et C(8) alors que le pic de $\delta = 106,2$ ppm peut être attribué au C(7), si l'un des groupes carbonyle est sous forme énoilate (on ne peut pas déterminer lequel). Ces déplacements chimiques peuvent être comparés en effet à ceux de la forme énoilique de la diméthyl-5,5-cyclohexanedione-1,3 [11] dont les C(1) et C(3) ont un déplacement chimique de $190,2$ ppm et le C(2) a un déplacement chimique de $102,5$ ppm. Les autres pics du spectre N° 1 sont compatibles avec la structure **3b**.

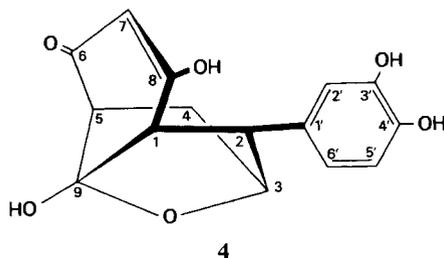
Schéma 1



Nous avons ensuite acidifié la solution à pH 4. Certains pics du spectre (N° 2 du *Tableau 1*) sont déplacés. Ce sont surtout le C(6) et le C(8) ($\delta = 191,5 \rightarrow 190,6$ ppm et $\delta = 193,1 \rightarrow 192,5$ ppm), le C(5) ($\delta = 58,3 \rightarrow 57,9$ ppm) et le C(1) ($\delta = 66,4 \rightarrow 65,8$ ppm). Ceci s'explique par le fait qu'à ce pH l'énole de l'acide catéchinique est partiellement protoné et qu'il y a équilibre rapide de protonation. Nous avons encore acidifié la solution à pH 1. Le nombre de pics (spectre N° 3) a passé de 15 à 25. Certains ont été dédoublés par rapport au spectre N° 2. Un pic de $\delta = 96,6$ ppm est apparu. Il peut correspondre à un atome de carbone sur lequel sont fixés deux atomes de carbone et deux d'oxygène, comme par exemple le C(2) du diméthyl-2,2-dioxane-1,3 dont le déplacement chimique vaut $96,3$ [12]. Dans notre cas, il doit s'agir du C(9) dont la fonction carbonyle est hydratée. Le spectre N° 3 s'explique par le fait qu'il y a un équilibre lent entre les formes hydratée et non hydratée. Comme la vitesse d'hydratation d'un group carbonyle augmente avec l'acidité de la solution [13], nous avons ajouté une solution de HCl à 25%. Il y a alors eu élargissement des pics du spectre.

Le C(3), dont la différence de déplacements chimiques entre les pics des deux formes (**3a** et **3c**) est faible à pH 1, ne donne qu'un signal en milieu plus acide ($\delta = 66,4$ et $66,5 \rightarrow 66,45$ ppm).

Le second produit de la réaction de **1a** en milieu alcalin a été isolé avec un rendement de 10%. Il s'agit du (dihydroxy-3',4'-phényl)-2-époxy-3,9-oxo-6-bicyclo[3,3,1]-nonèn-7-diol-8,9 (**4**).



Le spectre de masse à haute résolution de **4** montre qu'il a une formule brute de $C_{15}H_{14}O_6$; c'est donc un isomère de **1** et de **3**. Comme **3**, **4** comporte une fonction acide plus forte qu'un phénol, son titrage montre un pK_a de 3,2. Son spectre IR. n'a pas de bande à $\tilde{\nu} = 1742\text{ cm}^{-1}$ (C=O en position 9) comme celui de **3**. Une large bande à $\tilde{\nu} = 1580\text{ cm}^{-1}$ peut correspondre à un groupe de β -dicétone énolisé [14]. Le spectre ^{13}C -RMN. (Tableau 2) montre que le groupe pyrocatechyle est conservé dans cette molécule. En effet, il y a 6 pics dont les déplacements chimiques sont proches de ceux des atomes de carbone aromatiques de **3** et des produits modèles [9] [10]. La présence d'un groupe β -dicétone énolisé est confirmée par ce spectre puisqu'il y a 3 pics de déplacements chimiques proches de ceux des C(1), C(2) et C(3) de la forme énolique de la diméthyl-5,5-cyclohexanedione-1,3 [11]. Comme dans **3**, on ne peut pas déterminer si c'est le groupe carbonyle en position 6 ou celui en position 8 qui est sous forme énolique. Dans ce spectre, il n'y a pas de pic correspondant à un groupe carbonyle isolé comme dans les spectres de **3a** et **3b**. Par contre, le pic à $\delta = 111,7$ ppm peut correspondre à l'atome de carbone d'un hémicétal. Son déplacement chimique est plus élevé que celui de C(9) du **3c** qui est également environné de deux atomes de carbone et de deux d'oxygène. Mais, dans la littérature, il y a quelques exemples de produits ayant un tel atome de carbone dont le déplacement chimique est

Tableau 2. Spectre ^{13}C -RMN de **4** dans $\text{DMSO}-d_6$ (référence = dioxane)

δ (ppm)	attributions	δ (ppm)	attributions
47,7 (<i>t</i>) ^a	C(4)	116,0 (<i>d</i>)	C(2') ou C(5')
57,2 (<i>d</i>)	C(1) ou C(5)	117,4 (<i>d</i>)	C(2') ou C(5')
58,2 (<i>d</i>)	C(1) ou C(5)	120,5 (<i>d</i>)	C(6')
~67 (?)	C(2) (caché sous dioxane) (?)	137,7 (<i>s</i>)	C(1')
81,4 (<i>d</i>)	C(3)	144,5 (<i>s</i>)	C(3')
99,9 (<i>d</i>)	C(7)	145,6 (<i>s</i>)	C(4')
111,7 (<i>s</i>)	C(9)	192,9 (<i>s</i>)	C(8) ou C(6)
		194,5 (<i>d</i>)	C(8) ou C(6)

^a) Multiplicité du spectre partiellement découplé.

proche de celui de **4** (attribué au C(9)) : dans l'exobrevicomine [15], l'atome de carbone du groupe acétal a un déplacement chimique de 107,6 ppm et dans l'azadirachtine [16] un tel atome de carbone a un déplacement chimique de 104,1 ppm. Le C(3) de **4** peut être comparé à l'atome de carbone en tête de pont de l'oxa-7-norbornane. Le déplacement chimique de ce dernier est de 75,8 ppm [17] alors que le pic attribué au C(3) de **4** a un déplacement chimique de 81,4 ppm, ce qui est assez proche, compte tenu des substituants. Les autres pics du spectre sont compatibles avec la structure de **4**.

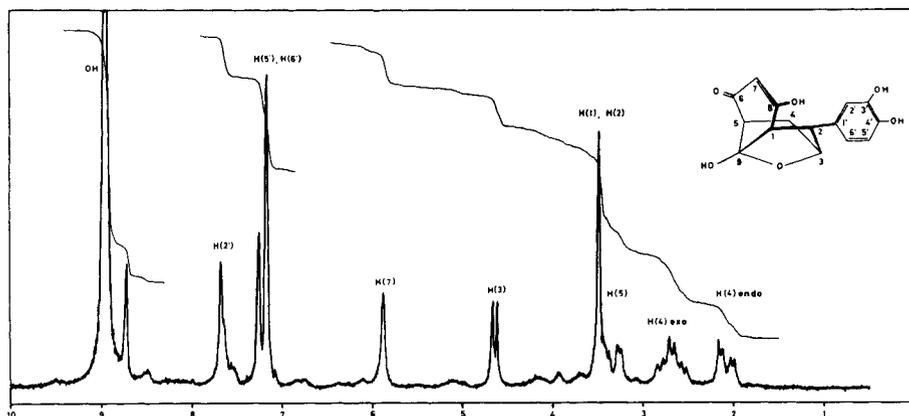


Fig. 1. Spectre ^1H -RMN. de **4** dans la pyridine- d_5

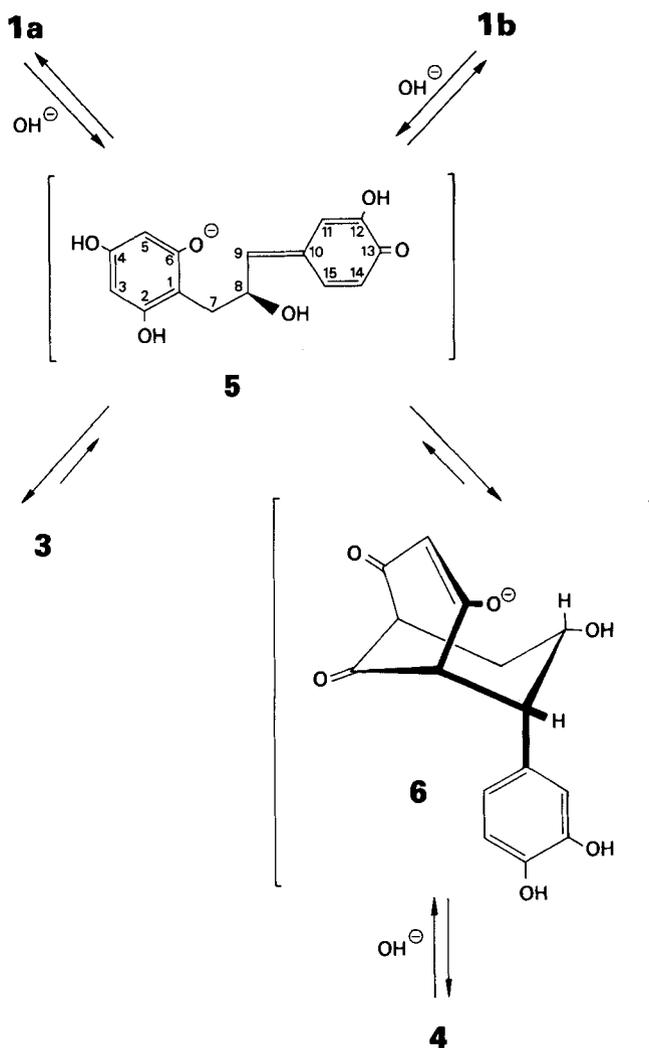
Dans le spectre ^1H -RMN. (Fig. 1), le signal du H-C(3) est un doublet à $\delta = 4,62$ ppm. Comparons-le au signal du H-C(1), en tête de pont, du carbométhoxy-2-*exo*-oxa-7-norbornane [18]: il donne également un doublet à $\delta = 4,73$ ppm car il ne couple qu'avec H_{exo} -C(6), l'angle dièdre avec H_{endo} -C(6) et H-C(2) qui est aussi *endo*, étant d'environ 90° . De même pour l'*exo*- et le carbométhoxy-2-*exo*- et le carbométhoxy-2-*endo*-oxa-7-norbornène-5 [18], la constante de couplage entre H-C(1) et H-C(2) est pratiquement nulle dans la forme *exo* alors qu'elle vaut 4 Hz dans la forme *endo*. Comme l'environnement du H-C(3) de **4** est comparable à celui de l'atome d'hydrogène en tête de pont des modèles, il semble que le groupe pyrocatechyle soit *exo*. Les signaux de H-C(1) et de H-C(2) sont des singulets superposés. En effet, H-C(2) ne couple pas avec H-C(3) et on ne voit pas le couplage entre H-C(2) et H-C(1) puisque les signaux ont le même déplacement chimique. Le H_{endo} -C(4) donne un doublet de doublets car il couple avec H_{exo} -C(4) ($J = 12$ Hz) et avec H-C(5) ($J = 4,8$ Hz). H_{exo} -C(4) donne un septuplet car il couple avec H_{endo} -C(4), avec H-C(5) ($J = 12$ Hz) et avec H-C(3) ($J = 6$ Hz). H-C(5) donne probablement un doublet de doublets (le signal est partiellement caché) car il couple avec 2H-C(4).

Nous avons répété la réaction décrite ci-dessus mais à partir de (-)-catéchine (**1c**). Les deux principaux produits formés étaient les antipodes de **3** et **4**. Les quantités de ces produits étaient les mêmes que lorsque la réaction était faite à partir de **1a**. Ils ont été analysés par comparaison de leurs spectres IR. qui sont les mêmes que ceux de **3** et **4**. Leur pouvoir rotatoire est, aux erreurs d'expérience près, le même que celui de **3** et de **4** mais de signe opposé.

Nous avons fait réagir **3** dans les conditions de la réaction précédente. Il ne se forme pas **1a** ni **1b**; par contre, il se forme **4**. Lorsqu'on met **4** dans les mêmes conditions, il se forme **3** mais pas **1a** ni **1b**.

La formation des produits de réaction de **1a**, dans les mêmes conditions réactionnelles, a été suivie semi-quantitativement par chromatographie sur couche mince. Il se forme rapidement un pic de même Rf que **1b** puis après quelques minutes un pic de même Rf que **3** et un pic de Rf nul (probablement des polymères). Après 30 minutes de chauffage à reflux les pics de Rf correspondant à ceux de **1a** et **1b** ont totalement disparu et peu à peu apparaît un pic correspondant à **4**. La variation de quantité de **4** a été suivie par densitométrie. Cette quantité augmente jusqu'à environ 19 heures de

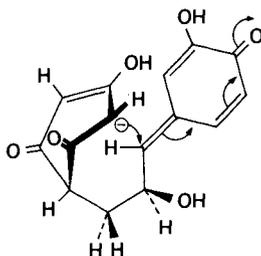
Schéma 2



réaction puis reste à peu près constante jusqu'à 50 heures de réaction, temps pendant lequel les mesures ont été faites. Lorsqu'on continue la réaction, les pics de Rf différents de zéro diminuent avec le temps alors que l'intensité des pics de Rf nul augmente. Après environ 400 heures, il ne reste plus que le pic de Rf égal à zéro.

Discussion. – Pour former l'acide catéchinique (3) à partir de la (+)-catéchine (1a) ou de la (+)-épicatéchine (1b), qui sont en équilibre, il faut ouvrir leur liaison O(1)–C(2). L'intermédiaire 5 (schéma 2) entre 1a et 1b, proposé par *Metha & Whalley* [5] peut également être un intermédiaire de la formation de 3 comme l'ont suggéré *Sears et al.* [8]. C'est probablement également à partir de 5 que se forment les polymères mis en évidence par *Freudenberg & Weinges* [6]. A pH 10, certains groupes phénol de 1a, 1b et par conséquent 5 sont déprotonés. La ou les charges négatives de 5 sont délocalisées sur les 3 atomes d'oxygène en position 2, 4 et 6 et sur les atomes de carbone 1, 3 et 5 du noyau phloroglucinol. Le C(9) peut être attaqué soit par O–C(2) ou O–C(6) pour former 1a resp. 1b soit par C(3) ou C(5) pour former 3 resp. 4. Il est en effet connu qu'il y a compétition entre la *O*-alkylation et la *C*-alkylation de phénolates [19] [20]. Le solvant a une influence importante pour favoriser l'une ou l'autre des alkylations [20]. L'eau, solvant de la réaction que nous étudions, favorise fortement la *C*-alkylation. Nous avons essayé de faire la même réaction dans le diméthylformamide, qui favorise la *O*-alkylation; 3 ne s'est pas formé à partir de 1a.

Un modèle moléculaire *Dreiding* de 5 montre que la distance minimum, sans tension, entre C(3) ou C(5) et le C(9) est d'environ 3 Å, ce qui est peu favorable à la cyclisation. Pour rapprocher les atomes de carbone, soit la chaîne aliphatique doit se plier soit, plus probablement (*cf.* [21]), le noyau phloroglucinol doit perdre son aromaticité par transformation d'au moins un groupe énole en groupe cétone et passage du C(1) de l'hybridation sp^2 à sp^3 . Un intermédiaire possible est le suivant :



Dans ce cas l'attaque du C(9) est stériquement favorisée par rapport à une autre position de la molécule. Cet atome de carbone est prochiral. Si l'attaque a lieu sur l'une des faces, il se forme l'acide catéchinique 3, si elle a lieu sur l'autre face, il doit se former un autre acide catéchinique (6) dans lequel le noyau pyrocatéchyle est axial dans la forme chaise. Ce dernier produit n'a jamais été isolé mais 4 est la forme hémicétal entre le groupe hydroxyle en position 3 et le groupe carbonyle 9 de 6. 6 est certainement thermodynamiquement moins stable que 3 puisque dans la forme chaise le groupe pyrocatéchyle est axial; 6 se stabilise en donnant 4. Nous avons en effet vu que l'acide catéchinique a fortement tendance à s'hydrater donc aussi à former un hémicétal; de plus le milieu réactionnel alcalin catalyse une telle réaction.

L'expérience nous a montré qu'il y a un équilibre rapide entre **1a** et **1b** et un équilibre lent entre **3** et **4**. On sait également qu'après un certain temps de réaction on n'observe plus ni **1a** ni **1b**. L'hypothèse la plus vraisemblable est que tout le système est en équilibre. Une fois que ce dernier est atteint, la concentration de **1a** **1b** est trop faible pour qu'on puisse les mettre en évidence.

L'équilibre entre **1a** et **1b**, *via* **5**, est atteint rapidement car l'ouverture et la fermeture du cycle se fait sans déformation de la molécule et sans empêchement stérique. De plus, tous les anions ont une stabilité comparable car ils sont dérivés d'acides de pK_a comparables. L'équilibre entre **5** et **3** est plus lent car pour former **3**, il doit y avoir déformation de **5** dans l'état de transition comme nous l'avons vu ci-dessus. De plus, cet équilibre est fortement déplacé en faveur de **3** notamment parce que son anion est plus stable que celui ou ceux de **5** (une β -dicétone cyclique est un acide plus fort qu'un dihydrorésorcinol).

L'équilibre entre **5** et **6** s'établit encore plus lentement que le précédent; **6** donne réversiblement **4**, qui est plus stable que **5** et **6**, ce qui déplace l'équilibre entre **5** et **6** en faveur de **6**.

Nous remercions le Professeur *J.-P. Kitzinger* de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg (France) pour la contribution qu'il a apportée à l'enregistrement et l'interprétation des spectres ^{13}C -RMN. de **3**. Nous remercions *Ciba-Geigy AG* à Bâle et en particulier le Docteur *H. Hurzeler* pour l'enregistrement des spectres de masse de **3** et **4**. Nous remercions également Monsieur *J.-C. Daguet* pour le travail qu'il a accompli dans la partie expérimentale.

Partie expérimentale

Les points de fusion ont été pris sur un microscope *Reichert* et sont corrigés. Les spectres UV. ont été pris avec un spectrophotomètre *Beckman Acta II*. Les spectres IR. ont été enregistrés sur un spectrophotomètre *Perkin-Elmer 457*. Les spectres ^1H -RMN ont été enregistrés avec un spectromètre *Perkin-Elmer R 32* et les spectres ^{13}C -RMN avec un spectromètre *Varian XL 100*; les déplacements chimiques sont donnés en δ (ppm) et les constantes de couplage (J) en Hz. Le spectre de masse a été pris avec un appareil *Atlas CH 7*. Le spectre de masse à haute résolution a été pris avec un appareil *AEI MS9 02*. Les mesures densitométriques ont été faites avec un spectrophotomètre *Zeiss PMQ II*. Les chromatogrammes en phase gazeuse ont été faits sur un appareil *Pye Unicam GCV*. Les pouvoirs rotatoires ont été pris sur un polarimètre *Schmidt-Haensch*. Abréviations: *s* = singulet, *d* = doublet, *t* = triplet, *qa* = quadruplet, *sext.* = sextuplet, *oct.* = octuplet.

1. *Epimérisation de la (+)-épicatéchine (1b) en milieu alcalin.* Dans un ballon à 2 cols de 25 ml, muni d'un tube d'introduction d'azote, on met une solution de 145 mg (0,5 mmol) de **1b** dans 15 ml d'eau. On fait passer un courant d'azote et on ajuste le pH à 10,0 par addition de NaOH 1 N. On agit à temp. ambiante.

a) On suit la réaction par CCM. de cellulose MN 300 (solvant = eau/acide acétique 95:5; révélateur = réactif de *Folin*). Après $\frac{1}{4}$ h de réaction, apparaît un pic de même R_f que **1a**. Son intensité augmente avec le temps. Après 3 h, cette intensité est supérieure à celle du pic correspondant à **1b**. Ensuite, la proportion des 2 pics reste la même.

b) Après 6 h de réaction, on ajuste le pH à 5,5 par addition de HCl 1 N. On évapore à sec et sèche le résidu sous vide et sur P_2O_5 . On ajoute à 25 mg de mélange, 1 ml de pyridine anhydre. On filtre et ajoute au filtrat 1 ml de *N, O*-bis(triméthylsilyl)-trifluoroacétamide. On laisse réagir à temp. ambiante, à l'abri de l'humidité, pendant 1 h. On injecte le mélange en chromatographie en phase gazeuse. Colonne: silicone rubber UCC-W 982 2% sur chromosorb W-AW DMCS 100-120 mesh; longueur: 150 cm; diamètre interne: 4 mm; débit de gaz porteur (N_2): 34 ml/min; temp. de la colonne: 230°; temp. de l'injecteur et du détecteur: 300°; détecteur: ionisation de flamme. On obtient 2 pics, l'un (70%) de même temps de rétention que celui de la pentakis(triméthylsilyl)-3,5,7,3',4'-(+)-catéchine

et l'autre (30%) de même temps de rétention que celui de la pentakis(triméthylsilyl)-3,5,7,3',4'-(+)-épicatéchine.

2. *Comportement de la (+)-catéchine 1a en milieu alcalin.* Dans un ballon à 2 cols de 2 l, muni d'un réfrigérant et d'une canule d'introduction d'azote, on met 14,5 g (0,05 mol) de **1a** dissoute dans 1,5 l d'eau. On fait barboter dans la solution un fort courant d'azote pendant 10 min. On ajoute sous azote 90 ml NaOH 1 N (pH=10). On chauffe sous reflux, sous azote, pendant 19 h. On refroidit la solution à temp. ambiante puis on ajuste le pH à 5,5 par adjonction de 40 ml de HCl 1 N. On évapore à sec. On sépare le mélange sur une colonne de Séphadex G-10 (éluant = eau/acide formique 99:1). On recueille les 2 principales fractions. On évapore le solvant de la première fraction jusqu'à un volume de 50 ml puis on lyophilise le produit: 12,0 g (83%). On le recristallise dans le propanol-2. F. 170–172°. $[\alpha]_D^{25} = +244^\circ$ ($C=0,5$ acétone/eau 1:1). $pK_a = 5,1$. – IR. (KBr): 3700–2100 (OH); 1742 (C=O); 1694 et 1622 (CO–CH=COH). – $^1\text{H-RMN}$. (pyridine- d_6): 2,27 (*oct.*, $J=13$, 10 et 4, 1H, $H_{ax-C(4)}$); 2,96 (*oct.*, $J=13$, 5 et 4, 1H, $H_{eq-C(4)}$); 3,46 (*qa*, $J=10$ et 4, 1H, $H-C(2)$); 3,60 (*m*, 1H, $H-C(5)$); 3,77 (*qa*, $J=4$ et 2, 1H, $H-C(1)$); 4,96 (*s*, $J=10$, 10 et 5, 1H, $H-C(3)$); 6,09 (*s*, 1H, $H-C(7)$); 6,87 (*qa*, $J=8$ et 2, 1H, $H-C(6')$); 7,05 (*d*, $J=8$, 1H, $H-C(5')$); 7,33 (*d*, $J=2$, 1H, $H-C(2')$); 8,28 (*s*, OH). – $^{13}\text{C-RMN}$. (voir *Tableau 1*). – SM.: 290 (M^+ , 23); 272(14); 264(9); 246(27); 228(10); 186(11); 163(20); 152(33); 136(100); 126(18); 123(66); 110(29); 89(10); 85(11); 77(14); 63(12); 55(18).

$C_{15}H_{14}O_6$: calc. 290,0790, tr. 290,0788 (SM.).

On évapore le solvant de la seconde fraction jusqu'à un volume de 20 ml, le produit **4** précipite. On l'essore: 1,4 g (10%). On le recristallise dans l'eau. F. 139–140°. $[\alpha]_D^{25} = +137^\circ$ ($c=0,5$, éthanol). $pK_a = 3,2$. – IR. (KBr): 3650–2000 (OH); 1580 (CO–CH=COH). – $^1\text{H-RMN}$. (pyridine- d_6): 2,06 (*qa*, $J=12$ et 4,8, 1H, $H_{endo-C(4)}$); 2,66 (*s*, $J=12$ et 6, 1H, $H_{exo-C(4)}$); 3,31 (*qa*, $J=12$ et 4,8, 1H, $H-C(5)$); 3,46 (*s*, 2H, $H-C(1)$ et $H-C(2)$); 4,62 (*d*, $J=6$, 1H, $H-C(3)$); 5,86 (*s*, 1H, $H-C(7)$); 7,15 (*s* large, 2H, $H-C(5')$ et $H-C(6')$); 7,65 (*s* large, 1H, $H-C(2')$); 8,90 (*s*, OH). – $^{13}\text{C-RMN}$. (voir *Tableau 2*). – SM.: 290 (M^+ , 61); 205(9); 164(12); 163(100); 162(16); 136(33); 123(18); 89(10); 85(9); 77(8); 57(9); 55(13); 44(9); 43(8).

$C_{15}H_{14}O_6$ calc. 290,0790 tr. 290,0790 (SM.).

3. *Préparation de l'acide (+)-catéchinique.* On dissout, à 60° sous azote, 7,5 g (26 mmol) de **1a** ou **1b** dans 330 ml d'eau. On ajoute une solution de 2,17 g (39 mmol) de KOH dans 20 ml d'eau. On chauffe sous reflux pendant 1 $\frac{3}{4}$ h. On passe le mélange sur une colonne d'Amberlite IRC 50 forme acide. On évapore l'eau. On recristallise le produit dans le propanol-2: 6,8 g 91%. F.: 170–172° (le F. du mélange avec un échantillon authentique ne montre pas de dépression). Pour préparer le sel de sodium de **3**, on neutralise à pH 6,5 la solution acide après passage sur la colonne d'Amberlite IRC 50 avec une solution de NaOH. On évapore l'eau.

4. *Réaction de la (–)-catéchine (1c) en milieu alcalin.* La réaction a été faite dans les conditions de la réaction 3 mais en remplaçant **1a** par **1c**. La première fraction de chromatographie donne un produit identique à **3** (même IR. et même F.) mais de $[\alpha]_D^{25} = -241^\circ$ ($c=0,5$, acétone/eau 1:1). La seconde fraction donne un produit semblable à **4** (mêmes IR. et F.), mais de $[\alpha]_D^{25} = -139^\circ$ ($c=0,5$, éthanol).

5. *Préparation de l'acide (–)-catéchinique.* Selon le mode opératoire 3 mais à partir de **1c** ou **1d**: 6,7 g 90%. F.: 171–172°; $[\alpha]_D^{25} = -241^\circ$ ($c=0,5$, acétone/eau 1:1).

6. *Réaction de l'acide catéchinique (3) en milieu alcalin.* On dissout 1,45 g (5 mmol) de **3** dans 150 ml d'eau. On ajuste le pH à 10 par adjonction de NaOH 1 N puis on chauffe sous reflux et sous azote. On fait des prélèvements après 30 min., 1, 2, 4 et 6 h pour en faire des CCM. (cellulose MN 300; solvant: acide acétique/eau 5:95; révélateur: réactif de *Folin*). Jusqu'après 2 h de réaction, on n'observe que le pic du produit de départ. Après 4 h, il se forme un pic supplémentaire de R_f identique à celui de **4**.

On répète la réaction selon le mode opératoire 2 mais à partir de **3**. En plus de **1a** qui n'a pas réagi, on isole 9% de **4**. Ce dernier est identifié par le F. de son mélange avec un échantillon authentique: pas de dépression.

7. *Réaction de 4 en milieu alcalin.* On dissout 1,45 g (5 mmol) de **4** dans 150 ml d'eau. On ajuste le pH à 10 par adjonction de NaOH 1 N puis on chauffe sous reflux et sous azote pendant 19 h. Par

CCM. (cellulose MN 300; solvant: acide acétique/eau 5:95; révélateur: réacteur de *Folin*) on observe un pic de R_f identique à celui de **3** alors qu'il reste un pic de même R_f que **4**. On isole **3** par chromatographie sur colonne de Séphadex G-10 (éluant = eau/acide formique 99:1). Le produit a le même IR. et le même F. qu'un échantillon authentique de **3** (épreuve du mélange).

8. *Réaction de 1a en milieu alcalin suivie dans le temps.* – a) *Evaluation qualitative.* On dissout 14,5 g (0,05 mol) de **1a** dans 1,5 l d'eau. On ajuste le pH à 10 par adjonction de NaOH 1 N puis on chauffe sous reflux et sous azote. On suit la réaction pendant 400 h. par CCM. (gel de silice 60 Merck; solvant: acétate d'éthyle/chloroforme/acide formique 5:5:1; révélateur: réaction de *Folin*). On fait un prélèvement de 1 ml chaque 15 min. pendant 2 h puis chaque heure pendant 6 h et une fois par jour jusqu'à la fin de la réaction. (Les résultats sont donnés dans la partie théorique.)

b) *Etude de la formation de 4.* La réaction est faite selon le mode opératoire a). On fait un prélèvement toutes les 2 heures pendant 50 h. On en fait des CCM. dans les conditions de a) et on détermine les pics de **4** les uns par rapport aux autres par densitométrie (λ de mesure = 600 nm). On observe une augmentation de la surface des pics, correspondant aux pics de **4**, jusqu'à 19 h de réaction puis une stabilisation jusqu'à la fin de réaction.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] *F. Nees von Esenbeck*, Repertorium für Pharmazie 27, 211 (1830); 33, 169 (1830).
- [2] *K. Freudenberg, O. Böhme & L. Purrmann*, Ber. deutsch. chem. Ges. 55, 1734 (1922).
- [3] *K. Freudenberg & L. Purrmann*, Liebigs Ann. Chem. 437, 274 (1924).
- [4] *K. Freudenberg*, Scientific Proceedings Royal Dublin Society 27, 153 (1956).
- [5] *P. P. Mehta & W. B. Whalley*, J. chem. Soc. 1963, 5327.
- [6] *K. Freudenberg & K. Weinges*, Liebigs Ann. Chem. 668, 92 (1963).
- [7] *A. Valenza, E. Horvath, P. Courbat & A. Albert*, Zyma SA, Brevet Suisse 551 935 (1972).
- [8] *K. D. Sears, R. L. Casebier, H. L. Hergert, G. H. Stout & L. E. McCandlish*, J. org. Chemistry 39, 3244 (1974).
- [9] *B. Ternai & K. R. Markham*, Tetrahedron 32, 565 (1976); *K. R. Markham & B. Ternai*, Tetrahedron 32, 2607 (1976).
- [10] *A. S. R. Anjaneyulu, K. Jaganmohan Rao, V. Kameswara Rao, L. Ramachandra Row, C. Subrahmanyam, A. Pelter & R. S. Ward*, Tetrahedron 31, 1277 (1975).
- [11] *J. H. Billman, S. A. Sojka & P. R. Taylor*, J. chem. Soc. Perkin II 1971, 2034.
- [12] *G. M. Kellie & F. G. Riddell*, J. chem. Soc. B 1971, 1030.
- [13] *R. P. Bell*, Advances in Physical Organic Chemistry, Vol. 4 (éd. V. Gold), Academic Press, London 1966, p. 1.
- [14] *C. Tamm & R. Albrecht*, Helv. 43, 773 (1960).
- [15] *L. F. Johnson & W. C. Janowski*, ¹³C-NMR Spectra, Wiley Interscience, N.Y. 1972.
- [16] *P. R. Zanno, I. Miura, K. Nakanishi & D. L. Elder*, J. Amer. chem. Soc. 97, 1975 (1975).
- [17] *C. Delseth*, communication personnelle.
- [18] *W. L. Nelson & D. R. Allen*, J. heterocycl. Chemistry 9, 561 (1972).
- [19] *K. Kornblum, R. A. Smiley, R. K. Blackwood & D. C. Iffand*, J. Amer. chem. Soc. 77, 6269 (1955).
- [20] *N. Kornblum, P. J. Berrigan & W. J. le Noble*, J. Amer. chem. Soc. 85, 1141 (1963); *N. Kornblum, R. Seltzer & P. Haberfeld*, J. Amer. chem. Soc. 85, 1148 (1963).
- [21] *D. G. Clarke, L. Crombie & D. A. Whiting*, J. chem. Soc. Perkin I 1974, 1007; *M. Collins & D. R. J. Laws*, J. chem. Soc. Perkin I 1973, 2013.