

165. Identification de xanthones et de nouveaux arabinosides de C-glycosides flavoniques dans *Swertia perennis* L.

par Kurt Hostettmann et André Jacot-Guillarmod

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

(26. IV. 76)

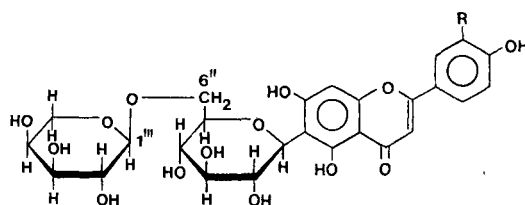
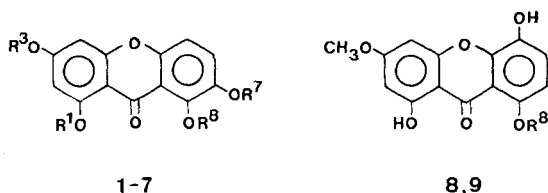
Summary. – Identification of xanthenes and new arabinosides of flavone C-glycosides from *Swertia perennis* L. – Seven tetraoxygenated xanthenes [1,3,7,8-tetrahydroxy-xanthone (**1**); 1,8-dihydroxy-3,7-dimethoxy-xanthone (**2**); 1,7-dihydroxy-3,8-dimethoxy-xanthone (**3**); 1-hydroxy-3,7,8-trimethoxy-xanthone (**4**); 3,7,8-trihydroxy-xanthone-1-0- β -glucoside (**5**); 3,7,8-trimethoxy-xanthone-1-0-primeveroside (**6**); 8-hydroxy-3,7-dimethoxy-xanthone-1-0-primeveroside (**7**)] have been isolated chromatographically, using polyamide columns, from roots of *Swertia perennis* L. From leaves and stems of the same plant, six xanthenes [1,5,8-trihydroxy-3-methoxy-xanthone (**8**); 1,5-dihydroxy-3-methoxy-xanthone-8-0- β -glucoside (**9**); mangiferin (**10**); **1**; **4**; **5**] and four flavone C-glycosides [iso-orientin (**11**); isovitexin (**12**); iso-orientin-6'-arabinoside (**13**); isovitexin-6'-arabinoside (**14**)] have also been isolated. Among these compounds, **7**, **13** and **14** were not encountered before in nature. In the last two compounds, the position of arabinose on the C-glycoside moiety of the flavone was established by ^{13}C -NMR. spectroscopy.

1. Introduction. – Ces dernières années, de nombreux travaux relatifs aux constituants de différentes espèces du genre *Swertia* (*Gentianaceae*) ont été publiés, notamment par des chercheurs japonais [1] [2] et indiens [3] [4] [5]. L'intérêt croissant pour ces plantes s'explique par leur emploi dans la médecine populaire asiatique. Récemment, Ghosal *et al.* [6] ont montré que les xanthones isolées à partir du genre *Swertia* présentent diverses activités pharmacologiques: action antipsychotique, inhibition de la monoamine-oxydase, activité antituberculaire.

La seule espèce européenne du genre, *Swertia perennis* L., n'a été jusqu'ici que très peu étudiée. La gentiopicine a été mise en évidence dans les racines et les feuilles [7], et les xanthones bellidifoline et swertiapérénine dans les fleurs et les racines [8].

Le présent travail a pour objet la détermination de structure de xanthones (**1**–**10**) et de C-glycosides flavoniques (**11**–**14**) isolés à partir des racines et des feuilles. Les composés **10**, **13** et **14** sont de nouveaux produits naturels.

2. Résultats. – 2.1. *Isolement des composés.* Le matériel végétal séché a été extrait successivement par l'éther, le chloroforme, le méthanol. L'extrait étheré des racines, chromatographié sur colonne de polyamide (élution MeOH/H₂O/AcOH 90:5:5), fournit les composés **1**–**4**. L'extrait étheré des feuilles et des tiges, chromatographié dans les mêmes conditions, permet d'obtenir les aglycones **1**, **4** et **8**. Les glycosides **5**–**7**, **9**–**14** ont été isolés à partir des extraits méthanoliques chromatographiés sur colonne de polyamide avec comme éluant un mélange MeOH/H₂O, dont la



13, 14

- | | |
|--|--|
| 1 $R^1 = R^3 = R^7 = R^8 = H$ | 8 $R^8 = H$ (bellidifoline) |
| 2 $R^1 = R^8 = H, R^3 = R^7 = CH_3$ | 9 $R^8 = \beta$ -D-glucosyle |
| 3 $R^1 = R^7 = H, R^3 = R^8 = CH_3$ | 10 mangiférine |
| 4 $R^1 = H, R^3 = R^7 = R^8 = CH_3$ | 11 iso-orientine |
| 5 $R^1 = \beta$ -D-glucosyle, $R^3 = R^7 = R^8 = H$ | 12 isovitexine |
| 6 $R^1 = \text{primevérosyle}, R^3 = R^7 = R^8 = CH_3$ | 13 $R = OH$ (iso-orientine-6''-arabinoside) |
| 7 $R^1 = \text{primevérosyle}, R^3 = R^7 = CH_3, R^8 = H$ | 14 $R = H$ (isovitexine-6''-arabinoside) |

teneur en MeOH est augmentée graduellement. Les différentes fractions obtenues, après passage sur colonne de Sephadex LH20, conduisent aux composés purs, à l'exception de **14** qui n'a pu être séparé d'un O-glucoside de l'isovitexine non identifié, présent en très faible quantité. Ce glucoside a pu être éliminé de **14** par traitement du mélange par la β -D-glucosidase, suivi d'une chromatographie sur colonne de Sephadex LH20. Les racines ont fourni les glycosides **5–7**, les feuilles et les tiges les glycosides **9–14**.

2.2. Détermination des structures. – Composés **1, 3, 4–6, 8–12**. Les structures ont été établies sur la base de l'étude des spectres UV. et IR., du comportement chromatographique, par comparaison directe avec des échantillons authentiques isolés précédemment dans nos laboratoires [9] [10]. Les glycosides **5, 6** et **9** ont été soumis à l'hydrolyse acide. Ils fournissent les aglycones **1, 4** et **8** et les sucres (glucose et xylose), mis en évidence par chromatographie sur couche mince (CCM.) (révélation par le phthalate d'anisidine). La position d'attache des sucres au squelette xanthonique a été vérifiée par méthylation des groupes hydroxyles phénoliques suivie de l'hydrolyse acide [9]. De plus, la structure du composé **9** a été confirmée par l'étude du spectre RMN. du dérivé acétylé. Ce spectre est identique à celui du dihydroxy-1,5-méthoxy-3-xanthone-8-O- β -glucoside acétylé que nous avons décrit récemment dans le cadre d'un travail consacré à *Gentiana campestris* L. [10].

Composés 2 et 7. Les spectres UV. de **2** et de **7**, enregistrés en présence des réactifs usuels, sont caractéristiques d'une xanthone substituée en 1, 3, 7 et 8 et possédant au moins un groupe hydroxyle libre au voisinage du groupe carbonyle (position 1 ou 8). On remarque également l'absence de groupe hydroxyle libre en **3** (aucun déplacement bathochrome après addition de NaOAc) [9]. Le spectre RMN.¹⁾ de **2** acétylé indique la présence de deux groupes acétoxy aromatiques (singulets à 2,34 et 2,46 δ) à proximité immédiate du groupe carbonyle (positions 1 et 8) [11], deux groupes méthoxy à 3,88 et 3,90 δ situés en 3 et 7, ainsi que de quatre protons aromatiques (H-C(5) et H-C(6) à 7,32 δ , H-C(2) et H-C(4) à 6,55 et 6,74 δ spectres AB, $J = 2,5$ Hz). L'ensemble des données spectrales, le comportement chromatographique et le F. correspondent à la dihydroxy-1,8-diméthoxy-3,7-xanthone (swertiapérennine), isolée pour la première fois à partir d'un extrait éthéré de racines de *Swertia perennis* L. [8] et, par la suite, dans d'autres espèces du genre [3].

Quant au composé **7**, son Rf élevé suggère qu'il ne peut s'agir que d'un glycoside. L'hydrolyse acide conduit à **2**, au glucose et au xylose. Dans le spectre RMN. du dérivé acétylé de **7**, on compte quatre protons aromatiques (mêmes déplacements chimiques que dans le spectre de **2** acétylé), six groupes acétoxy aliphatiques entre 1,90 et 2,10 δ , un groupe acétoxy aromatique à 2,53 δ (position 1 ou 8) et 19 protons entre 3,60 et 5,50 δ . Parmi ces derniers, deux singulets à 3,89 et 3,95 δ correspondent à deux méthoxyles aromatiques. Le reste osidique est donc formé de six groupes hydroxyles et de treize protons aliphatiques, ce qui correspond au disaccharide primevérose. La position d'attache de ce sucre ne peut être qu'en 1 ou 8. La méthylation de **7** par un excès de diazométhane, suivie de l'hydrolyse acide, fournit l'hydroxy-1-triméthoxy-3,7,8-xanthone (**4**) (décussatine). Le composé **7** est par conséquent l'hydroxy-8-diméthoxy-3,7-O-primevérosyl-1-xanthone ou primevérosyl-1-swertiapérennine, qui n'avait pas été décrit jusqu'ici.

Composés 13 et 14. Les spectres UV. correspondent à ceux de flavones ayant des hydroxyles libres en 5, 7, 3' et 4' pour **13** et en 5, 7 et 4' pour **14**; ils sont en tous points identiques à ceux respectivement de l'iso-orientine (**11**) et de l'isovitexine (**12**) [12]. Comme la valeur élevée des Rf implique qu'il s'agit de O-glycosides, la position d'attache du sucre ne peut être que sur la partie C-glucosidique de **11** et de **12**. Ces deux derniers composés (avec isomérisation) sont d'ailleurs obtenus lors de l'hydrolyse acide. Dans les deux cas, le sucre libéré est l'arabinose.

Les spectres RMN. des dérivés acétylés de **13** et de **14**²⁾, enregistrés à 270 MHz dans CDCl₃, confirment qu'il s'agit d'arabinosides, respectivement de l'iso-orientine (**11**) et de l'isovitexine (**12**), dont la position d'attache du sucre se trouve sur la partie C-glucosidique de la flavone. En effet, les protons aromatiques de **11** et de **13** d'une part et ceux de **12** et de **14** d'autre part ont respectivement le même déplacement chimique (voir tableau 1). De plus, dans le spectre de **13**, on compte quatre groupes acétoxy aromatiques à 2,49 δ (positions 5 et 7), 2,33 δ (position 3'), 2,35 δ (position 4'), et dans celui de **14** trois groupes acétoxy aromatiques à 2,49 et 2,36 δ

¹⁾ Enregistré à 60 MHz dans CDCl₃ (δ en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS) pris comme référence interne).

²⁾ Le spectre de **14** acétylé est identique à celui d'un isovitexine-X''-arabinoside acétylé (X'' = 3'', 4'' ou 6'') décrit par Tomimori et al. [1] dans un travail consacré aux plantes médicinales du Népal (voir tableau 2).

Tableau 1. *Déplacements chimiques des protons aromatiques*³⁾. Les chiffres entre parenthèses se rapportent aux constantes de couplage *J* (en Hz)

	H—C(3)	H—C(8)	H—C(2')	H—C(6')	H—C(3')	H—C(5')
11	6,60	7,27	7,68(2,5)	7,73(2,5 et 9)	—	7,36(9)
12 ⁴⁾	6,65	7,38	7,90(9)	7,90(9)	7,30(9)	7,30(9)
13	6,60	7,29	7,69(2,5)	7,73(2,5 et 9)	—	7,36(9)
14	6,60	7,27	7,86(9)	7,86(9)	7,25(9)	7,25(9)

 Tableau 2. *Déplacements chimiques des groupes acétyle aliphatiques*³⁾

	Ac—C(2'')	Ac—C(3'')	Ac—C(4'')	Ac—C(6'')
11	1,83	2,06	2,07	2,03
12	1,82	2,07	2,08	2,03
	Ac non attribués			
13	1,82	1,95	1,98	2,15
14	1,82	1,97	1,99	2,14
isovitexine-X''- arabinoside [1]	1,80	1,96	1,99	2,13

correspondant aux positions 5, 7 et 4'. Par ailleurs, la partie glycosidique étant la même dans les deux spectres (voir tableau 2), il s'en suit que la position d'attache de l'arabinoose doit être la même dans **13** et dans **14**. On relève notamment la présence de six groupes acétoxyde, dont celui vers 1,82 δ qui correspond à la position 2'' [13]. De ce fait, cette position d'attache ne peut être qu'en 3'', 4'' ou 6''.

L'étude des spectres RMN. de **13** et de l'iso-orientine (**11**) à 270 MHz dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) confirme que la partie flavonique est la même dans les deux cas. Dans la partie glycosidique du spectre de **13**, on distingue treize protons, dont ceux à 4,57 δ (H—C(1''), *J* = 9,5) et 4,12 δ (H—C(1'''), *J* = 6) précisent que les deux sucres ont la configuration β . Lors de l'analyse comparative des spectres de **11** et de **13**, on observe que les protons H—C(1''), H—C(2''), H—C(3'') et H—C(4'') ne sont pas déplacés; le déplacement pour H—C(6'') est faible (voir tableau 3). Le choix de 6''

 Tableau 3. *Déplacement chimique des protons glucosidiques* (270 MHz dans DMSO en ppm; entre parenthèses les constantes de couplage *J* en Hz)

	H—C(1'')	H—C(2'')	H—C(3'')	H—C(4'')	H—C(6'')
11	4,58(9,7)	4,05(18)	3,19(18)	3,12(18)	3,70 et 3,40
13	4,57(9,7)	4,04(18)	3,20(18)	3,13(18)	3,66 et 3,44

comme position d'attache de l'arabinoose dans **13** est justifié par les spectres ¹³C-RMN. de **11** et de **13** (voir fig. 1 et 2). Les déplacements chimiques des carbones flavoniques sont pratiquement identiques à ceux de la tétrahydroxy-5,7,3',4'-flavone (lutéoline)

³⁾ Spectres enregistrés à 270 MHz dans CDCl₃ (δ en ppm par rapport au TMS pris comme référence interne).

⁴⁾ Valeurs de la littérature [13]. Spectre enregistré à 60 MHz.

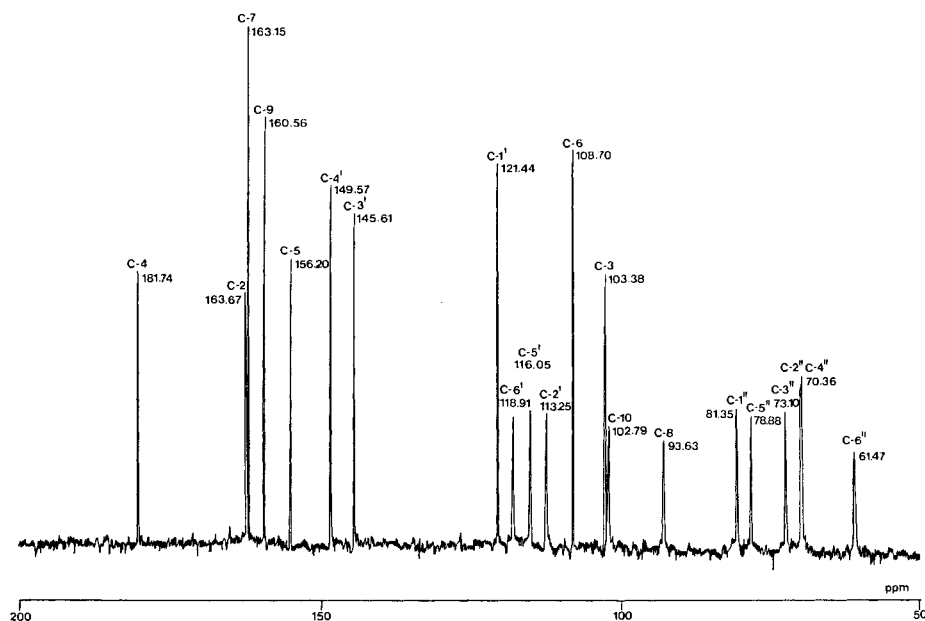


Fig. 1. Spectre ^{13}C -RMN. (22,63 MHz) de l'iso-orientine **11** dans DMSO

[14], à l'exception de celui de C(6) (voir tableau 4) déplacé fortement dans **13** et dans **11** du fait que nous sommes en présence de C(6)-glucosides. Cette partie glucosidique n'a que peu d'influence sur les autres atomes de carbone du cycle A [15].

Tableau 4. Déplacements chimiques des atomes de carbone flavoniques⁵⁾

	C(2)	C(3)	C(4)	C(5)	C(6)	C(7)	C(8)	C(8a) ⁷⁾	C(4a) ⁷⁾
11	163,67	103,30	181,74	156,20	108,70	163,15	93,63	160,56	102,79
13	163,54	103,12	181,67	156,20	108,70	163,54	93,63	160,55	102,66
lutéoline	165,07	103,94	182,63	158,24	99,91 ⁶⁾	164,34	94,9 ⁶⁾	161,56	104,82
	C(1')	C(2')	C(3')	C(4')	C(5')	C(6')			
11	121,44	113,25	145,61	149,57	116,05	118,91			
13	121,18	113,12	145,74	149,89	116,00	118,84			
lutéoline	123,06	114,38	145,95	149,84	117,05	120,14			

La partie C-glucosidique de **11** correspond à celle de divers β -D-O-glucosides [16], à l'exception du C(1''). En effet, alors que dans ces derniers cet atome de carbone donne un signal vers 100 δ , on a un déplacement important de l'ordre de 20 ppm dans le cas des C-glucosides. Ce déplacement correspond au remplacement de la liaison C–O par une liaison C–C. Il apparaît donc que les signaux vers 80 δ (81,3 δ

⁵⁾ Spectres enregistrés à 22,63 MHz dans le DMSO (δ en ppm par rapport au TMS).

⁶⁾ Valeurs indiquées dans [14], corrigées selon les attributions de H. Wagner, V. M. Chari & J. Sonnenbichler, Tetrahedron Letters 1976, 1799.

⁷⁾ C(8a), C(4a) correspondent à C(9), C(10) dans [14] et dans les fig. 1 et 2.

pour **11** et 79,7 δ pour **13**) peuvent être considérés comme caractéristiques des C-glucosides flavoniques. La présence d'un hydroxyle primaire en C(6'') est donnée par un signal à 61,47 δ dans le spectre de **11**. Dans le cas du β -D-glucose [17] et de divers glucosides [16] [18], ce signal apparaît entre 60,8 et 62,0 δ . L'absence d'un tel signal dans le spectre de **13** (voir fig. 2) spécifie donc que l'arabinose, dans cette substance, est attaché au C(6''). Relevons à ce sujet que, dans le cadre d'un travail consacré à différents polymères et oligomères du glucose, *Colson et al.* [19] ont montré que lors d'un enchaînement 1 \rightarrow 6, C(6) est déplacé de 62 δ à environ 67,5 δ . Le signal observé à 67,2 δ dans le spectre de **13** doit donc être attribué à C(6''). On peut encore attribuer les signaux à 64,7 et 78,75 δ respectivement aux carbones C(5'') et C(1'') de l'arabinose [20]. Ces valeurs ainsi que celles des autres signaux non attribués précisent que l'arabinose est sous forme pyranosique [20]. Le composé **13** est donc l'iso-orientine-6''-arabinoside.

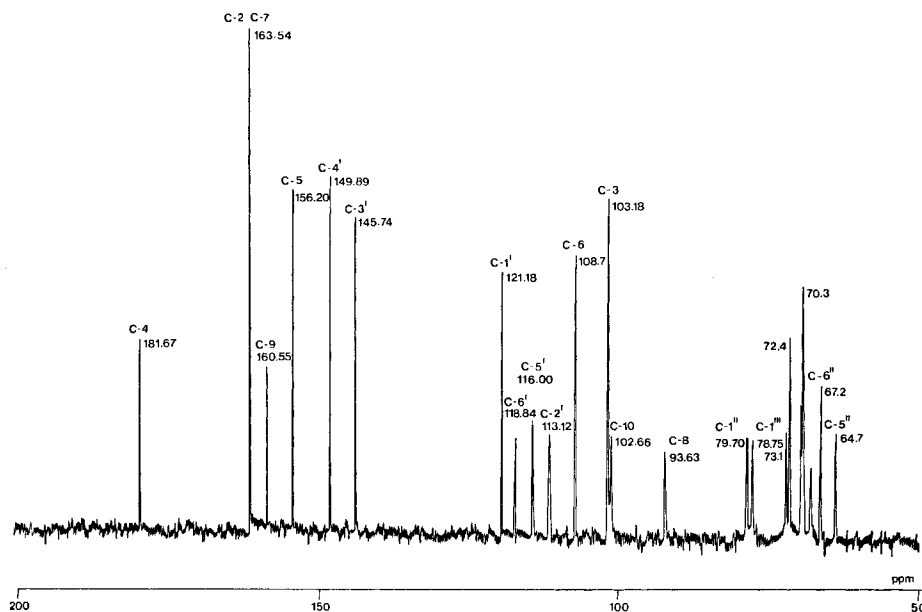


Fig. 2. Spectre ^{13}C -RMN. (22,63 MHz) de l'iso-orientine-6''-arabinoside **13** dans DMSO

Par analogie, en raison de la similitude parfaite de la partie glucosidique des spectres RMN. ^1H (270 MHz) de **13** et de **14**, on peut conclure que **14** est l'isovitexine-6''-arabinoside.

3. Discussion. – La présente étude phytochimique de *Swertia perennis* L. a permis l'identification de dix xanthones (**1**–**10**) dont l'une, l'hydroxy-8-diméthoxy-3,7-O-primevérosyl-1-xanthone (**8**), est un nouveau produit naturel, ainsi que de quatre C-glycosides flavoniques (**11**–**14**). Parmi ces derniers, **13** (iso-orientine-6''-arabinoside) et **14** (isovitexine-6''-arabinoside) sont décrits pour la première fois. La détermination de la position d'attache de l'arabinose sur la partie C-glucosidique de la flavone a été réalisée sans ambiguïté à l'aide de la ^{13}C -RMN. Le composé **14** est identique à un isovitexine-X''-arabinoside isolé d'une espèce asiatique du genre

Swertia [1]. Les arabinosides de C-glucosides flavoniques sont peu répandus dans la nature et aucune détermination de structure complète n'a été décrite jusqu'à présent. Relevons enfin que *Adamska & Lutomski* [21] signalent la présence dans les graines du fenugrec (*Trigonella foenumgraecum*) d'un arabinoside de l'iso-orientine ou de l'orientine.

Les auteurs remercient Monsieur le Prof. *Cl. Favarger* de l'identification du matériel végétal et Monsieur le Prof. *R. Tabacchi* de l'intérêt qu'il a porté à ce travail, ainsi que Mlle *M. Junod* et M. *Cl. Beyeler* de leur 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 *Hoffmann-La Roche & Co S.A.* à Bâle (laboratoire du Prof. *W. Boguth*) pour le relevé des spectres $^1\text{H-RMN}$. 270 MHz et $^{13}\text{C-RMN}$.

Partie expérimentale

Généralités. Le matériel végétal a été récolté dans la région du Gantrisch (canton de Berne).

100 g de racines séchées ont été traités à chaud par l'éther, puis le méthanol. La chromatographie sur colonne de polyamide *Macherey-Nagel* SC₆ de l'extrait étheré (solvant MeOH/H₂O/AcOH 90:5:5) fournit **1–4**, qui sont encore purifiés par recristallisation ou par filtration sur gel de Sephadex LH20 (MeOH). L'extrait méthanolique, chromatographié sur colonne de polyamide (éluant MeOH à 50% dont on augmente graduellement la teneur en MeOH), conduit à **5–7**.

Les tiges et les feuilles séchées (150 g) ont été traitées à chaud, successivement par la ligroïne, l'éther, l'acétate d'éthyle et le méthanol. L'extrait étheré, chromatographié dans les conditions indiquées ci-dessus, permet l'obtention de **1**, **4** et **8**. L'extrait méthanolique chromatographié sur colonne de polyamide (MeOH 50% → MeOH 90%) fournit différentes fractions contenant les glycosides **8–14**.

Les produits purs sont obtenus après chromatographie répétée sur colonne de Sephadex LH20 (solvant MeOH), à l'exception du composé **14**. Ce dernier n'a pas pu être séparé par cette technique d'un O-glucoside de l'isovitexine, présent en très faible quantité. Le mélange de **14** et de ce glucoside a alors été traité par la β -D-glucosidase (*Fluka AG*, Buchs) en milieu tampon acétate selon le procédé classique de l'hydrolyse enzymatique [12]. Le mélange réactionnel, extrait au *n*-butanol et chromatographié sur Sephadex LH20 (solvant MeOH), donne **14** et l'isovitexine **12**.

Les glycosides ont été hydrolysés par chauffage à reflux dans l'acide chlorhydrique à 5%. Les sucres libérés ont été mis en évidence par CCM. sur cellulose F₅₀ *Merck* (pyridine/AcOEt/AcOH/H₂O 5:5:1:3). Les chromatogrammes ont été révélés par le phtalate d'anisidine qui permet de différencier les hexoses (coloration verte) des pentoses (coloration brun). Glucose: Rf = 0,38. Xylose: Rf = 0,50. Arabinose: Rf = 0,43 [22].

L'acétylation a été effectuée à température ambiante par l'anhydride acétique en présence de pyridine [22].

Données analytiques. – Composés **1**, **3–6**, voir [9]. Composé **2**, voir [8]. Composés **8–12**, voir [10].

Composé 7. Quantité isolée: 110 mg. F. 167–168° (déc.), recristallisé dans MeOH. – Rf = 0,75 (polyamide *Macherey-Nagel* DC₁₁, MeOH 90% = solvant A); Rf = 0,39 (cellulose F₅₀ *Merck*, AcOH 10% = solvant B). – UV: λ_{max} = 241, 269, 311, 375 (MeOH); 243, 281, 341, 433 (+ AlCl₃); 237, 272, 310, 380 (+ NaOAc).

Dérivé acétylé: F. 140–141° (déc.), recristallisé dans EtOH.

$\text{C}_{40}\text{H}_{43}\text{O}_{22}$ (874,78) Calc. C 54,87 H 4,91% Tr. C 53,95 H 4,82%

Composé 13. Quantité isolée: 135 mg. F. 205° (déc.), recristallisé dans MeOH. Rf = 0,66 (solvant A), Rf = 0,39 (solvant B).

Dérivé acétylé: F. 148–150° (déc.), recristallisé dans EtOH.

$\text{C}_{46}\text{H}_{48}\text{C}_{25}$ (1000,88) Calc. C 55,18 H 4,83% Tr. C 54,51 H 4,93%

Composé 14. Quantité isolée: 28 mg. F. 213–215° (déc.), recristallisé dans MeOH. Rf = 0,73 (solvant A), Rf = 0,50 (solvant B).

Dérivé acétylé: F. 238–239°, recristallisé dans EtOH.

$\text{C}_{44}\text{H}_{46}\text{O}_{23}$ (942,85) Calc. C 56,05 H 4,92% Tr. C 55,41 H 4,85%

BIBLIOGRAPHIE

- [1] *T. Tomimori, M. Yoshizaki & T. Namba*, *Yakugaku Zasshi* **97**, 442 (1973).
 [2] *T. Tomimori, M. Yoshizaki & T. Namba*, *Yakugaku Zasshi* **94**, 647 (1974).
 [3] *S. Ghosal, P. V. Sharma & R. K. Chaudhuri*, *Phytochemistry* **14**, 1393 (1975).
 [4] *S. Ghosal, P. V. Sharma & R. K. Chaudhuri*, *Phytochemistry* **14**, 2671 (1975).
 [5] *S. Ghosal, P. V. Sharma, R. K. Chaudhuri & S. K. Bhattacharya*, *J. pharm. Sci.* **64**, 80 (1975).
 [6] *S. Ghosal & R. K. Chaudhuri*, *J. pharm. Sci.* **64**, 888 (1975).
 [7] *R. Hegnauer*, *Chemotaxonomic der Pflanzen*, Vol. 4, p. 183, Birkhauser, Basel 1966.
 [8] *P. Rivaille, J. Massicot, M. Guyot & V. Plowier*, *Phytochemistry* **8**, 1533 (1969).
 [9] *K. Hostettmann, R. Tabacchi & A. Jacot-Guillarmod*, *Helv.* **57**, 294 (1974).
 [10] *M. Kaldas, K. Hostettmann & A. Jacot-Guillarmod*, *Helv.* **57**, 2557 (1974).
 [11] *J. Massicot, J. P. Marthe & S. Heitz*, *Bull. Soc. chim. France* **1963**, 2712.
 [12] *T. J. Mabry, K. R. Markham & M. B. Thomas*, *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer, New York 1970.
 [13] *B. Gentili & R. M. Horowitz*, *J. org. Chemistry* **33**, 1571 (1968).
 [14] *B. Ternai & K. R. Markham*, *Tetrahedron* **72**, 565 (1976).
 [15] *J. T. Clerc, E. Pretsch & S. Sternhall*, ¹³C-Kernresonanzspektroskopie, *Methoden der Analyse in der Chemie*, Vol. 16, p. 101, Akadem. Verlagsges., Frankfurt am Main 1973.
 [16] *N. J. Cussans & T. N. Huckerby*, *Tetrahedron* **31**, 2719 (1975).
 [17] *E. Breitmaier*, *Chimia* **28**, 120 (1974).
 [18] *A. G. Gonzalez, C. G. Francisco, R. Freire, R. Hernandez, J. A. Salazar & E. Suarez*, *Phytochemistry* **15**, 344 (1976).
 [19] *P. Colson, H. J. Jennings & I. C. P. Smith*, *J. Amer. chem. Soc.* **96**, 8081 (1974).
 [20] *E. Breitmaier & W. Voelter*, *Tetrahedron* **29**, 227 (1973).
 [21] *M. Adamska & J. Lutomski*, *Planta Med.* **20**, 224 (1971).
 [22] *K. Hostettmann & A. Jacot-Guillarmod*, *Helv.* **58**, 130 (1975).

166. L(+)- and D(-)- γ -Carboxyglutamic acid. Absolute Configuration, Properties and Synthesis by Resolution of DL-N-Benzoyloxycarbonyl- γ -carboxyglutamic acid γ, γ' -di-*t*-butylester

Preliminary communication¹⁾

dedicated to the memory of our late friend, *Beat Iselin*

by **Walter Märki** and **Robert Schwyzer**

Institut für Molekularbiologie und Biophysik
 Eidgenössische Technische Hochschule, CH-8093 Zürich

(9. VI. 76)

The optical properties of natural γ -carboxyglutamic acid have not yet been described. It can be assumed that this amino-tricarboxylic acid belongs to the L-series, because it is produced biosynthetically through carboxylation of protein L-glutamic acid residues [1]. We have recently completed a synthesis of DL- γ -carboxyglutamic acid and of crystalline derivatives that could be useful for preparing pep-

¹⁾ Part of the thesis of *W.M.* We thank the *Schweizerischer Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* for financial aid. A detailed account is in preparation for *Helv. chim. acta*.