

### 131. Contribution à la phytochimie du genre *Gentiana*. XIV<sup>1)</sup>: Identification de nouveaux dérivés de l'isoorientine extraits des feuilles de *Gentiana burseri* LAPEYR (2<sup>e</sup> communication)

par Minh Duc Luong, Kurt Hostettmann et André Jacot-Guillarmod

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

(28. IV. 76)

**Phytochemistry of genus *Gentiana* XIV: Identification of new derivatives of isoorientin in the leaves of *Gentiana burseri* LAPEYR.** 2nd Communication. – *Summary.* Two new derivatives of isoorientin have been isolated and identified. The structures of the new compounds were established as: *trans*-feruloyl-2''-isoorientin (**1**) and *trans*-feruloyl-2''-isoorientin-4'-*O*- $\beta$ -D-glucoside (**2**).

**1. Introduction.** – Dans une précédente communication [1], nous avons décrit deux substances (**3** et **4**) constituant un nouveau type de composés flavoniques dérivant de l'isoorientine. La partie 6-C-glucosidique de celle-ci est substituée en 2'' par l'acide caféique dans **3** ou par l'acide *O*- $\beta$ -D-glucosyl-4-caféique dans **4**; la position 4' étant un groupe OH libre dans **3** ou un reste *O*- $\beta$ -D-glucosyle dans **4**.

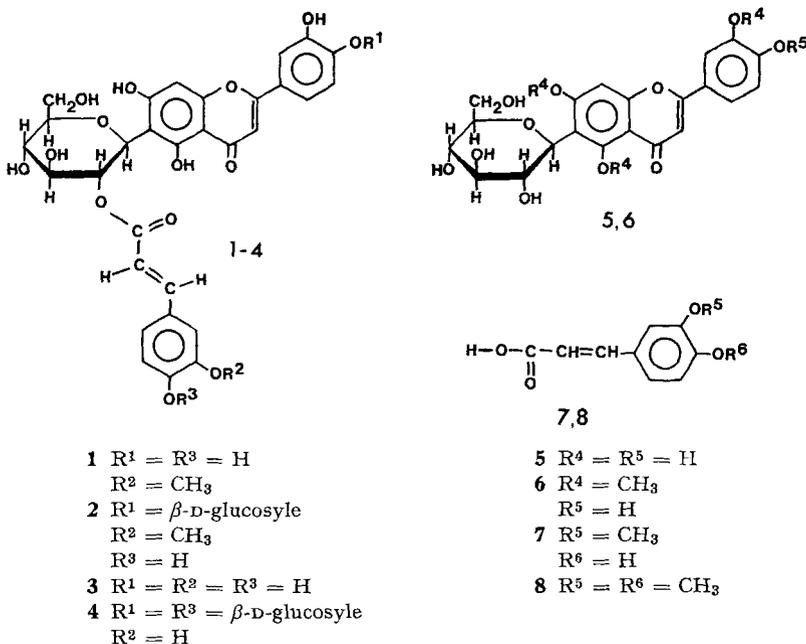
Nous avons été à même d'isoler deux nouvelles substances analogues (**1** et **2**) dont nous décrivons ci-après la détermination de structure. Dans les deux cas, la partie 6-C-glucosidique de l'isoorientine est substituée en 2'' par l'acide férulique (**7**); le groupe OH en 4' est libre dans **1**, il est remplacé par un reste *O*- $\beta$ -D-glucosyle dans **2**.

**2. Résultats.** – 2.1. *Isolement des composés.* L'extraction a été réalisée comme décrit précédemment [2]. Les composés **1** et **2** ont été obtenus par chromatographie de l'extrait méthanolique sur polyamide (éluant MeOH/H<sub>2</sub>O 1:1 avec augmentation progressive de la teneur en MeOH au cours du développement). Les fractions contenant **1** sont soumises à deux nouvelles chromatographies, d'abord sur polyamide (Benzène/MeOH/AcOH 45:32:16) puis sur cellulose (AcOH 15%). Les fractions contenant **2** sont successivement purifiées sur deux colonnes de cellulose (AcOH 10% et CHCl<sub>3</sub>/AcOH/H<sub>2</sub>O 50:45:5). Finalement **1** et **2** sont encore chromatographiés sur Sephadex (MeOH).

2.2. *Détermination des structures.* – *Composés 1 et 2.* L'hydrolyse acide donne dans les deux cas l'isoorientine **5** (avec isomérisation en orientine) et l'acide férulique **7**. La caractérisation de **5** et de **7** (mélange des isomères *cis* et *trans* [3]) a été établie sur la base du comportement chromatographique (CCM.) et des spectres UV. (MeOH) avant et après addition des réactifs usuels, et par comparaison avec des échantillons authentiques.

*Composé 1.* Les spectres UV. (voir tableau 1) correspondent à ceux d'une flavone portant des groupes hydroxyle en 5, 7, 3' et 4' [4]. La position d'attache de **7** se trouve donc sur la partie C-glucosidique de **5**, plus précisément en 2''; en effet, dans le spectre

<sup>1)</sup> Partie XIII, v. Helv. 58, 2189 (1975).



RMN.<sup>2)</sup> du dérivé acétylé de **1**, on remarque l'absence du signal du groupe acétyle en 2'' (région 1,70–1,82  $\delta$ ). Ce spectre confirme la structure proposée: *trans*-féruoyl-2''-iso-orientine. On note:

- pour la partie C-glycoside flavonique:
- cinq protons aromatiques à 6,54 (H-C(3)), 7,32 (H-C(8)), 7,37 (H-C(5')),  $J = 9$  Hz), 7,69 (H-C(2') et H-C(6')),  $J = 9$  Hz);
- quatre groupes acétoxy aromatiques à 2,31 (Ac-C(3')), 2,32 (Ac-C(4')), 2,51 (Ac-C(5) et Ac-C(7));
- trois groupes acétoxy aliphatiques à 2,00 (Ac-C(6'')), 2,06 (Ac-C(3'')), 2,07 (Ac-C(4''));
- sept protons aliphatiques dont un à 5,84 ( $J = 9$  et 10 Hz, H-C(2'')), un à 5,41 ( $J = 9$  et 10 Hz, H-C(4'')), un à 5,21 ( $J = 9$  et 10 Hz, H-C(3'')), deux entre 3,70 et 4,55 (H-C(5'') et H-C(6'')) et un à 4,92 ( $J = 10$  Hz, H-C(1'')) indiquant que la partie C-glycosidique a la configuration  $\beta$ .
- pour la partie féruoyle:
- trois protons aromatiques entre 6,90 et 7,70
- un groupe acétoxy aromatique à 2,29 (Ac-C(4))
- un groupe méthoxy aromatique à 3,82 (MeO-C(3))
- deux protons éthyléniques à 6,10 ( $J = 16$  Hz, H- $\alpha$ ) et 7,42 ( $J = 16$  Hz, H- $\beta$ ) formant un spectre *AB*, ce qui montre que l'acide féruïque possède la configuration *trans*.

<sup>2)</sup> Enregistré à 90 MHz dans  $CDCl_3$  ( $\delta$  en ppm par rapport au TMS pris comme référence interne).

**Composé 2.** En plus de **5** et **7**, l'hydrolyse acide donne du glucose. L'action de la  $\beta$ -glucosidase conduit au composé **1**, caractérisé par l'étude des spectres UV. et du comportement chromatographique. Selon les spectres UV. de **2** (voir tableau 1)

Tableau 1. *Spectres UV. des composés 1, 2 et 7* (max. en nm, solvant = MeOH, sh = épaulement)

Composé	Solvant pur	Solvant additionné de			
		AlCl <sub>3</sub>	AlCl <sub>3</sub> /HCl	NaOAc	NaOMe
<b>1</b>	272, 297 sh	278, 302 sh	279, 298 sh	270 sh, 280	267, 280 sh
	331	332, 425	337, 384 sh	332 sh, 382	310 sh, 382
<b>2</b>	273, 293 sh	279, 297 sh	281, 297 sh	279, 364	280, 305 sh
	314	323, 384 sh	320, 384 sh		360
<b>7</b>	295, 320	300 sh, 332	295, 324	288, 312	305 sh, 346
				350 sh	

la partie flavonique est substituée en 4'. La méthylation de **2** suivie de l'hydrolyse acide donne **6** et **8**, caractérisés à l'aide d'échantillons authentiques (CCM. et UV. pour **6**, CCM. et révélateur spécifique pour **8**). Les valeurs R<sub>f</sub> comparées à celles de **3** et **4** [1] suggèrent que 4' n'est substitué que par une seule molécule de glucose, hypothèse confirmée par le spectre RMN. du dérivé acétylé, où l'on distingue notamment sept groupes acétoxyde aliphatiques entre 1,98 et 2,20  $\delta$ . Les quatre acétoxydes aromatiques sont situés à 2,50  $\delta$  (Ac-C(5), Ac-C(7)), 2,30  $\delta$  (Ac-C(3')) et 2,29  $\delta$  (Ac-C(4) partie féruloylé).

Les auteurs remercient Monsieur le Prof. *Cl. Favarger* de l'identification du matériel végétal, Monsieur le Prof. *R. Tabacchi* de l'intérêt qu'il a porté à ce travail et Mlle *F. Mathez* de son aide technique. Ils expriment leur gratitude au *Fonds National Suisse de la Recherche scientifique* pour son support financier (crédit no 2.1600.74) ainsi qu'à la maison *F. Hoffmann-La Roche & Co* à Bâle (laboratoire du Prof. *W. Boguth*) pour le relevé des spectres RMN. 90 MHz.

### Partie expérimentale

*Généralités.* Voir [2].

*Isolement et techniques analytiques.* Le matériel végétal a été récolté dans les Pyrénées orientales (Col de Puymorens). 500 g de poudre de feuilles séchées ont fourni 12 mg de **1** et 4 mg de **2**. Les différents extraits ont été analysés par CCM. sur polyamide *Macherey-Nagel* DC<sub>11</sub> (MeOH/H<sub>2</sub>O 9:1 = solvant a) et par CCM. sur cellulose *Merck* (AcOH 10% = solvant b). Les séparations sur colonne ont été réalisées à l'aide de polyamide *Macherey-Nagel* SC<sub>6</sub>, de cellulose micro-cristalline *Merck* et de Sephadex LH<sub>20</sub> *Pharmacia*.

*Composé 1.* F. 197–200° (déc.); R<sub>f</sub> 0,32 (solvant a); R<sub>f</sub> 0,30 (solvant b). – IR.: C=O (ester) 1670 cm<sup>-1</sup>. – Dérivé acétylé recristallisé dans EtOH, F. 204–207° (déc.).

C<sub>47</sub>H<sub>44</sub>O<sub>22</sub> (960,86) Calc. C 58,75 H 4,62% Tr. C 57,13 H 4,7%

*Composé 2.* F. 192–195° (déc.); R<sub>f</sub> 0,59 (solvant a); R<sub>f</sub> 0,53 (solvant b).

*Composés 7 et 8* (mélanges *cis/trans*). Analyse CCM., polyamide *Macherey-Nagel* DC<sub>11</sub> (MeOH/H<sub>2</sub>O 9:1), cellulose *F Merck* (AcOH 5%), silicagel 60 F 254 *Merck* (Benzène/MeOH/AcOH 45:8:4). Révélateur *Echtrotsalz B (Fluka)* 0,2% H<sub>2</sub>O.

### BIBLIOGRAPHIE

- [1] *A. Jacot-Guillarmod, M. D. Luong & K. Hostettmann, Helv. 58, 1477 (1975).*
- [2] *K. Hostettmann, G. Bellmann, R. Tabacchi & A. Jacot-Guillarmod, Helv. 56, 3050 (1973).*
- [3] *A. H. Williams, Chemistry & Ind., 1955, 120.*
- [4] *T. J. Mabry, K. R. Markham & M. B. Thomas, The Systematic Identification of Flavonoids, Springer, New York 1970.*