

# METHYL-4 FORMYL-7 CYCLOPENTA(C)PYRANNE ISOLE APRES HYDROLYSE ACIDE DE VIBURNUM TINUS

RENE-PAUL GODEAU\*, JEAN-CLAUDE ROSSI†, et ISABELLE FOURASTE\*

\* Laboratoire de Matière Médicale, Faculté de Pharmacie, 34000 Montpellier, France

† Laboratoire de Chimie Organique Pharmaceutique, Faculté de Pharmacie, 34000 Montpellier, France

(Received 28 July 1976)

**Key Word Index**—*Viburnum tinus*; Caprifoliaceae: viburtinal; 4-methyl-7-formylcyclopenta(c)pyrane.

**Abstract**—Viburtinal (4-methyl-7-formylcyclopenta(c)pyrane), yet unknown, was obtained by acid hydrolysis of the esters extracted from *Viburnum tinus*. Its structure was deduced by spectroscopic methods.

L'étude chimique du genre *Viburnum* a jusqu'à présent surtout porté sur les espèces *V. prunifolium* L. et *V. opulus* L. et sur la recherche des principes actifs responsables de leur action spasmolytique [1-3]. Les investigations sur l'espèce *Viburnum tinus* L. ont été pour le moment orientées vers les flavonoïdes, triterpènes et anthraquinones [4]. Néanmoins, la position systématique des Caprifoliacées à côté des Valérianacées ainsi que la présence des acides valérique et isovalérique dans *V. prunifolium* et *V. opulus*, signalée par de nombreux auteurs cités par Hörhammer [5], ont orienté notre travail vers la recherche de dérivés du cyclopenta(c)pyranne.

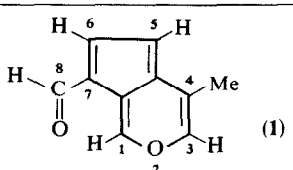
La fraction soluble dans  $\text{CHCl}_3$  de l'extrait alcoolique de *V. tinus* fournit par addition d' $\text{Et}_2\text{O}$  un abondant précipité renfermant plusieurs substances possédant la fonction ester (cf. Partie Expérimentale). L'hydrolyse acide de ces esters donne une substance jaune cristalline, F 90-92° (eau), à laquelle la structure (1) est attribuée sur les résultats suivants: UV  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$  (ε): 228 (13115), 243 (11710), 251 (8810), 287 (10110) et 424 (7010) nm. SM Pic moléculaire  $\text{P}^+$  = 160 (77%);  $m/e$  = 159 (100%), 132 (8%), 131 (23%), 103 (13%), 102 (10%), 77 (42%), 75 (10%), 74 (8%), 63 (8%), 51 (26%), 50 (13%), 43 (5%),

d'absorption en relation avec la présence du cycle pyranique ( $\nu_{\text{C}-\text{O}-\text{C}}$  = 1050, 1025 et 1005  $\text{cm}^{-1}$ ). RMN: les données de la RMN sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

L'examen du spectre RMN en largeur de bande de 250 Hz permet de tirer les conclusions suivantes: le groupement méthyle en 4-présente un dédoublement dû à un couplage faible ( $J$  = 1 Hz) avec le proton allylique  $\text{H}_3$ ; les protons  $\text{H}_5$  et  $\text{H}_6$  forment un système AB ( $J_{\text{AB}}$  = 3 Hz;  $\Delta\nu_{\text{AB}}$  = 126.5 Hz;  $J_{\text{AB}}/\Delta\nu_{\text{AB}}$  = 0.023). Les protons  $\text{H}_5$  et  $\text{H}_1$  sont dédoublés à leur tour par un couplage additionnel  $J_{\text{H}_1\text{H}_5}^5 \approx 0.9$  Hz.

La substance que nous avons isolée à partir de *V. tinus* est donc le méthyl-4 formyl-7 cyclopenta(c)pyranne. Elle n'a, à notre connaissance jamais été identifiée. Aussi, compte tenu de sa structure et de la plante d'origine nous proposons le nom de viburtinal. Cette molécule est très proche du baldrial (acétoxyméthyl-4 formyl-7 cyclopenta(c)pyranne) isolé par Thies de diverses Valérianacées [6]. La mise en évidence dans *V. tinus* d'esters donnant par hydrolyse le méthyl-4 formyl-7 cyclopenta(c)pyranne (viburtinal) permet de supposer que cette espèce renferme des substances analogues à celles

Tableau 1. RMN du viburtinal

Protons	$\delta$ ppm/TMS ( $\text{CCl}_4$ )		Varian HR-100
Me	s à 2.33	(3H)	
$\text{H}_5$	d centré à 6.40 ( $J_{\text{H}_5\text{H}_6}$ = 3 Hz)	(1H)	
$\text{H}_6$	d centré à 7.66 ( $J_{\text{H}_6\text{H}_5}$ = 3 Hz)	(1H)	
$\text{H}_3$	s légèrement élargi à 7.57	(1H)	
$\text{H}_1$	s à 9.10	(1H)	
$\text{H}_8$	s à 9.82	(1H)	

s = singulet d = doublet

41 (7%), 39 (10%). (JEOL-JMS-D 100). Analyse élémentaire: ses résultats ainsi que ceux de la SM permettent d'attribuer la formule brute  $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_2$ ; 160.16. IR: le spectre montre l'existence d'une fonction aldéhyde ( $\nu_{\text{C}-\text{H}}$  = 2780 et 2720  $\text{cm}^{-1}$  et  $\nu_{\text{CHO}}$  = 1410, 1390 et 1370  $\text{cm}^{-1}$ ) fortement conjuguée ( $\nu_{\text{C}=\text{O}}$  à 1624  $\text{cm}^{-1}$  très forte); on note aussi la présence de doubles liaisons ( $\nu_{\text{C}=\text{CH}}$  à 780, 760 et 580  $\text{cm}^{-1}$ ) ainsi que trois bandes

rencontrées chez les Valérianacées. L'étude des esters présents dans la plante fait l'objet de nos travaux actuels.

## PARTIE EXPERIMENTALE

1 kg de feuilles sèches de *V. tinus* est épuisé par 3 fois 5 l. d' $\text{EtOH}$  95°, par macération avec agitation. L'extrait alcoolique concentré à 500 ml est additionné de 3 l. de  $\text{CHCl}_3$ . Il se forme

un précipité qui est lavé par 2 fois 2 l. de  $\text{CHCl}_3$ . La fraction soluble dans  $\text{CHCl}_3$  est concentrée à 200 ml. Par addition de 2 l. d' $\text{Et}_2\text{O}$ , se forme un abondant précipité (A). Poids du précipité (A) obtenu: 20 g; rendement: 2%.

*Etude préliminaire de (A).* CCM: Si gel G Merck (Réf. 5553), solvant  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (4:1). Mise en évidence de nombreuses taches dont une majoritaire  $R_f$  0.44. Ces taches sont révélées par les réactifs suivants: réactif à l'hydroxylamine [7], rouge brique; réactif à la dinitrophénylhydrazine [7], bleu après 1 hr à 20°, orange verdâtre après 5 min à 105°. La tache majoritaire, isolée par chromatographie préparative sur plaque, fournit la réaction des esters [8]. Une hydroxylaminolyse menée sur cet ester permet la mise en évidence [9] des dérivés hydroxamiques d'un acide valérique et de l'acide acétique. L'hydrolyse acide de l'ester majoritaire donne le viburtinal.

*Obtention du viburtinal.* 7 g de précipité (A) sont dissous dans 100 ml de MeOH contenant 10% HCl. La solution est portée à ébullition sous réfrigérant à reflux pendant 1 hr. La solution d'hydrolyse, diluée par 300 ml d'eau est épuisée par 4 fois 200 ml de  $\text{CCl}_4$ . La phase organique, filtrée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhydre est concentrée à 10 ml, et chromatographiée sur colonne de silice Merck (70-230 mesh. réf. 7734), diamètre 30 mm, hauteur 30 cm. L'élution est faite par des fractions de 500 ml du gradient suivant: pétrole-EtOAc (19:1); pétrole-EtOAc (9:1). Le mélange pétrole-EtOAc (9:1) élu le viburtinal à l'état pur. Après évaporation du solvant, le viburtinal solubilisé dans l'eau

chaude (60°) cristallise par refroidissement. Poids obtenu: 30 mg; rendement: 0.4%. Comportement chromatographique sur Si gel Merck G (réf. 5553): toluène- $\text{HCO}_2\text{Et}$ - $\text{HCO}_2\text{H}$  (5:4:1)  $R_f$  0.61;  $\text{C}_6\text{H}_6$ - $\text{Et}_2\text{O}$ -MeOH (17:2:1)  $R_f$  0.77;  $\text{CCl}_4$ -EtOAc (7:3)  $R_f$  0.73. (Analyse élémentaire: calculé C 74.99% H 5.03%, trouvé C 74.68% H 5.21%).

## REFERENCES

1. Hörhammer, L., Wagner, H. et Reinhardt, H. (1966) *Botan. Mag. (Tokyo)* **79**, 510.
2. Jarboe, C. H., Zirvi, K. A., Nicholson, J. A. et Schmidt, C. M. (1967) *J. Med. Chem.* **10**, 488.
3. Nicholson, J. A., Darby, T. D. et Jarboe, C. H. (1972) *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **140**, 457.
4. Petricic, J., Savatovic, G. et Hlavka-Drnovsek, N. (1974) *Acta Pharm. Jugoslav.* **24**, 213.
5. Hörhammer, L., Wagner, H. et Reinhardt, H. (1965) *Deut. Apotheker-Ztg.* **40**, 1371.
6. Thies, P. W. (1968) *Tetrahedron* **24**, 313.
7. Chapelle, J. P. et Denoel, A. (1972) *Plant Méd. Phytothér.* **VI**, 31.
8. Feigl, F. (1966) *Spot Tests in Organic Analysis*. Elsevier, Amsterdam.
9. Fink, K. et Fink, R. M. (1949) *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **70**, 654.

*Phytochemistry*, 1977, Vol. 16, pp 605-607 Pergamon Press Printed in England.

# IDENTIFICATION OF GIBBERELLINS $A_{17}$ , $A_{25}$ , $A_{45}$ , ABSCISIC ACID, PHASEIC ACID, AND DIHYDROPHASEIC ACID IN SEEDS OF *PYRUS COMMUNIS*

GEORGE C. MARTIN\*, FRANK G. DENNIS, JR†, PAUL GASKIN‡ and JAKE MACMILLAN‡

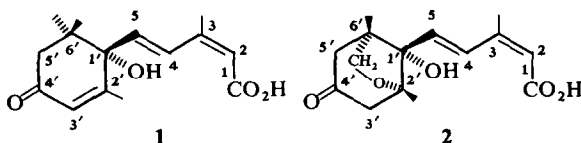
\* Department of Pomology, The University of California, Davis, CA 95616, U.S.A.; † Department of Horticulture, Michigan State University, ‡ School of Chemistry, The University, Bristol BS8 1TS, U.K.

(Received 26 July 1976)

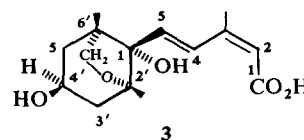
**Key Word Index**—*Pyrus communis*; Rosaceae; pear; gibberellins; abscisic acid; phaseic acid; dihydrophaseic acid; GC-MS.

**Abstract**—Gibberellin  $A_{17}$ , abscisic acid, and 4'-dihydrophaseic acid were identified by GC-MS of derivatized extracts from both immature and mature seeds of pear. Immature seeds also contained phaseic acid, gibberellins  $A_{25}$  and  $A_{45}$ , and two presumed mono-hydroxylated derivatives of  $\text{GA}_{45}$ , one of which was tentatively identified as 3 $\beta$ -hydroxy- $\text{GA}_{45}$ . Several presumed metabolites of abscisic acid were detected in both mature and immature seeds.

Although ABA\* (1) and gibberellins  $A_4$ ,  $A_7$  and  $A_9$  have been identified [1-3] in extracts of apple seeds, pear seeds have received little attention until recently. Gil *et al.* [4] reported ABA-like, auxin-like, and GA-like activities in immature pear seeds, but none of the compounds was identified. In a preliminary publication [5] we reported the identification of  $\text{GA}_{17}$ ,  $\text{GA}_{25}$ ,  $\text{GA}_{45}$ , ABA and DPA (3) in immature seeds. In this paper we provide further information on these and other related compounds in both mature and immature seeds.



\* Abbreviations used: ABA = (+)-abscisic acid;  $\text{GA}_x$  = gibberellin  $A_x$ ; PA = phaseic acid; DPA = 4'-dihydrophaseic acid; MeTMS = methyl ester trimethylsilyl ether.



MeOH extracts, from both immature and mature pear seeds, were fractionated to yield acidic EtOAc (immature) or acidic *n*-BuOH (mature) fractions. The former were treated with PVP prior to derivatization and GC-MS, while the latter were subjected to TLC. In both mature and immature seeds the following compounds were identified by comparison of the MS of the derivatives, shown in parentheses, with reference spectra: ABA (1) (Me ester),  $\text{GA}_{17}$  (5) (MeTMS) and DPA (3) (MeTMS). Minor quantities of a compound, detected as the MeTMS derivative, had  $R_f$  slightly longer than, and an MS almost identical to, the MeTMS of DPA (3); this compound is thought to be *t,t*-DPA. Samples, prepared from immature