

**210. Contribution à la phytochimie du genre *Gentiana* XXI¹⁾;
Les cinnamoyl-*C*-glucosylflavones et leurs *O*-glucosides dans
Gentiana punctata L.**

par Minh Duc Luong et André Jacot-Guillarmod

Institut de Chimie de l'Université, 51, Avenue de Bellevaux
CH-2000 Neuchâtel (Suisse)

Dédié au Professeur Y. R. Naves à l'occasion de son 75^e anniversaire

(25.VII.77)

Phytochemistry of genus *Gentiana* XXI:

The cinnamoyl-*C*-glucosylflavones and their *O*-glucosides in *Gentiana punctata* L.

Summary

Three new (1-3) and three previously identified (4-6) cinnamoyl-*C*-glucosylflavones have been isolated from the leaves of *Gentiana punctata* L. The structures of the new compounds were established as: *trans*-cafeoyl-2''-iso-orientin-4'-*O*- β -*D*-glucoside (1), *trans*-feruloyl-2''-isovitexin-4'-*O*- β -*D*-glucoside (2) and *trans*-feruloyl-2''-isovitexin (3). Isoscoparine (8) and *O*- β -*D*-glucosyl-2''-iso-orientin (7) were also isolated and identified.

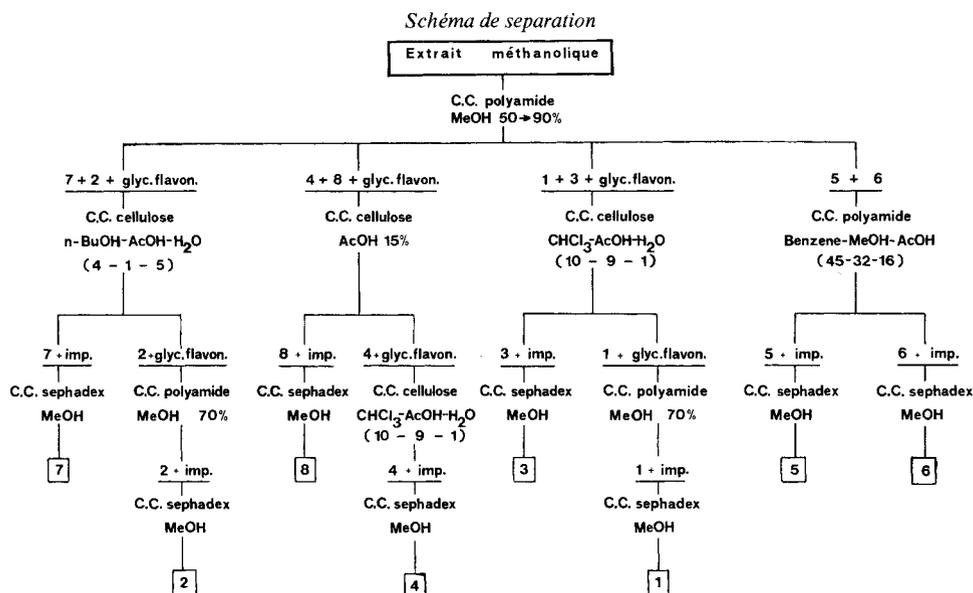
1. Introduction. - Nous avons décrit précédemment des substances extraites de *Gentiana burseri* LAPEYR. constituant un nouveau type de composés flavoniques dérivant de l'iso-orientine. La partie 6-*C*-glucosidique de celle-ci est substituée en 2'' par un acide cinnamique: acide caféique ou acide férulique. Un *O*-glucoside et un di-*O*-glucoside de ces cinnamoyl-*C*-glucosylflavones ont été isolés et identifiés [1] [2]. Un composé analogue dérivant de la vitexine a été décrit récemment [3]; la partie 8-*C*-glucosidique de la flavone est substituée par l'acide *p*-coumarique.

2. Résultats. - Nous avons été à même d'isoler, dans les feuilles de *Gentiana punctata* L., trois nouveaux composés cinnamoyl-*C*-glucosylflavoniques 1, 2, 3 dont nous décrivons ci-après la structure. 2 et 3 sont des dérivés de l'isovitexine alors que 1 ainsi que 4, 5 et 6 déjà rencontrés dans *Gentiana burseri* LAPEYR. [1] [2] sont des dérivés de l'iso-orientine. Mentionnons encore que nous avons caractérisé également l'iso-orientine-2''-*O*- β -*D*-glucoside (7) et l'isoscoparine (8).

2.1. *Isolement des composés.* L'extraction a été réalisée comme décrit précédemment [4]. Toutes les substances ont été obtenues à partir de la fraction méthanolique traitée selon le schéma de séparation indiqué.

2.2. *Détermination des structures.* - Composés 1 à 8. Les spectres UV. (composés 1 à 3, voir Tableau 1) sont tous caractéristiques de flavones ayant des groupes hydroxyle libres en position 5 et 7 [5]. L'hydrolyse enzymatique par la β -*D*-glucosidase trans-

¹⁾ Partie XX, v. Helv. 60, 1322 (1977).

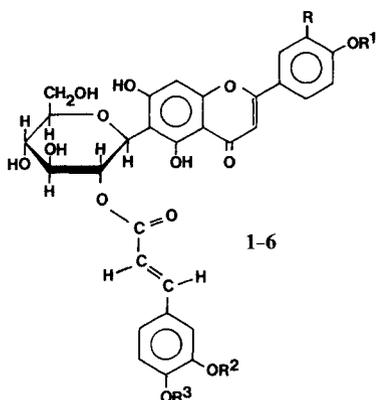


forme respectivement **1** en **6**, **2** en **3**, **4** en **5** et **7** en **9**, les autres composés (**3**, **5**, **6** et **8**) n'étant pas affectés. L'hydrolyse acide de **3** fournit l'isovitexine (**10**) et l'acide férulique (**14**), celle de **5** l'iso-orientine (**9**) et l'acide férulique, celle de **6** l'iso-orientine et l'acide caféique (**15**), enfin, celle de **7** l'iso-orientine. Lors de ce traitement à l'acide (HCl 2N) l'iso-orientine et l'isovitexine s'isomérisent en orientine et vitexine [6]; une isomérisation semblable est observée avec **8**.

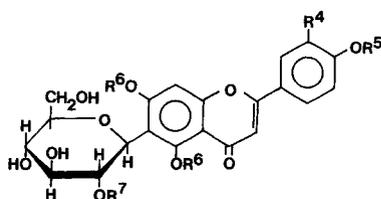
Tableau 1. *Spectres UV.* (max. en nm, solvant = MeOH, sh = épaulement)

Composé	Solvant pur	Solvant additionné de			
		AlCl ₃	AlCl ₃ /HCl	NaOAc	NaOMe
1	244, 273 329	265, 277	283sh, 295	270, 278	267, 279sh
		296, 362	337, 384sh	330sh, 374	300sh, 374
2	274, 322	281sh, 301	284sh, 298	280, 300	270sh, 280
		336, 380sh	332, 380sh	335sh, 372	300sh, 372
		338, 380sh	335, 380sh	384	384
3	272, 327	279, 302	280, 300	280, 330sh	279, 330sh
		338, 380sh	335, 380sh	384	384

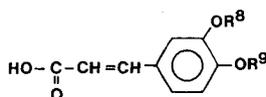
Composés 1 et 6. Dans les spectres UV., on note les groupes OH de l'acide caféique (*o*-dihydroxy dans MeOH + AlCl₃) à 362 nm pour **1** et 380 nm pour **6**. Dans ce dernier, une seconde bande *o*-dihydroxy à 420 nm indique que les groupes OH en 3' et 4' sont libres (iso-orientine 420 nm). La méthylation de **6** suivie de l'hydrolyse acide conduit à **11**. Le même traitement appliqué à **1** donne **12**, ce qui confirme que dans **1** le glucose est attaché en 4'. Etant donné la parenté entre **1** et **6** (hydrolyse enzymatique, voir ci-dessus) l'acide caféique ne peut être fixé dans les deux composés que sur la partie C-glucosidique de l'iso-orientine. Lors de la méthylation suivie d'hydrolyse de **1** et **6**, le dérivé diméthylé **16** de cet acide est obtenu. Le comportement chromatographique de **6**, le point de fusion, les spectres



1-6



7-13



14-16

1 R = OH, R² = R³ = H, R¹ = β-D-glucosyle

2 R = R³ = H, R² = CH₃, R¹ = β-D-glucosyle

3 R = R¹ = R³ = H, R² = CH₃

4 R = OH, R² = CH₃, R³ = H, R¹ = β-D-glucosyle

5 R = OH, R¹ = R³ = H, R² = CH₃

6 R = OH, R¹ = R² = R³ = H

7 R = OH, R¹ = R² = H, R³ = β-D-glucosyle

8 R = OCH₃, R¹ = R² = R³ = H

9 R⁴ = OH, R⁵ = R⁶ = R⁷ = H

10 R⁴ = R⁵ = R⁶ = R⁷ = H

11 R⁴ = OCH₃, R⁵ = R⁶ = CH₃, R⁷ = H

12 R⁴ = OCH₃, R⁵ = R⁷ = H, R⁶ = CH₃

13 R⁴ = R⁵ = R⁷ = H, R⁶ = CH₃

14 R⁸ = CH₃, R⁹ = H

15 R⁸ = R⁹ = H

16 R⁸ = R⁹ = CH₃

 Tableau 2. Relevé des spectres RMN.^{a)}

A. Déplacements chimiques de H, Ac et MeO aromatiques

Flavone										
	Ac-3'	Ac-4'	Ac-5	Ac-7	H-3	H-8	H-2'	H-3'	H-5'	H-6'
1	2,30	-	2,52	2,52	6,50	7,31	7,52(2)	-	7,10-7,30	7,66(2) et (9)
2	-	-	2,52	2,52	6,52	7,32	7,77(9)	7,07(9)	7,07(9)	7,77(9)
3	-	2,34	2,52	2,52	6,56	7,32	7,87(9)	7,25(9)	7,25(9)	7,87(9)

Reste cinnamoyle

	Ac-3	Ac-4	MeO-3	H-2, H-5, H-6	-CH=CH-
1	2,27	2,28	-	7,10 ↔ 7,30	6,10(16) H-α 7,38(16) H-β
2	-	2,29	3,82	7,00 ↔ 7,03	6,12(16) 7,40(16)
3	-	2,29	3,82	7,00 ↔ 7,03	6,03(16) 7,33(16)

B. Déplacements chimiques des H et Ac aliphatiques (partie C-glucosidique et O-glucosidique)

	Nombre de H	H-1 ^{nb)}	H-1 ^{nc)}	Nombre de Ac
1	14	3,80 ↔ 5,90	4,90(10)	4,16(11) 7 2,00; 2,03; 2 × 2,05; 3 × 2,08
2	14	3,80 ↔ 5,90	4,92(10)	4,16(11) 7 2,00; 2,05; 3 × 2,07; 2 × 2,08
3	7	3,70 ↔ 5,90	4,94(10)	- 3 2,01 Ac-6 ^{nb)} ; 2,07 Ac-3 ^{nb)} ; 2,08 Ac-4 ^{nb)}

^{a)} Enregistré à 270 MHz dans CDCl₃ (δ en ppm par rapport au TMS pris comme référence interne; entre parenthèses J en Hz). ^{b)} C-gluc. ^{c)} O-gluc.

UV. et IR. correspondent à ceux de la *trans*-caféoyl-2''-iso-orientine précédemment identifiée dans *Gentiana burseri* LAPEYR. [1]. Par conséquent, **1** est le *trans*-caféoyl-2''-iso-orientine-4'-*O*- β -D-glucoside. L'étude du spectre RMN. du dérivé acétylé (voir *Tableau 2*) en apporte la confirmation.

L'absence du signal du groupe acétyle en 2'' (région 1,70-1,82 ppm) confirme la position d'attache du reste caféoylé [7]. Le signal à 4,90 ($J=10$ Hz, H-C(1'')) indique que la partie C-glucosidique a la configuration β , celui à 4,16 ($J=11$ Hz, H-C(1'')) donne la même conclusion pour la partie O-glucosidique. Les signaux de deux protons éthyléniques à 6,10 ($J=16$ Hz, H- α) et 7,38 ($J=16$ Hz, H- β) forment un spectre *AB* et indiquent une configuration *trans* pour l'acide caféïque.

Composés 2 et 3. Comme l'indique l'hydrolyse enzymatique, **3** est l'aglycone de **2**. Dans ce dernier, le glucose est lié à l'isovitexine en 4', car la méthylation suivie de l'hydrolyse acide donne **13** ainsi que l'acide **16**. De ce fait, dans **2** et dans **3**, l'acide férulique ne peut être fixé que sur la partie C-glucosidique de l'isovitexine. L'étude des spectres RMN. des dérivés acétylés (voir *Tableau 2*) confirme les structures proposées: le composé **2** correspond au *trans*-feruloyl-2''-isovitexine-4'-*O*- β -D-glucoside, le composé **3** à la *trans*-féruloyl-2''-isovitexine. Dans ces spectres, on relève notamment: a) l'absence du signal du groupe acétyle en 2'' (région 1,70-1,82 ppm), ce qui confirme la position d'attache du reste féruloylé; b) les signaux à 4,92 ($J=10$ Hz, H-C(1'')) et 4,16 ($J=11$ Hz, H-C(1'')) précisant la configuration β des parties C- et O-glucosidiques; c) les signaux à 6,12 resp. 6,03 ($J=16$ Hz, H- α) et 7,40 resp. 7,33 ($J=16$ Hz, H- β) confirment pour l'acide férulique la configuration *trans*.

Composés 4, 5 et 7. Tous précédemment identifiés pas nos soins: **4** et **5** dans *Gentiana burseri* LAPEYR. [2], **7** dans *Gentiana verna* L. [8]. **4** correspond au *trans*-féruloyl-2''-iso-orientine-4'-*O*- β -D-glucoside, **5** à l'aglucone de celui-ci et **7** à la *O*- β -D-glucosyl-2''-iso-orientine. Ces structures ont été établies par comparaison avec des échantillons authentiques (comportement chromatographique, UV., IR., F., comportement à l'hydrolyse acide et à l'hydrolyse enzymatique).

Composé 8. Les spectres UV. correspondent à ceux de l'isoscoparine [9]. Le traitement avec HCl 2N provoque l'isomérisation caractéristique des hydroxy-5-C-glucosylflavones. La méthylation donne **11**. L'action de HI en tube scellé mène à la tétrahydroxy-5,7,3',4'-flavone, identifiée par comparaison avec un échantillon authentique. Dans le spectre RMN. du dérivé acétylé²⁾ (non-décrit jusqu'à présent) on relève: a) cinq protons aromatiques dont 4 à 7,20-7,70 ppm (H-C(2'), H-C(5'), H-C(6') et H-C(8)). Le signal à 6,75 correspond à H-C(3); b) trois groupes acétoxyles aromatiques: 2,36 (Ac-C(4')); 2,55 (Ac-C(5) Ac-C(7)); c) un groupe méthoxy aromatique à 3,95 (OMe-C(3')); d) quatre groupes acétoxyles aliphatiques: 1,85 (Ac-C(2'')), caractéristiques des 6-C-glucosylflavones [7]; 2,06 (Ac-C(6'')); 2,08 (Ac-C(3'')) et 2,10 (Ac-C(4'')); e) sept protons aliphatiques entre 3,80 et 5,90 correspondant à la partie C-glucosidique. Le signal à 4,98 ($J=10$ Hz, H-C(1'')), précise la configuration β .

Composés 9 à 16. Ceux-ci proviennent des divers traitements de **1** à **8**. Les structures ont été établies par comparaison avec des échantillons authentiques

²⁾ Enregistré à 60 MHz dans CDCl₃ (δ en ppm par rapport au TMS pris comme référence interne).

(UV. et comportement chromatographique pour **9-13**, comportement chromatographique pour **14-16**, mélanges *cis-trans* [1]).

Les auteurs remercient M. le Prof. *Cl. Favarger* de l'identification du matériel végétal, M. le Prof. *R. Tabacchi* de l'intérêt qu'il a porté à ce travail et M. *Fr. Huguenin* de son aide technique. Ils expriment leur gratitude à la maison *F. Hoffmann-La Roche & Co* à Bâle (laboratoire du Prof. *W. Boguth*) pour le relevé des spectres RMN. 270 MHz.

Partie expérimentale

Généralités. Voir [4] [1] [2].

Isolement et techniques analytiques. Le matériel végétal a été récolté à Engelberg (Obwald). 250 g de poudre de feuilles séchées ont fourni 15 mg de **1**, 12 mg de **2**, 7 mg de **3**, 2 mg de **4**, 7 mg de **5**, 15 mg de **6**, 25 mg de **7** et 92 mg de **8**. Les différents extraits ont été analysés par CCM. de polyamide *Macherey-Nagel* DC₁₁ (MeOH/H₂O 9:1=solvant a) et par CCM. de cellulose *Merck* (AcOH 10% = solvant b). Les séparations sur colonne ont été réalisées à l'aide de polyamide *Macherey-Nagel* SC₆, de cellulose microcristalline *Merck* et de Sephadex LH₂₀ *Pharmacia*.

Composé 1. F. 202-205° (déc.); Rf 0,54 (solvant a); Rf 0,49 (solvant b). - IR.: 1685 cm⁻¹, C=O (ester). - Dérivé acétylé recristallisé dans EtOH, F. 145-148° (déc.).

C₆₀H₆₀O₃₁ (1277,11) Calc. C 56,43 H 4,73% Tr. C 55,59 H 4,68%

Composé 2. F. 197-199° (déc.); Rf 0,78 (solvant a); Rf 0,65 (solvant b). - IR: 1690 cm⁻¹, C=O (ester). - Dérivé acétylé recristallisé dans EtOH, F. 168-170° (déc.).

C₅₇H₅₈O₂₈ (1191,06) Calc. C 57,48 H 4,9% Tr. C 56,77 H 4,83%

Composé 3. F. 173-175° (déc.); Rf 0,46 (solvant a); Rf 0,45 (solvant b). - IR: 1715 cm⁻¹, C=O (ester). - Dérivé acétylé recristallisé dans EtOH, F. 80-82° (déc.).

Composé 8. F. 207-209° (déc.); Rf 0,56 (solvant a); Rf 0,29 (solvant b). - Dérivé acétylé recristallisé dans EtOH, F. 146-147° (déc.).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] *A. Jacot-Guillarmod, M. D. Luong & K. Hostettmann*, *Helv.* 58, 1477 (1975).
- [2] *M. D. Luong, K. Hostettmann & A. Jacot-Guillarmod*, *Helv.* 59, 1294 (1976).
- [3] *A. R. Sood, B. Boutard, M. Chadenson, J. Chopin & P. Lebreton*, *Phytochemistry* 15, 351 (1976).
- [4] *K. Hostettmann, G. Bellmann, R. Tabacchi & A. Jacot-Guillarmod*, *Helv.* 56, 3050 (1973).
- [5] *T. J. Mabry, K. R. Markham & M. B. Thomas*, *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer, New York 1970.
- [6] *F. Wessely & G. H. Moser*, *Mh. Chem.* 56, 97 (1920).
- [7] *B. Gentili & R. M. Horowitz*, *J. org. Chemistry* 33, 1571 (1968).
- [8] *K. Hostettmann & A. Jacot-Guillarmod*, *Helv.* 58, 130 (1975).
- [9] *J. W. Wallace, T. J. Mabry & R. E. Alston*, *Phytochemistry* 8, 93 (1969).