

760 et 725 cm^{-1} . Le produit est identique (F., F. du mélange, spectres UV. et IR.) à celui synthétisé d'autre manière [6].

$\text{C}_{15}\text{H}_{14}$ (194,28) Calc. C 92,74 H 7,26% Tr. C 92,60 H 7,25%

Diméthyl-2,3-fluorénone (XVII). La cétone XVII se prépare par oxydation de XVI de la même manière que VII à partir de VI. Rdt. 75%. Feuilles jaunes, F. 108–109°, solubles en bleu violacé dans H_2SO_4 conc. (litt. [6]: F. 109–110°; [7]: F. 107–108°).

$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}$ (208,26) Calc. C 86,51 H 5,81% Tr. C 86,47 H 5,93%

Acide méthyl-3-fluorèncarboxylique-2 (XVIII). Ce produit se prépare par oxydation de XVII comme, plus haut, XII de V. A partir de 1,76 g de XVII on obtient 1,22 g (64,4%) de XVIII, F. 253–257°. Après sublimation à 200–205°/0,01 Torr, suivie de cristallisation dans l'éthanol légèrement dilué, feuilles de couleur crème, F. 262–264° (litt. [7]: F. 261–263°).

$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_2$ (224,26) Calc. C 80,34 H 5,39% Tr. C 80,24 H 5,54%

Acide méthyl-3-fluorènoncarboxylique-2 (XIX). Même méthode que pour XIII. On obtient, en partant de 0,4 g de XVIII, 0,31 g (73%) de XIX, F. 305–310°. Purification par sublimation à 235–240°/0,01 Torr, suivie de cristallisation dans CH_3COOH : microcristaux jaune pâle, F. 314 à 316° (litt. [5]: F. 314–316°; mélange, même F.).

$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_3$ (238,25) Calc. C 75,62 H 4,23% Tr. C 75,68 H 4,35%

BIBLIOGRAPHIE

- [1] L. Chardonnens & F. Noël, *Helv. 55*, 1910 (1972).
- [2] L. Chardonnens & R. Dousse, *Helv. 50*, 1406 (1967).
- [3] E. D. Bergmann, G. Berthier, Y. Hirshberg, E. Loewenthal, B. Pullman & A. Pullman, *Bull. Soc. chim. France* [5] 18, 669, 680 (1951).
- [4] L. Mascarelli & B. Longo, *Gazz. chim. ital. 71*, 289 (1941).
- [5] L. Chardonnens & R. Dousse, *Helv. 51*, 900 (1968).
- [6] L. Chardonnens, B. Laroche & G. Gamba, *Helv. 48*, 1800 (1965).
- [7] W. C. Lothrop & J. A. Coffman, *J. Amer. chem. Soc. 63*, 2564 (1941).
- [8] *Organic Syntheses, Collective Volume III*, 23 (1955).
- [9] A. Rieche, H. Gross & E. Höft, *Chem. Ber. 93*, 88 (1960).
- [10] F. Ullmann & E. Mallet, *Ber. deutsch. chem. Ges. 31*, 1694 (1898).

18. Contribution à la phytochimie du genre *Gentiana* I. Etude des composés flavoniques et xanthoniques dans les feuilles de *Gentiana lutea* L. (1^{re} communication)

par Günter Bellmann¹⁾ et André Jacot-Guillarmod

Institut de chimie de l'Université de Neuchâtel

(19 X 72)

Summary. Six polyphenolheterosides have been isolated from the leaves of *G. lutea* L. by means of thin layer and column chromatography on polyamide. The xanthonones mangiferin (III) and gentioside (IV), the flavones isoorientin (V) isovitexin (VI) and two new heterosides (E and F) have been isolated. E gave isoorientin and glucose on hydrolysis and F isovitexin, glucose and gentiobiose. Structure identification has been achieved by UV., IR. and NMR. spectroscopy as well as by synthesis of the corresponding aglycones.

¹⁾ Adresse présente: Institut Battelle, centre de recherche de Genève, 7, Route de Drize, CH-1227 Carouge.

1. Introduction. – Le genre *Gentiana*, le plus vaste de la famille des Gentianacées (ordre des *Contortae* ou *Gentianales*), compte 450 à 600 espèces. Il offre de nombreuses variations morphologiques qui sont classées dans une vingtaine de sections environ.

Les études de taxonomie qui ont largement recours aux critères cytologiques, sont rendues particulièrement difficiles par une ample série de nombres chromosomiques de base dans les différentes sections, par l'âge variable de celles-ci, et par le rôle important des phénomènes d'hybridation survenus au cours de l'évolution du genre.

De ce fait, les données cytologiques doivent être employées avec prudence et toujours en corrélation avec d'autres critères. L'un de ces critères est la phytochimie qui n'a été que très peu utilisée à des fins taxonomiques chez les Gentianacées. Seul l'ouvrage de *Hegnauer* [1] donne un aperçu complet des particularités chimiques des Gentianacées jusqu'en 1965.

Afin de combler cette lacune, nous avons entrepris une étude phytochimique sur le genre *Gentiana*.

La présente communication est relative aux flavonoïdes et aux xanthones se trouvant dans les feuilles de *G. lutea* L.

Les flavonoïdes n'ont fait jusqu'ici l'objet d'aucune investigation approfondie dans le genre *Gentiana*; et les quelques rares représentants qui furent isolés sont mentionnés dans le tableau 1.

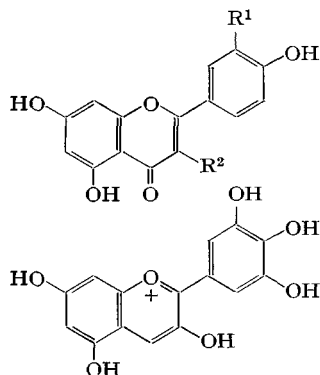
Tableau 1. *Distribution des flavonoïdes dans le genre Gentiana*

Espèces	Substances	Références
<i>G. makinoi</i> KUSN.	quercétine, kaempférol	[1], [25]
<i>G. septemfida</i> PALL.	traces de kaempférol, glucosides de la delphinidine, lutéoline	[1], [25] [26] [27]
<i>G. acaulis</i> L.	dérivé <i>p</i> -coumaroylé de delphinidinc-3-glucoside	[26]
<i>G. cachemirica</i> DECNE.	delphinidine-3-glucoside	[26]
<i>G. verna</i> L.	glucosides de la delphinidine	[26]
<i>G. campestris</i> L.	glucosides de la delphinidine	[26]

Kaempférol: $R^1 = H$, $R_2 = OH$

Quercétine: $R^1 = OH$, $R_2 = OH$

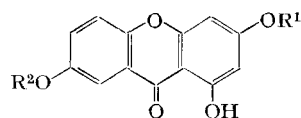
Lutéoline: $R^1 = OH$, $R_2 = H$



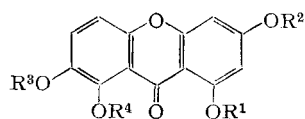
Delphinidine:

Les xanthones furent en revanche plus largement étudiées; elles constituent l'une des caractéristiques du genre, et se trouvent dans les racines. La distribution des xanthones dans le genre *Gentiana* est reproduite dans le tableau 2.

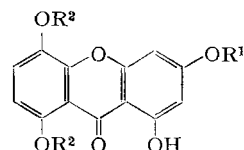
Gentiséine:	$R^1 = R^2 = H$
Gentisine:	$R^1 = CH_3; R^2 = H$
Isogentisine:	$R^1 = H; R^2 = CH_3$
Gentioside:	$R^1 = \text{primevérosyle};$ $R^2 = CH_3$



Gentiakochianine:	$R^1 = R^3 = R^4 = H; R^2 = CH_3$
Gentiakochianoside:	$R^1 = R^3 = H; R^2 = CH_3;$ $R^4 = \text{primevérosyle}$
Gentiacauléine:	$R^1 = R^3 = H; R^2 = R^4 = CH_3$
Gentiacauloside:	$R^1 = H; R^2 = R^4 = CH_3;$ $R^3 = \text{primevérosyle}$
Isogentiacauloside:	$R^1 = R^3 = CH_3; R^4 = H;$ $R^2 = \text{primevérosyle}$
Décussatine:	$R^1 = H; R^2 = R^3 = R^4 = CH_3$



Bellidifoline:	$R^1 = CH_3; R^2 = R^3 = H$
Desméthylbellidifoline:	$R^1 = R^2 = R^3 = H$
5-O-méthylbellidifoline:	$R^1 = R^2 = CH_3; R^3 = H$
Isobellidifoline:	$R^1 = R^3 = H; R^2 = CH_3$



Corymbiférine:	$R^1 = OCH_3; R^2 = H$
4,4-Di-O-méthylbellidine:	$R^1 = H; R^2 = OCH_3$

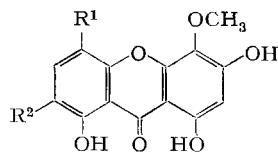


Tableau 2. Distribution des xanthones dans le genre *Gentiana*

Espèces	Substances	Références
<i>G. lutea</i> L.	gentisine ²⁾ ; isogentisine; gentioside;	[13]
	dihydroxy-1,3-diméthoxy-2,7-xanthone;	[28]
	hydroxy-1-diméthoxy-3,7-xanthone;	[29]
	triméthoxy-1,3,7-xanthone;	[29]
	gentiséine	[29]
<i>G. acaulis</i> L.	gentiacauline ³⁾ (identique au gentiacauloside);	[30]-[32]
	gentiacauléine (aglycone du gentiacauloside);	[33]
	gentiacauloside (primevéroside de la gentiacauléine)	[33]

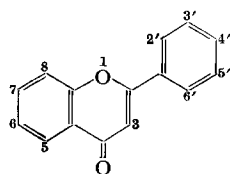
²⁾ La gentisine a été également décelée dans deux hybrides de *G. lutea* et *G. purpurea*: *G. hegetschwelevii* et *G. hybrida* SCHLEICH [37].

³⁾ Le *G. acaulis* étudié par Bridel [30]-[32] était probablement le *G. kochiana* étant donné le lieu de récolte: col du Lautaret, Hautes Alpes.

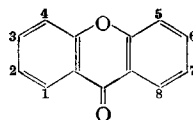
Tableau 2 (Suite)

Espèces	Substances	Références
<i>G. Kochiana</i> PERR et SONG	gentiacauléine;	[33], [34]
	gentiacauloside;	[34]
	décussatine;	[34], [35]
	gentiakochianine (aglycone du gentiakochianoside);	[34], [35]
	gentiakochianoside (primevéroside de la gentiakochianine);	[34], [35]
<i>G. bellidifolia</i> HOOK	isogentiacauloside (primevéroside de l'isogentiacauléine)	[34]
	bellidifoline; isobellidifoline (identique au swertianol?);	[36]
	5-O-méthylbellidifoline;	[36]
	desméthylbellidifoline;	[36]
	corymbiférine (4,5-di-O-méthylcorymbine);	[36]
<i>G. verna</i> L.	trihydroxy-1,3,8-diméthoxy-4,7-xanthone (4,7-di-O-méthylbellidine)	[36]
	décussatine;	[37]
<i>G. corymbifera</i> KIRK	primevérosyl-1-décussatine	[37]
	glycoside de la corymbiférine	[38]
<i>G. germanica</i> WILLD.	gentialutéine	[1]

2. Résultats obtenus. – Six polyphénols hétérosidiques répondant positivement aux réactifs chromogènes [2]–[7] plus ou moins spécifiques des flavones (I) et des xanthones (II) ont été mis en évidence dans l'extrait méthanolique des feuilles de



(I)



(II)

G. lutea L. par chromatographie sur couche mince (CCM.) de polyamide (fig. 1 et tableau 3) en utilisant comme solvants, les systèmes MeOH/H₂O 9:1 (= solvant I) et C₆H₆/MeOH/AcOH 45:32:16 (= solvant II).

 Tableau 3. Valeurs R_f et colorations dans le visible et l'UV (350 nm)

Spot	R _f ^{a)}		Colorations	
	Solvant I	Solvant II	Vis.	UV.
A	0,39	0,41	j	j
B	0,43	0,56	j	br
C	0,49	0,72	j	br
D	0,57	0,83	j	br
E	0,70	0,73	j	br
F	0,77	0,80	j	br

Abréviations: j = jaune, br = brun

^{a)} Les R_f constituent les valeurs moyennes sur au moins 10 mesures à 20° et dans des cuves saturées de vapeurs du solvant.

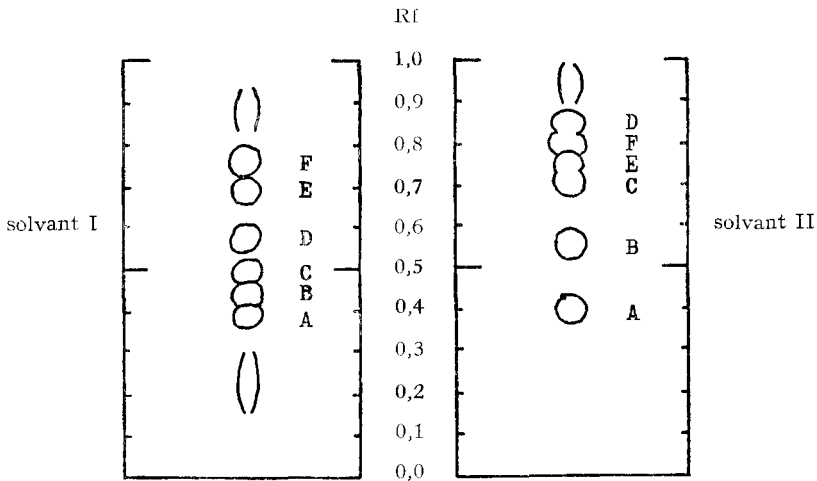
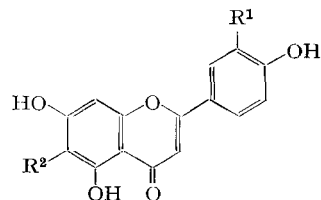
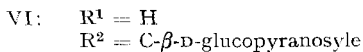
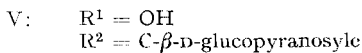
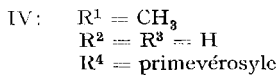
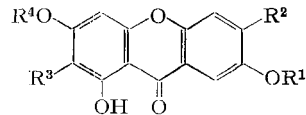
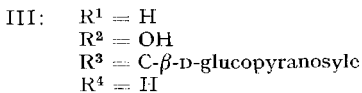


Fig. 1. Chromatogrammes d'extraits méthanoliques de *G. lutea* L.

Les substances A et D ont été identifiées respectivement aux xanthones mangiférine (III) et gentioside (IV) et les substances B et C aux C-glucosylflavones isoorientine et isovitexine (V et VI).



Les substances E et F libèrent, par hydrolyse acide, respectivement les C-glucosides isoorientine (V) et isovitexine (VI) (partiellement isomérisés en orientine et vitexine) en plus de glucose (de E et F) et de gentiobiose (de F) (fig. 2).

Une étude plus détaillée de la structure de ces deux flavones, dont l'une, F, est exceptionnelle par sa teneur élevée en sucres (le spectre RMN. de son dérivé acétylé fait état de 4 unités d'hexopyranose par molécule), fera l'objet d'une publication ultérieure⁴⁾.

2.1. *Méthode de séparation.* La séparation préparative des substances A à F de l'extrait de *G. lutea* L. a été effectuée par chromatographie sur colonne (CC.) de polyamide en éluant consé-

⁴⁾ G. Bellmann, K. Hosteltmann & A. Jacot-Guillarmod, Helv., à paraître.

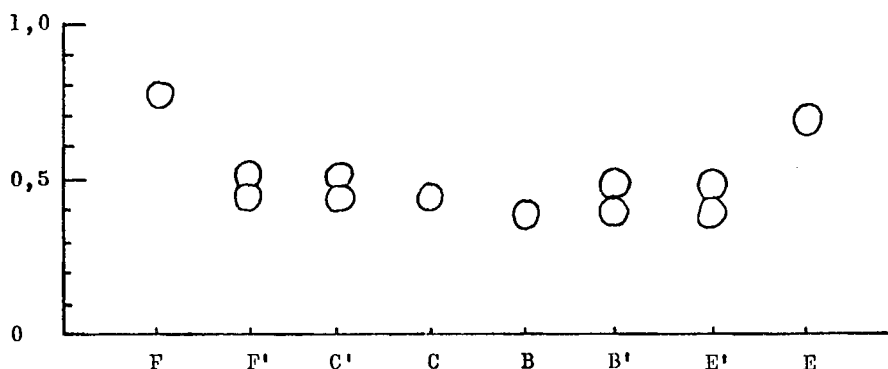
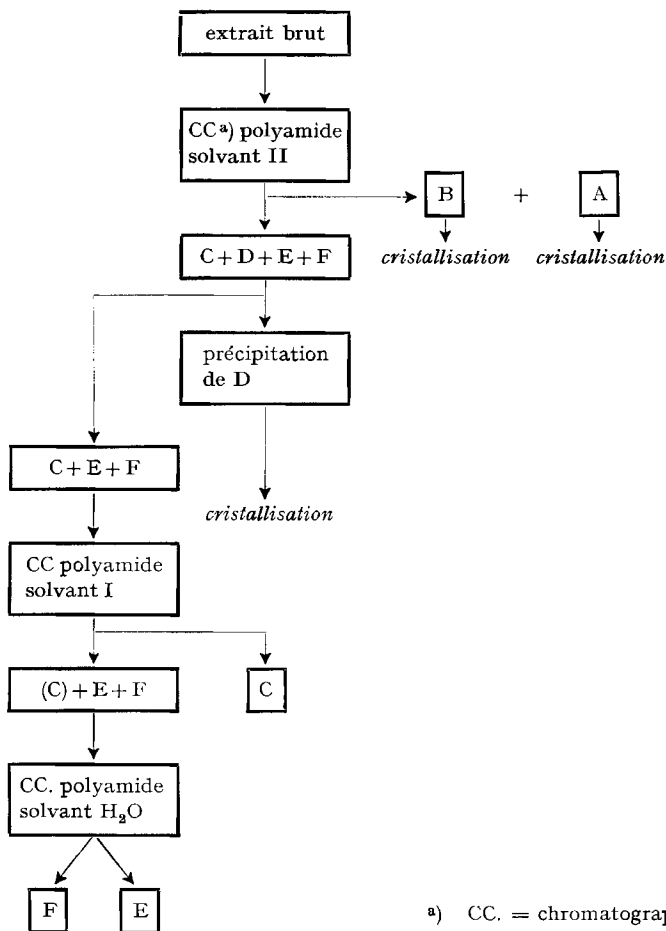


Fig. 2. Chromatogramme sur polyamide «Merck» avec le solvant MeOH/H₂O 9:1 des flavones avant traitement (B, C, E, F) et après traitement (B', C', E', F') par HCl 2N durant 3 h. (Rf. F: 0,77; F': 0,44 et 0,51; C': 0,44 et 0,51; C: 0,44; B: 0,38; B': 0,38 et 0,46; E': 0,38 et 0,46; E: 0,67).



a) CC. = chromatographie sur colonne.

Fig. 3. Séparation préparative des flavonoïdes et des xanthones de *G. leuca* L.

cutivement avec les trois solvants suivants: solvant II ($C_6H_6/MeOH/CH_3COOH$ 45:32:16), solvant I ($MeOH/H_2O$ 9:1 et avec de l'eau. Le schéma de séparation utilisé est représenté dans la fig. 3. L'élution a été constamment suivie à la lumière UV. de 350 nm.

2.2. *Identification des substances isolées.* Les spectres UV. des substances A et D présentent les caractéristiques des spectres de xanthones [12]. En revanche, les spectres UV. des substances B, C, E et F indiquent une structure flavonique [8]–[11].

a) *Xanthones.* A et D se trouvent sous forme hétérosidique comme l'indiquent l'analyse élémentaire et leur spectre IR. (présence d'une importante bande d'absorption OH entre 3000 et 3600 cm^{-1} , d'une bande vers 2910–2920 cm^{-1} (ν_{C-H}) ainsi que des bandes de forte intensité dans les régions 1250–1300 cm^{-1} et 1050–1100 cm^{-1} (ν_{O-H} et ν_{C-O} de groupes alcools primaires et secondaires).

L'hydrolyse prolongée en milieu acide chlorhydrique 2N ne provoque aucun changement dans la substance A, alors que la substance D libère deux sucres identifiés par chromatographie sur papier et réaction avec phtalate d'aniline comme xylose et glucose, formant le disaccharide primevérose. Le spectre RMN. de la xanthone D avant et après acétylation de tous les groupes hydroxyles indique une trisubstitution du squelette xanthonique dans les positions 1, 3 et 7, resp. par un groupe OH, par le sucre (qui est en l'occurrence le primevérose), et par un groupe méthoxyle. La présence d'un groupe hydroxyle dans la position 1 est de plus vérifiée par la fréquence de vibration de la fonction carbonyle à 1645 cm^{-1} , due à la chélation avec cet OH, et par les déplacements bathochromes caractéristiques des maxima dans le spectre UV. après complexation avec le chlorure d'aluminium.

La xanthone D possède donc la structure du gentioside (primevéroside en 3 de la dihydroxy-1, 3-méthoxy-7-xanthone (IV)). Elle fut isolée des racines de *G. lutea* L. par *Canonica & Pelizzoni* [13]. L'identité entre ces deux substances a été démontrée par synthèse de l'aglycone du gentioside: l'isogentisine (dihydroxy-1, 3-méthoxy-7-xanthone), selon la méthode de *Grover et al.* [14] et comparaison directe avec l'aglycone de la xanthone D.

La xanthone A, bien que de nature hétérosidique ne libère aucun sucre après hydrolyse prolongée en milieu acide dilué. Ce comportement est l'une des caractéristiques des dérivés dans lesquels le sucre est rattaché à l'aglycone par une liaison C–C. L'étude des spectres UV. de la xanthone A en milieu éthanolique avant et après adjonction de réactifs tels que $AlCl_3$, $AcONa$, $EtONa$ et $H_3BO_3/AcONa$, ainsi que la fréquence d'absorption de la fonction carbonyle dans l'IR. à 1645 cm^{-1} , indiquent des substitutions probables du squelette xanthonique par des groupes hydroxyles dans les positions 1, 3, 6 et 7.

Le spectre RMN. dans le deutériodiméthylsulfoxyde comporte notamment trois singulets à 6,40; 6,90; et 7,43 ppm (δ) correspondant aux protons aromatiques des positions 4, 5 et 8 respectivement, de sorte que le reste osidique doit se trouver en position 2. Le spectre RMN. dans le $CDCl_3$ de la xanthone A après acétylation totale des groupes hydroxyles comporte quatre groupes acétoxyles aliphatiques à 1,79; 2,02; 2,05 et 2,07 ppm (δ) correspondant respectivement aux positions 2, 6, 3, 4 d'un reste C- β -D-glucopyranosyle. En effet, selon *Hillis et Horn* [15], *Massicot et al.* [16] et *Gentili & Horowitz* [17], les protons des groupes acétoxyles aromatiques des flavones résonnent entre 2,30 et 2,45 ppm (δ) et ceux des groupes acétoxyles aliphatiques d'un reste C- β -D-glucopyranosyle résonnent dans la région de 1,67 à 2,10 ppm (δ). D'autre part, le groupe acétoxyle en position 2 du reste C- β -D-glucopyranosyle qui subit l'influence du noyau aromatique, résonne entre 1,77 et 1,83 ppm (δ) chez les C- β -D-glucopyranosyl-6-flavones et entre 1,70 et 1,73 chez les C- β -D-glucopyranosyl-8-flavones (les positions 6 et 8 des flavones correspondent aux positions 2 et 4 des xanthones). Ainsi, le déplacement chimique des protons du groupe acétoxyle en 2 d'un reste β -D-glucopyranosyle permet non seulement de distinguer les C-glucosides des O-glucosides (puisque dans ce dernier cas, le blindage par le noyau aromatique est moins important), mais permet également de différencier les C-glucosyl-6- des C-glycosyl-8-flavones (resp. C-glucosyl-2-xanthones des C-glucosyl-4-xanthones).

La présence du groupe C- β -D-glucopyranosyle a été de plus vérifiée par coupure de la liaison C–C sucre-aglycone par l'acide iodhydrique dans le phénol selon le procédé de *Iseda* [18] puis séparation de l'aglycone du mélange réactionnel par chromatographie sur colonne. L'aglycone a été identifié à la tétrahydroxy-1,3,6,7-xanthone par comparaison directe avec un échantillon authentique synthétisé selon la méthode de *Tanase* [19] appliquée par *Iseda* [18]. La nature du

sucre a été également vérifié par oxydation de l'oside par le chlorure ferrique selon *Hay & Haynes* [20]; cette méthode provoque une coupure non seulement de la liaison C—C sucre-aglycone, mais aussi au niveau du carbone 2 du sucre, de sorte qu'en plus de glucose, on obtient également un peu d'arabinose (identification par chromatographie sur papier). La configuration β du sucre se déduit de la valeur élevée de la constante de couplage ($J_{ax} - J_{ax} = 10$ Hz) du proton anomérique (*Horowitz & Gentili* [21]).

La xanthone A possède donc la structure de la mangiférine (C- β -D-glucopyranosyl-2-tétrahydroxy-1,3,6,7-xanthone (III)) qui constitue avec son éther méthylique en 3 et son isomère l'isomangiférine (C- β -D-glucopyranosyl-4-tétrahydroxy-1,3,6,7-xanthone) les seuls C-glucosyl-xanthonnes connus.

b) *Flavones*. Les flavones B, C, E et F se trouvent également sous forme hétérosidiques. Un traitement prolongé de 3 h. en milieu acide chlorhydrique 2N à reflux provoque une isomérisation partielle des flavones B et C, et une hydrolyse des flavones E et F, libérant deux aglycones partiellement isomérisés également et identiques aux flavones B et C respectivement. Le chromatogramme de ces flavones avant et après traitement en milieu acide est représenté dans la fig. 2.

Ainsi, les substances E et F sont respectivement des O-hétérosides des flavones B et C, qui sont elles-mêmes de nature C-hétérosidique comme l'indique l'isomérisation en milieu acide. Cette isomérisation des C-hétérosides en milieu acide peut être expliquée par la transposition de *Wessely & Moser* [22] des hydroxy-5-flavones.

L'étude des spectres UV. des flavones B et C en milieu éthanolique avant et après addition de réactifs tels que $AlCl_3$, $AcONa$, $EtONa$ et $H_3BO_3/AcONa$, indique que la flavone B possède des groupes hydroxyles dans les positions 5, 7, 3' et 4'. La flavone C contient trois substituants hydroxyles dans les positions 5, 7 et 4'. Le spectre RMN. de la flavone B dans le deutériodiméthylsulfoxyde confirme cette substitution: il comporte deux singulets à 6,63 et 6,52 ppm (δ), dont le premier peut être attribué au proton H-3 et le deuxième au proton H-8, ce qui implique que le sucre est fixé sur le carbone 6 de ce même noyau. On observe encore un doublet centré à 6,93 ppm (δ) avec la constante de couplage $J_{ortho} = 9$ Hz correspondant au proton H-5'. Les deux protons en 2' et 6' ne sont pas différenciables et forment un multiplet vers 7,43 ppm (δ). L'hydroxyle en 5, qui est fortement déblindé par la fonction carbonyle donne lieu à un singulet à 13,57 ppm (δ). Le reste osidique donne lieu à 16 protons dont le déplacement chimique se trouve entre 3 et 5,5 ppm (δ); le doublet du proton anomérique H-1 du sucre se trouve à 4,70 ppm (δ) ($J = 10$ Hz).

Le spectre RMN. du dérivé acétylé de la flavone B comporte 4 groupes acétoxyles aliphatiques dont le déplacement chimique est de 1,83; 2,03; 2,07 et 2,07 ppm (δ). Dans la région de 3,5 et 6 ppm (δ), on trouve 7 protons parmi lesquels le proton anomérique du sucre à 4,88 ppm (δ) ($J = 10$ Hz). Comme nous l'avons mentionné plus haut, ceci confirme la présence d'un reste C- β -glucopyranosyle fixé sur le carbone 6 du squelette flavonique.

La structure de la flavone B correspond de ce fait à celle de l'isoorientine (C- β -D-glucopyranosyl-6-tétrahydroxy-5,7,3',4'-flavone (V)). Cette structure a été confirmée après coupure de la liaison C—C sucre-aglycone au moyen d'acide iodhydrique selon *Iseda* [18] puis séparation de l'aglycone par chromatographie sur colonne. L'aglycone a été identifié à la lutéoline (tétrahydroxy-5,7,3',4'-flavone) par comparaison directe avec un échantillon authentique synthétisé selon la méthode de *Hutchins & Wheeler* [23]. Le sucre a encore été identifié au glucose par chromatographie sur papier après oxydation du glucoside au chlorure ferrique.

Le comportement chromatographique de la flavone C est également celui d'une C-glucosyl-6-flavone: d'une part, la valeur Rf sur couche mince de polyamide est très voisine de celle de l'isoorientine, et, d'autre part, un traitement prolongé en milieu acide chlorhydrique 2N à reflux entraîne l'isomérisation partielle en une substance de Rf supérieur. Or, dans les conditions utilisées, la valeur Rf des C-glucosyl-8-flavones est supérieure à celle de leurs isomères en 6. La flavone C n'étant toutefois présente qu'en quantité insuffisante pour permettre son isolement à l'échelle préparative, nous avons été restreints à l'étude de son spectre UV. sur une fraction isolée selon le schéma de la fig. 3 après purification ultérieure par chromatographie sur couche mince de polyamide. Les spectres UV. dans l'éthanol avant et après addition des réactifs $AlCl_3$, $AcONa$, $EtONa$ et $H_3BO_3/AcONa$ indiquent la présence de groupes hydroxyles dans les positions 5, 7 et 4'. Ces spectres sont en tous points identiques à ceux de l'isovitexine (C- β -D-glucopyranosyl-6-

trihydroxy-5,7,4'-flavone (VI)) (cf. *Mentzer* [24]). L'identité entre la flavone C et l'isovitexine a été démontrée par comparaison directe avec un échantillon authentique.

3. Discussion. – Exception faite du gentioside (IV), qui fut isolé des racines de *G. lutea* L. [13], toutes les substances isolées sont nouvelles dans le genre *Gentiana*.

Bien que les C-glucosyl-flavones soient peu répandues chez les *sympétales*, leur présence n'est pas surprenante dans les feuilles de *G. lutea* L. Ces substances possèdent, en effet, un caractère primitif dans l'évolution des constituants polyphénoliques [39], ce qui correspond donc bien à l'ancienneté de l'espèce.

Des examens chromatographiques préliminaires semblent indiquer une présence assez généralisée de C-glucosyl-flavones dans le genre *Gentiana*, de sorte qu'elles peuvent être considérées comme une particularité phytochimique du genre au même titre que les xanthones se trouvant dans les racines.

L'absence de flavonols et de flavones libres est également significative et permet de penser qu'ils sont remplacés par les C-glucosyl-flavones.

La présence simultanée de C-glucosyl-flavones et de mangiférine (seule représentante de la classe des C-glucosyl-xanthones avec son éther méthylique [40] et son isomère l'isomangiférine [41], n'est pas surprenante; l'analogie entre leur structure avait déjà incité *Bate-Smith* [42] à envisager pour leur biosynthèse un précurseur commun. En revanche, la présence simultanée de mangiférine et d'autres xanthones ne semble jamais avoir été observée auparavant [43], à l'exception de *Canscora decussata* [44].

Nous remercions le Professeur *C. Favarger* pour ses précieux conseils, et le Professeur *R. Tabacchi* pour l'enregistrement des spectres de RMN. A l'*Institut Battelle*, nous exprimons notre reconnaissance pour l'octroi d'une bourse d'étude (à *G.B.*).

Partie expérimentale

1. Extraction des polyphénols. 1.1. 3 kg de feuilles fraîches finement hachées et 6 g de CaCO_3 sont traités trois fois successivement avec 4 l d'éther de pétrole à ébullition durant 12 h. Après essorage, le matériel végétal est traité quatre fois successivement avec 4 l de méthanol à ébullition. Les extraits méthanoliques sont réunis et concentrés à 500 ml. Après avoir séjourné 1 jour dans une armoire frigorifique, l'extrait méthanolique est filtré et dilué avec 1 litre d'eau, puis extrait trois fois au *n*-BuOH. On obtient, après évaporation de la phase organique, 20 g de produit brut.

1.2. Les feuilles fraîches sont soumises à un séchage uniforme à 30° pendant 70 h. sous presse et avec ventilation. 500 g de feuilles séchées finement pulvérisées sont traités trois fois successivement avec 1,5 l de CHCl_3 à ébullition durant 5 h. Après filtration, on traite le matériel végétal successivement cinq fois avec 2 l de MeOH à ébullition durant 10 h. Les extraits méthanoliques sont concentrés à 500 ml. La suite des opérations s'effectue comme sous 1.1. On obtient 60 g de produit brut.

2. Techniques chromatographiques. 2.1. La recherche des sucres dans les hydrolysats des substances D, E et F a été effectuée par chromatographie sur papier (*Schleicher & Schüll* type 2043 bmgl, dimensions 29 × 25 cm), en utilisant la technique ascendante. 3 systèmes de solvants ont été utilisés: *n*-BuOH/EtOH/ H_2O 35:10:10, AcOEt/ $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}$ / H_2O 2:1:2 et *n*-BuOH/ $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}$ / H_2O 6:4:3. Les chromatogrammes ont été révélés à l'aide de phtalate d'aniline [45].

2.2. Les polyphénols ont été mis en évidence par chromatographie sur couche mince en utilisant comme adsorbants les polyamides du type *Merck et Macherey & Nagel* DC-6. Des couches d'épaisseur 100 μ environ sur support en verre (20 × 20 cm) ont été préparées selon les procédés habituels. 2 systèmes de solvants ont été utilisés: MeOH/ H_2O 9:1 et C_6H_6 /MeOH/ CH_3COOH 45:32:16. Après développement, les plaques ont été examinées à la lumière UV. de 350 nm, puis elles ont été révélées à l'aide des réactifs des flavones et des xanthones [2]–[7].

2.3. La séparation préparative des polyphénols (fig. 3) a été effectuée par chromatographie sur colonne en utilisant comme adsorbant une polyamide *Macherey & Nagel* SC-6 et les mêmes solvants que pour la chromatographie sur couche mince. L'utilisation d'une colonne aux dimensions 100 × 5 cm (\varnothing interne) permet de fractionner par passage 10 g d'extrait brut (adsorbé au préalable sur une quantité minimum de polyamide). L'élution est suivie à la lumière UV. de 350 nm.

3. *Techniques spectroscopiques.* 3.1. Les spectres UV. ont été enregistrés sur un appareil *Unicam* SP 800 en solution dans l'éthanol abs. et en présence des réactifs suivants: a) acétate de sodium: un excès du sel anhydre est introduit directement dans la cellule de mesure; b) chlorure d'aluminium: on opère dans une solution à 0,1% dans EtOH abs.; c) éthylate de sodium: on opère dans une solution à 0,1% dans EtOH abs.; d) ac. borique tamponné à l'acétate de sodium: on ajoute à 8 ml de la sol. standard 2 ml d'une solution saturée d'ac. borique dans EtOH abs., puis un excès d'acétate de sodium anhydre.

L'étude des spectres après addition de ces réactifs renseigne notamment sur le nombre et sur la position des groupes hydroxyles dans la molécule [8]–[12].

3.2. Les spectres IR. ont été enregistrés à partir de disques de KBr contenant 0,5% de substance sur un appareil *Perkin-Elmer*, modèle 521.

3.3. Les spectres de RMN. ont été enregistrés à 60 MHz sur un appareil *Varian* A-60 à 37° dans le d_1 -chloroforme ou le d_6 -diméthylsulfoxyde.

4. *Données analytiques des substances.* 4.1. Substance A. Quantité isolée: 300 mg. F. 260° (déc.) recristallisé dans MeOH. Analyse élémentaire: Tr.: C 53,1; H 4,33; O 42,57%. Calc. C 54,03; H 4,30; O 41,67%. Spectres UV. EtOH: 365, 316, 258, 242 nm; + AcONa: 378, 262, 241,5; + AlCl₃: 421, 357, 272,5; 238, 214; + EtONa: 391, 305, 272,5, 248, 238; + H₃BO₃/AcONa: 412, 372, 321, 263, 239, 233.

4.2. Substance B. Quantité isolée: 500 mg. F. 235–236° recristallisé dans le méthanol. Analyse élémentaire: Tr.: C 54,94; H 4,54; O 40,52%. Calc.: C 56,25; H 4,50; O 39,25%. PM. (par tonométrie dans le méthanol): 402 (calc. 448,4). Spectres UV. (EtOH): 350, 292, 271, 258, 219 nm; + AcONa: 380, 327, 278, 274, 240, 225; + AlCl₃: 432, 337, 306, 279, 237, 220; + EtONa: 411, 336, 275, 269, 236, 223; + H₃BO₃-AcONa: 381, 266, 231, 226.

4.3. Substance C. Spectres UV. (EtOH): 335, 271,5, 218; + AcONa: 380, 300, 279, 224; + AlCl₃: 380, 348, 304, 279, 219; + EtONa: 400, 333, 279, 231, 223; + H₃BO₃/AcONa: 347, 300, 277, 221.

4.4. Substance D. Quantité isolée: 100 mg. F. 266–267° (déc.). Dérivé heptaacétylé: F. 201 à 202°. Aglycone: F. 239–240°. Spectres UV. (EtOH): 371, 303, 260, 236; + AcONa: 371, 303, 260, 236; + AlCl₃: 426, 325, 317, 275, 232; + H₃BO₃/AcONa: 371, 303, 260, 235.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] *R. Hegnauer*, «Chemotaxonomie der Pflanzen», vol. IV, pp. 176–192, Birkhäuser, Basel und Stuttgart 1966.
- [2] *M. K. Seikel*, «The Chemistry of Flavonoid Compounds», édité par T. A. Geissmann, pp. 34 à 69, Pergamon 1962.
- [3] *T. B. Gage et al.*, *Analyt. Chemistry* 23, 1582 (1951).
- [4] *C. W. Wilson*, *J. Amer. chem. Soc.* 61, 2303 (1939).
- [5] *K. Tauböck*, *Naturwissenschaften* 30, 439 (1942).
- [6] *L. Hörhammer & R. Hänsel*, *Arch. Pharmaz.* 284, 276 (1951).
- [7] *L. Hörhammer & K. H. Müller*, *Arch. Pharmaz.* 287, 310 (1954).
- [8] *L. Jurd*, «The Chemistry of Flavonoid Compounds», édité par T. A. Geissmann, pp. 107–155, Pergamon 1962.
- [9] *J. Jurd*, *Phytochemistry* 8, 445 (1969).
- [10] *T. J. Mabry*, «Perspectives in Phytochemistry, Proceedings of the Phytochemical Society, Symposium Cambridge, April 1968», édité par J. B. Harborne et T. Swain, Academic Press, London, New-York 1969.
- [11] *T. J. Mabry et al.*, «The Systematic Identification of Flavonoids», Springer, New-York 1969.

- [12] *A. A. Lins Mesquita et al.*, *Analyt. chim. Arch.* **42**, 311 (1968).
 [13] *L. Canonica & F. Pelizzoni*, *Gazz. chim. ital.* **85**, 1007 (1955).
 [14] *P. K. Grover, G. D. Shah & R. C. Shah*, *J. chem. Soc.* **1955**, 3983.
 [15] *W. E. Hillis & D. H. S. Horn*, *Austr. J. Chemistry* **18**, 531 (1965).
 [16] *J. Massicot et al.*, *Bull. Soc. chim. France* **1963**, 2712.
 [17] *B. Gentili & R. M. Horowitz*, *J. org. Chemistry* **33**, 1571 (1968).
 [18] *S. Iseda*, *Bull. chem. Soc. Japan* **30**, 625 et 629 (1957).
 [19] *Y. Tanase*, *J. pharm. Soc. Japan* **67**, 341 (1941).
 [20] *J. E. Hay & L. Haynes*, *J. chem. Soc.* **1956**, 3141.
 [21] *R. M. Horowitz & B. Gentili*, *Chemistry & Industry* **1964**, 498.
 [22] *F. Wessely & G. H. Moser*, *Mh. Chem.* **56**, 97 (1930).
 [23] *W. A. Hutchins & T. S. Wheeler*, *J. chem. Soc.* **1939**, 91.
 [24] *C. Mentzer*, «Actualités de phytochimie fondamentale», 2e série, Masson & Cie, 1966.
 [25] *E. C. Bate-Smith*, *J. Linn. Soc. London (Botany)* **58**, 95 (1962).
 [26] *J. B. Harborne*, «Comparative Biochemistry of the Flavonoids», Academic Press, London, New York 1967.
 [27] *I. K. Nikitina*, *Tr. Leningrad Khim.-Farm Inst.* **21**, 159 et 162 (1967).
 [28] *R. Ramos Morgado*, *An. Fac. Farm. Porto* **26**, 5 (1966).
 [29] *J. E. Atkins et al.*, *Tetrahedron* **25**, 1507 (1969).
 [30] *M. Bridel*, *J. Pharm. Chim.* **8**, 241 (1913).
 [31] *M. Bridel*, *J. Pharm. Chim.* **10**, 329 (1914).
 [32] *M. Bridel*, *J. Pharm. Chim.* **1**, 371 (1925).
 [33] *V. Plowier et al.*, *C.r. hebd. Séances Acad. Sci. D* **264**, 1219 (1967).
 [34] *R. Rivaille et al.*, *Phytochemistry* **8**, 1533 (1969).
 [35] *M. Guyot et al.*, *C.r. hebd. Séances Acad. Sci. C* **267**, 423 (1968).
 [36] *K. R. Markham*, *Tetrahedron* **21**, 3687 (1965).
 [37] *P. Rivaille et al.*, *C.r. hebd. Séances Acad. Sci. D* **269**, 1121 (1969).
 [38] *D. J. Ross*, *New Zcal. J. Sci. Technol.* **32 B**, 39 (1950).
 [39] *J. B. Harborne*, «Comparative Phytochemistry», édité par T. Swain, p. 288, Academic Press, London, New York 1966.
 [40] *M. Aritomi & T. Kawasaki*, *Chem. Pharm. Bull.* **16**, 760 (1968).
 [41] *M. Aritomi & T. Kawasaki*, *Tetrahedron Letters* **1969**, 941.
 [42] *E. C. Bate-Smith*, *Lloydia* **28**, 313 (1965).
 [43] *I. Carpenter et al.*, *Phytochemistry* **8**, 2013 (1969).
 [44] *R. K. Chaudhuri & S. Ghosal*, *Phytochemistry* **10**, 2425 (1971).
 [45] *I. M. Hais & K. Macek*, *Handbuch der Papierchromatographie*, vol. 1, p. 913, V.E.B. Fischer, Jena 1963.

19. Near Cancellation of Through Space and Through Bond Interaction in Bicyclo[3.2.2]nona-6,8-diene¹⁾

by **M. J. Goldstein, S. Natowsky**

Department of Chemistry, Cornell University, Ithaca, New York 14850

and **Edgar Heilbronner, V. Hornung**

Physikalisch-chemisches Institut der Universität Basel

(17. XI. 72)

Summary. The photoelectron spectra of bicyclo[3.2.2]nonane and its five dehydrogenated analogues are reported. Analysis of the π -bands reveals that the unsymmetrical diene **5** retains the 'natural order' of the π -orbitals present in the lower homologues, i. e. the in-phase below

¹⁾ Part 45 of 'Applications of Photoelectron Spectroscopy'. Part 44: [1].