

Ces recherches ont été réalisées dans les laboratoires du professeur *A. Jacot-Guillarmod* à qui nous adressons tous nos remerciements. Nous remercions bien vivement le professeur *R. Tabacchi* de ses conseils et de l'enregistrement des SM. et des spectres de RMN.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] *J. M. Bourgeois*, *Helv. 56*, 2879 (1973).
 [2] *K. Ichimura, M. Ohta*, *Bull. chem. Soc. Jap. 40*, 432 (1967).
 [3] *H. Saeki, E. Ohki*, *Chem. pharm. Bull. Tokyo, 18*, 789 (1970).
 [4] *A. Rosenthal, M. Sprinzl*, *Canad. J. Chemistry 47*, 3941 (1969).
 [5] *H. Yanagisawa, M. Kinoshita, S. Umezawa*, *Bull. chem. Soc. Jap. 44*, 3399 (1971).
 [6] *J. M. J. Tronchet, E. Mihaly*, *Helv. 55*, 1266 (1972).
 [7] *J. M. Bourgeois*, Manuscrit en préparation.

280. Contribution à la phytochimie du genre *Gentiana* IX¹⁾
Etude de composés flavoniques et xanthoniques dans les feuilles
de *Gentiana Campestris* L. 1^{ère} communication

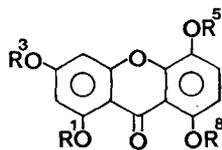
par **Maryse Kaldas, Kurt Hostettmann** et **André Jacot-Guillarmod**

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

(20. XI. 74)

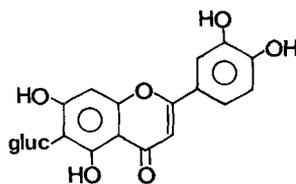
Summary. Two new xanthone-O-glycosides, the 1,3,5-trihydroxy-xanthone-8-O- β -D-glucopyranoside (**3**), the 1,5-dihydroxy-3-methoxyxanthone-8-O- β -D-glucopyranoside (**4**), have been isolated from the leaves of *Gentiana campestris* L. by means of column chromatography on polyamid. Two known xanthonones (**1**, **2**) which are respectively the aglycones of **3** and **4** and a flavone: iso-orientine (**5**) have also been isolated and identified.

1. Introduction. – *Gentiana campestris* L. est l'une des nombreuses espèces de la section *Amarella*. Bien qu'appartenant au genre *Gentiana*, cette section est communément classée, ainsi que huit autres, dans le sous-genre *Gentianella*.



1-4, 6, 7

- 1:** $R^1 = R^3 = R^5 = R^8 = H$
2: $R^1 = R^5 = R^8 = H$
 $R^3 = CH_3$
3: $R^1 = R^3 = R^5 = H$
 $R^8 = \beta$ -D-glucosyle
4: $R^1 = R^5 = H, R^3 = CH_3$
 $R^8 = \beta$ -D-glucosyle



5

- 5:** isoorientine
6: $R^1 = R^3 = R^5 = CH_3$
 $R^8 = H$
7: $R^1 = R^3 = R^6 = R^8 = CH_3$

¹⁾ Partie VIII, v. Phytochemistry, sous presse.

Les études phytochimiques de ce sous-genre n'ont fait l'objet que d'un nombre restreint de mémoires, lesquels ont trait principalement à *Gentiana bellidifolia* Hook [1], *Gentiana corymbifera* Kirk [2] et *Gentiana ciliata* L. [3]. Dans la première espèce, des aglycones xanthoniques tétra-OR-substitués en 1,3,5,8 et penta-OR-substitués en 1,3,4,7,8 et en 1,3,4,5,8 (R = H, CH₃) ont été mis en évidence. Ce dernier schéma de substitution se retrouve dans *Gentiana corymbifera* Kirk, ce qui n'est pas étonnant en raison de l'appartenance de ces deux espèces à la section *Antarctophila*. En revanche dans *Gentiana ciliata* L. (section *Crossopetalum*) seules des xanthonés tétra-OR-substitués en 1,3,7,8 ont été isolés.

Le présent travail a trait à la détermination des structures de quatre xanthonés 1-4, dont deux, 3 et 4, sont décrites pour la première fois et d'une flavone 5, isolées à partir de feuilles de *Gentiana campestris* L. L'étude d'autres substances analogues est en cours et fera l'objet d'une communication ultérieure.

2. Résultats. – 2.1. *Isolement des composés.* Les feuilles séchées ont été extraites à chaud par des solvants de polarité croissante: ligroïne, éther, chloroforme, acétate d'éthyle, méthanol. L'extrait étheré, chromatographié sur colonne de polyamide (élution MeOH/H₂O/AcOH 90:5:5), fournit les composés 1 et 2 qui sont encore purifiés par filtration sur gel de Sephadex LH 20 (élution MeOH). Les glucosides 3, 4 ainsi que l'isoorientine 5 ont été isolés à partir de l'extrait méthanolique chromatographié sur colonne de polyamide avec comme éluant, un mélange MeOH/H₂O dont la teneur en MeOH est augmentée graduellement. MeOH à 70% donne 5, MeOH à 90% permet l'obtention de 3 et 4.

2.2. *Détermination des structures.* – *Composé 1.* Le spectre UV. est caractéristique d'une xanthone tétrasubstituée en 1,3, 5,8 qui possède au moins deux groupes hydroxyles libres dont un en position 3 et un en 1 ou 8 [4]. La valeur R_f particulièrement faible (CCM polyamide MNDC₁₁, MeOH/H₂O 9:1, R_f = 0,04) indique que 1 ne peut être que tétrahydroxylée. Le F. et les spectres UV. sont identiques à ceux de la tétrahydroxy-1,3,5,8-xanthone [5]. Le spectre RMN.²⁾ du dérivé acétylé montre la présence de quatre groupes acétoxyles aromatiques (singulets à 2,33 et 2,42) et de

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

Composé	Solvant pur	Solvant additionné de:		
		AlCl ₃	NaOAc	NaOMe
1	254, 278	263, 290	250, 272	
	335, 390 sh	328 sh, 372	360	
2	255, 279	265, 291	255, 279	267, 285 sh
	334, 390 sh	325, 372	334, 390 sh	368
3	252, 275	263 sh, 267, 283	248, 266	233, 258
	328	324 sh, 362	288 sh, 354	297, 358
4	254, 276	267, 284	254, 277 sh	248, 254
	325	324, 362	288, 324	286, 344
6	238, 248	243 sh, 257	238, 248	
	276, 318	289, 348	276, 318	
7	238, 271	238, 271	238, 271	238, 271
	307, 350 sh	307, 350 sh	307, 350 sh	307, 350 sh

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

quatre protons aromatiques formant des spectres *AB* à 6,82 et 7,22 ($J = 2,5$ Hz) et à 6,93 et 7,458 ($J = 9,5$ Hz). Les valeurs obtenues diffèrent cependant de celles de la tétraacétoxy-1,3,5,8-xanthone données par *Komatsu et al.* [5]. Etant donné la très faible solubilité de ce dérivé acétylé dans CDCl_3 , il est possible que les auteurs cités aient employé un autre solvant pour l'enregistrement du spectre. De plus, la méthylation par un excès de diazométhane conduit à **7**: tétraméthoxy-1,3,5,8-xanthone. Le composé **1** est donc la tétrahydroxy-1,3,5,8-xanthone qui a été identifiée pour la première fois dans *Gentiana bellidifolia* Hook [1] et par la suite dans plusieurs espèces du genre *Swertia* [6] [7].

Composé 2. Le spectre UV. indique qu'il s'agit d'une xanthone substituée en 1,3,5,8 ayant un groupe hydroxyle libre en position 1 ou 8. Le spectre RMN. du dérivé acétylé montre la présence d'un groupe méthoxyle et de trois groupes acétoxyles (voir tab. 2).

Tableau 2. Spectres RMN³⁾ (enregistrés dans CDCl_3 , δ en ppm par rapport au TMS pris comme référence interne)

Composé	Protons aromatiques		H (6) et H (7) $J = 9,5 \pm 0,2$ Hz	—OCH ₃	—OCOCH ₃
	H (2) et H (4) $J = 2,5 \pm 0,2$ Hz				
1 acétylé	6,82 7,22		6,93 7,45		2,33 (3H) 2,42 (9H)
2 acétylé	6,57 6,72		6,93 7,42	3,92 (3H)	2,41 (9H)
3 acétylé	6,78 7,15		6,96 7,31		2,30 (3H) 2,38 (3H) 2,48 (3H)
4 acétylé	6,53 6,66		6,95 7,30	3,87 (3H)	2,40 (3H) 2,49 (3H)
6 acétylé	6,33 6,56		6,85 7,13	3,88 (3H) 3,95 (3H) 3,98 (3H)	2,45 (3H)
7	6,32 6,54		6,65 7,08	3,87 (3H) 3,93 (9H)	

Comme le spectre UV. ne subit aucune modification par l'addition de NaOAc, le groupe méthoxyle ne peut être fixé qu'en position 3. Le composé **2** correspond donc à la trihydroxy-1,5,8-méthoxy-3-xanthone. Les spectres UV. et RMN. sont conformes aux données de la littérature [1] [5]. Enfin, la méthylation par un excès de diazométhane conduit à **7**. Rappelons que **2** a été isolée pour la première fois à partir des racines de *Gentiana bellidifolia* Hook par *Markham* [1] qui lui a attribué le nom de bellidifoline.

Composé 3. L'hydrolyse acide de **3** fournit la tétrahydroxy-1,3,5,8-xanthone (**1**), ainsi que du glucose. Dans le spectre RMN. du dérivé acétylé, on compte quatre protons aromatiques formant des spectres *AB* à 6,78 et 7,15 ($J = 2,5$ Hz) et à 6,96 et 7,31 ($J = 9,5$ Hz), quatre groupes acétoxyles aliphatiques entre 2,00 et 2,10 δ , trois groupes acétoxyles aromatiques à 2,30, 2,38 et 2,48, dont un seul en α de la fonction carbonyle [8]. Par conséquent, le sucre ne peut être attaché au squelette

³⁾ Pour les composés **3** et **4** la partie glucosidique n'est pas reportée dans ce tableau.

xanthonique qu'en position 1 ou 8. La méthylation des groupes hydroxyles phénoliques libres par un excès de diazométhane, suivie de l'hydrolyse acide, fournit un composé (6), lequel ne peut correspondre qu'à l'hydroxy-1-triméthoxy-3,5,8-xanthonone ou à l'hydroxy-8-triméthoxy-1,3,5-xanthonone. Relevons que les spectres UV. diffèrent nettement de ceux du premier composé [7]; en revanche, ils sont semblables à ceux du second [4]. Une preuve supplémentaire est apportée par la comparaison du spectre RMN. de 6 acétylé avec celui de la tétraméthoxy-1,3,5,8-xanthonone (7): les protons en position 2 et 4 ne sont pas déplacés [9] (voir tab. 2). Le composé 3 est donc le trihydroxy-1,3,5-xanthonone-8-O-glucoside ou desméthylbellidifoline-8-O-glucoside. Mentionnons qu'un isomère, la glucosyl-1-desméthylbellidifoline a été isolée par Tomimori et al [10] dans différentes espèces du genre *Swertia*.

Composé 4. L'hydrolyse acide de 4 conduit au glucose et à la trihydroxy-1,5,8-méthoxy-3-xanthonone (2). On observe dans le spectre RMN. du dérivé acétylé la présence de quatre protons aromatiques à 6,53 et 6,66 ($J = 2,5$ Hz) et à 6,95 et 7,30 ($J = 9,5$ Hz), de quatre acétoxyles aliphatiques entre 2,00 et 2,15, d'un méthoxyyle (singulet à 3,87) et de deux acétoxyles aromatiques à 2,40 et 2,49. Le déplacement chimique élevé de ce dernier groupe précise qu'il se trouve au voisinage de la fonction carbonyle [8]. La position d'attache du sucre ne peut donc être qu'en 1 ou 8. La méthylation de 4, suivie de l'hydrolyse acide, conduit à l'hydroxy-8-triméthoxy-1,3,5-xanthonone (6). Le composé 4 est donc le bellidifoline-8-O-glucoside. Un isomère de ce glucoside, la swertianoline (bellidifoline-1-O-glucoside), a été identifié dans le genre *Swertia* [11].

Composé 5. L'identification a été faite par comparaison avec un échantillon authentique (comportement chromatographique, comportement à l'hydrolyse acide, F., spectres UV. et IR.) [12].

3. Discussion. – Les O-glucosides xanthoniques 3 et 4 sont nouveaux; seuls les isomères avec le glucose attaché en position 1 sont connus actuellement [11]. Relevons encore que toutes les xanthonones que nous avons isolées à ce jour dans *Gentiana campestris* L. ont le schéma de substitution 1,3,5,8, à savoir le même que celui de certaines xanthonones de *Gentiana bellidifolia* Hook [1], espèce néo-zélandaise du sous-genre *Gentianella*.

Les auteurs remercient Monsieur le Professeur Claude Favarger, Institut de Botanique de l'Université de Neuchâtel, de l'identification du matériel végétal. Ils expriment leur gratitude à Monsieur le Professeur Raphaël Tabacchi, de l'intérêt porté à ce travail et à Mesdemoiselles Manuela Léna et Odette Clerc de leur aide technique.

Partie expérimentale

1. *Isolement et techniques analytiques.* Le matériel végétal a été récolté dans le Jura vaudois (Chasseron). 90 g de poudre de feuilles et de tiges séchées ont été extraits à chaud par des solvants de polarité croissante [13]. Les différents extraits ont été analysés par CCM sur polyamide Macherey-Nagel DC₁₁AC: (MeOH/H₂O/AcOH 90:5:5) = solvant a; (MeOH/H₂O 9:1) = solvant b. La chromatographie préparative sur colonne de polyamide MN SC₆ de l'extrait étheré avec le solvant a fournit 1 (55 mg) et 2 (25 mg). L'extrait méthanolique est chromatographié sur une colonne de polyamide MN SC₆ (longueur de la colonne: 100 cm; \varnothing int.: 6,5 cm) avec, comme éluant un mélange MeOH/H₂O 1:1 dont la teneur en MeOH est graduellement augmentée. MeOH à 70% donne 5 (18 mg); MeOH à 90% permet l'obtention de 3 (120 mg) et 4 (147 mg). La méthyla-

tion de **1** et **2** par un excès de solution étherée de diazométhane conduit à **6** et **7** qui sont séparés par filtration sur gel de Sephadex LH 20 (solvant MeOH). L'hydrolyse acide, la recherche des sucres, l'acétylation, la méthylation, ainsi que l'enregistrement des spectres UV. et RMN. ont été effectués comme décrit précédemment [13].

Composé 2, recristallisé dans MeOH, F. 315° (lit. F. 317° [6]); Rf = 0,11 (solvant a); Rf = 0,06 (solvant b). Dérivé acétylé recristallisé dans EtOH, F. 244° (Lit. F. 244° [5]). Dérivé méthylé (**7**), recristallisé dans MeOH, F. 207°; Rf = 0,49 (solvant b).

Composé 2, recristallisé dans MeOH, F. 262° (Lit. F. 263° [6]); Rf = 0,17 (solvant a); Rf = 0,08 (solvant b). Dérivé acétylé, recristallisé dans EtOH F. 235° (Lit. F. 238° [5]). Dérivé méthylé (**7**), recristallisé dans MeOH, F. 207°.

Composé 3, recristallisé dans MeOH, F. 241°; Rf = 0,29 (solvant b).

$C_{19}H_{18}O_{11} \cdot H_2O$ (440,12) Calc. C 51,82 H 4,54% Tr. C 51,24 H 4,66%

Dérivé acétylé, recristallisé dans EtOH, F. 246°.

$C_{33}H_{32}O_{18}$ (716,08) Calc. C 55,24 H 4,42% Tr. C 54,90 H 4,13%

Composé 4, recristallisé dans MeOH, F. 199°; Rf = 0,36 (solvant b).

$C_{20}H_{20}O_{11} \cdot H_2O$ (454,38) Calc. C 52,85 H 4,88% Tr. C 52,03 H 4,59%

Dérivé acétylé: F. 242°.

Composé 5. Voir [12].

Composé 6, recristallisé dans MeOH, F. 208° (Lit. F. 206–207° [1]); Rf = 0,25 (solvant b). Dérivé acétylé, recristallisé dans $CHCl_3$, F. 223°; (Lit. F. 222–224° [1]).

Composé 7, recristallisé dans MeOH, F. 207°; Rf = 0,49 (solvant b).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] K. R. Markham, *Tetrahedron* 20, 991 (1964).
- [2] D. J. Ross, *New Zeal. J. Sci. Technol.* 32B, 39 (1950); J. C. Roberts, *Chem. Rev.* 1961, 591.
- [3] J. Carbonnier, M. Massias, M. C. Jarreau-Carbonnier & D. Molho, *Travaux lab. de la Jaysinia* 4, 169 (1972).
- [4] K. R. Markham, *Tetrahedron* 21, 3687 (1965).
- [5] M. Komatsu, T. Tomimori & N. Mikuriya, *Chem. pharm. Bull.* 17, 155 (1969).
- [6] T. Tomimori, M. Yoshizaki & T. Nanba, *Yakugaku Zasshi* 94, 647 (1974).
- [7] S. Goshal, P. V. Sharma, R. K. Chaudhuri & S. K. Bhattacharya, *J. pharm. Sci.* 62, 926 (1973).
- [8] J. Massicot, J. P. Marthe & S. Heitz, *Bull. Soc. chim. France* 1963, 2712.
- [9] P. Rivaille, J. Massicot, M. Guyot & V. Plowier, *Phytochemistry* 8, 1533 (1969).
- [10] T. Tomimori & M. Komatsu, *Yakugaku Zasshi* 89, 1276 (1969).
- [11] T. Tomimori, M. Yoshizaki & T. Nanba, *Yakugaku Zasshi* 93, 442 (1973).
- [12] G. Bellmann & A. Jacot-Guillarmod, *Helv.* 56, 284 (1973).
- [13] K. Hostettmann, G. Bellmann, R. Tabacchi & A. Jacot-Guillarmod, *Helv.* 56, 3050 (1973).