

**277. Contribution à la phytochimie du genre *Gentiana*, XVIII¹⁾.
Structure du gentiabavarutinoside, un nouveau glycoside
xanthonique acylé isolé de *Gentiana bavarica* L.**

par **Kurt Hostettmann, André Jacot-Guillarmod**

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

et **Vedantha M. Chari**

Institut für pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München, Karlstrasse 29
D-8000 München 2, BRD

(29. IX. 76)

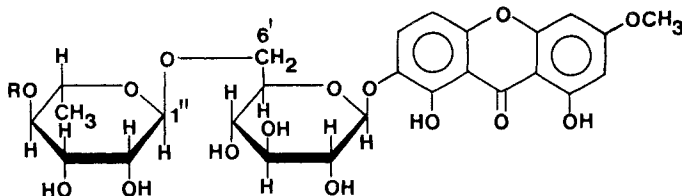
Phytochemistry of genus *Gentiana*, XVIII: Structure of gentiabavarutinoside, a new acylated xanthone glycoside from *Gentiana bavarica* L. – *Summary.* In a previous work [1], we isolated from *Gentiana bavarica* L. an acylated xanthone glycoside (1,8-dihydroxy-3-methoxy-xanthone-7-O-acetylrutinoside **1** or gentiabavarutinoside) without locating the acetyl group. By ¹³C-NMR. spectroscopy, the attach position of the acetyl is now shown to be at 4 of the rhamnose moiety. In addition, a new compound (**2**), the desacetyl derivative of **1**, has also been isolated and identified.

1. Introduction. – Lors d'une étude des constituants polyphénoliques des feuilles de *Gentiana bavarica* L. [1], nous avons isolé et identifié dix xanthones (aglycones et O-glycosides) tétrasubstitués dans les positions 1, 3, 7, 8, dont quatre étaient des nouveaux produits naturels. Parmi ces derniers, le gentiabavarutinoside (**1**) nous paraît plus spécialement digne d'intérêt, non seulement parce qu'il s'agit du premier rhamnoglucoside xanthonique trouvé dans la nature, mais également par la présence inattendue d'un groupe acétyle sur la partie glycosidique. La position d'attache de ce dernier n'avait cependant pas été déterminée, en raison de la faible quantité de substance isolée. Ce complément d'étude de structure, au moyen de ¹³C-RMN., fait l'objet du présent mémoire dans lequel nous décrivons aussi le désacétyl-gentiabavarutinoside (**2**), nouveau produit naturel provenant également de feuilles de *Gentiana bavarica* L.

2. Résultats. – Les tiges et feuilles séchées de *Gentiana bavarica* L. ont été extraites successivement par Et₂O, CHCl₃ et MeOH. La fraction méthanolique chromatographiée sur colonne de polyamide (au départ MeOH 50% avec augmentation progressive de la teneur en MeOH) fournit **1**, un mélange de **1** et **2**, ainsi que les glycosides décrits précédemment [1]. Les composés **1** et **2** sont séparés par chromatographie préparative sur plaques de silicagel avec le solvant AcOEt/MeOH/H₂O 21:4:3; ils sont finalement purifiés sur colonne de Sephadex LH20 (MeOH) et recristallisés.

L'hydrolyse acide conduit, pour les deux substances, au glucose, au rhamnose et à la trihydroxy-1,7,8-méthoxy-3-xanthone (**3**) (swertianine).

¹⁾ Partie XVII, voir Phytochemistry, en impression.



- 1 R = Ac, gentiabavarutinoside
- 2 R = H, désacétylgentiabavarutinoside
- 3 trihydroxy-1,7,8-méthoxy-3-xanthone (swertianine)

Les spectres UV. de **1** et **2**, ainsi que les spectres RMN. de leurs dérivés acétylés sont identiques. La bande importante vers 1720 cm^{-1} (ester) dans le spectre IR. de **1** est absente dans celui de **2**. Ces observations permettent déjà de conclure que **2** ne peut être que le désacétyl-gentiabavarutinoside. Une confirmation est encore apportée par la comparaison des spectres RMN.²⁾ de **1** et de **2**. La partie aromatique dans les deux spectres est identique: a) quatre protons formant des spectres *AB* à $6,41$ et $6,60\ \delta$ ($J = 2,2\ \text{Hz}$, positions 2 et 4) et à $6,98$ et $7,59\ \delta$ ($J = 9,8\ \text{Hz}$, positions 5 et 6); b) un groupe méthoxyle (singulet à $3,89\ \delta$); c) deux protons d'hydroxyle fortement déblindés par la proximité immédiate de la fonction carbonyle (positions 1 et 8) à $11,77$ et $11,88\ \delta$.

Dans la partie glycosidique de **2** apparaissent 18 protons entre $3,5$ et $5,4\ \delta$. Parmi eux se trouve vers $4,74\ \delta$ le proton anomérique du glucose ($J = 8\ \text{Hz}$) indiquant une conformation β . Dans la même région du spectre de **1**, on ne compte que 17 protons. Le singulet observé à $2,01\ \delta$ ne peut être attribué qu'au groupe acétoxyale aliphatique. Le groupe méthyle du rhamnose se trouve dans les 2 spectres vers $0,96\ \delta$ (d , $J = 6\ \text{Hz}$).

La comparaison des spectres ^1H -RMN. de **1** et de **2** ne permet cependant pas la détermination de la position d'attache du groupe acétyle sur la partie glycosidique de **1**. Cette position a pu être établie sans ambiguïté par comparaison des spectres ^{13}C -RMN.³⁾ de **1** et de son dérivé désacétylé **2** (voir tableau 1). L'attribution des signaux des atomes de carbone de la partie glycosidique de **2** est fondée sur les données de la littérature [2] pour les atomes de carbone du méthyl- β -D-glucopyranoside et du α -L-rhamnose. Les valeurs que nous avons obtenues confirment que les entités monosaccharidiques présentent des conformations pyranosiques. L'absence d'un signal entre $60,8$ et $62,0\ \delta$ (atome de carbone porteur d'un groupe hydroxyle primaire) dans les deux spectres spécifie que le rhamnose est attaché au C(6') du glucose. Plusieurs auteurs [3] ont en effet montré que lors d'un enchaînement $1 \rightarrow 6$, le signal de C(6) est déplacé de $62\ \delta$ à environ $67\ \delta$. Le signal observé à $66,8\ \delta$ doit donc être attribué à C(6'). Les autres atomes de carbone ne sont pas affectés par la glycosylation [4]. On observe une faible différence entre les déplacements chimiques pour les atomes de carbone du rutinoside dans **1** et **2**, par rapport à ceux de la littérature pour les atomes de carbone correspondants du glucose et du rhamnose [2]. Cette différence est probablement due à des effets de solvants; les spectres de nos glycosides ont été

²⁾ Enregistrés à 270 MHz dans DMSO- d_6 .

³⁾ Enregistrés à 22,63 MHz dans DMSO- d_6 .

Tableau 1. *Spectre ^{13}C -RMN. Déplacements chimiques^{a)} des atomes de carbone glycosidiques*

Carbone	Composé 1		Composé 2
C(6'') Rhamnose	17,8		17,4
C(6') Glucose	66,8		66,7
C(5'') Rhamnose	68,4	– 2,4 ppm →	66,0
C(4') Glucose	70,1		70,0
C(3'') Rhamnose	70,5	– 2,1 ppm ●	68,4
C(2'') Rhamnose	70,8		70,5
C(4'') Rhamnose	72,1	+ 1,9 ppm →	74,0
C(2') Glucose	73,4		73,4
C(3') Glucose	75,6 ^{b)}		75,5 ^{b)}
C(5') Glucose	76,8 ^{b)}		76,8 ^{b)}
C(1'') Rhamnose	100,7		100,5
C(1') Glucose	101,4		101,4

a) δ en ppm par rapport au TMS.

b) Les valeurs de C(3') et C(5') sont éventuellement à interchanger.

enregistrés dans le DMSO- d_6 , alors que ceux des sucres mentionnés ci-dessus l'étaient dans H_2O . Relevons d'ailleurs que de tels effets de solvants ont déjà été signalés [5] [6].

Les déplacements chimiques et l'attribution des atomes de carbone de la partie glycosidique du rutinoside **2** correspondent à deux de l'acétine-7-O- β -rutinoside et de l'hespéridine [6]. La comparaison des spectres de **1** et de **2** montre que seuls les signaux des atomes de carbone C(3''), C(4'') et C(5'') du rhamnose sont déplacés d'une manière appréciable (voir tableau 1). Le signal du C(4'') a été déplacé de 1,9 ppm vers un champ plus bas, tandis que les deux autres atomes de carbone sont déplacés de 2,1 et 2,4 ppm respectivement vers un champ plus élevé. De ce fait, nous pouvons localiser la position d'attache du groupe acétyle sur le carbone C(4'') du rhamnose. En effet, l'acylation d'un groupe hydroxyle de sucre déplace le signal de l'atome de

Tableau 2. *Spectres ^{13}C -RMN. Déplacements chimiques des atomes de carbone xanthoniques*

Carbone	Composé 1	Composé 2	Composé 3
C(1)	157,3	157,3	157,4
C(2)	97,2	97,1	97,1
C(3)	167,1	167,1	167,1
C(4)	92,8	92,7	92,7
C(4a)	161,9	161,9	162,0
C(4b)	157,5	157,4	157,5
C(5)	139,9	139,9	140,6
C(6)	125,6	125,6	124,2
C(7) ^{a)}	149,7	149,6	147,1
C(8) ^{a)}	150,1	150,1	148,0
C(8a) ^{a)}	105,8	105,8	105,9
C(8b) ^{a)}	107,3	107,3	107,3
>C=O	183,9	183,9	184,3

a) Les valeurs de C(7) et C(8) resp. de C(8a) et C(8b) sont éventuellement à interchanger.

carbone porteur du groupe hydroxyle d'environ +2,0 ppm et les deux signaux des atomes de carbone contigus d'environ –2.0 ppm [7]. Nous devons noter également un déplacement de –0.4 ppm du carbone C(6'') dans **1** par rapport à son homologue dans **2** qui montre bien qu'il y a un changement dans la vicinity du groupe méthyle du rhamnose.

Les signaux des atomes de carbone du groupe acétyle de **1** apparaissent à 169,9 δ (–OCOCH₃) et à 20,8 δ (–COCH₃).

L'attribution des atomes de carbone de la partie xanthonique est indiquée dans le tableau 2. Elle a été établie par analogie avec des flavonoïdes, en particulier avec la genkwanine ou dihydroxy-4',5-méthoxy-7-flavone [8]. Les spectres de **1** et de **2** pour cette partie sont identiques. Leur comparaison avec le spectre de l'aglycone (**3**) montre que l'atome de carbone porteur du sucre est déplacé ainsi que ses voisins C(6) et C(8).

Les auteurs remercient M. les Prof. H. Wagner (Münich) et R. Tabacchi de l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail, ainsi que M. le Prof. Cl. Favarger de l'identification du matériel végétal. 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 & Cie SA* à Bâle pour le relevé des spectres ¹H-RMN. 270 MHz et ¹³C-RMN.

Partie expérimentale

Le matériel végétal est de provenances suisses diverses: Col du Simplon, Valais, Col du Grand St. Bernard, Valais et Jochpass, Obwalden.

200 g de feuilles et de tiges séchées ont été extraits à chaud successivement par l'éther, le chloroforme et le méthanol. L'extrait méthanolique chromatographié sur colonne de polyamide *Macherey-Nagel* SC₈ avec comme éluant MeOH 50% dont la teneur en MeOH est graduellement augmentée, fournit **1**, un mélange de **1** et de **2**, ainsi que les glycosides décrits précédemment [1]. Le composé **2** est séparé de **1** par chromatographie préparative sur plaque de silicalgel 60 *Merck* avec le solvant AcOEt/MeOH/H₂O 21:4:3 (solvant a). L'éluion de la plaque est effectuée avec le MeOH. Avant la recrystallisation **1** et **2** ont encore été purifiés par chromatographie sur colonne de Sephadex LH20 (solvant MeOH).

Pour les techniques analytiques, voir [1].

Composé 1. Quantité isolée 255 mg. F. = 222°, recrystallisé dans le MeOH. Rf = 0,57 (solvant a), Rf = 0,67 (polyamide *Macherey-Nagel* DC₁₁, MeOH/H₂O/AcOH 90:5:5 (solvant b)). – UV.: (MeOH) 237, 263, 330, 378, + AlCl₃ 278, 339, 360, 408, + NaOAc 264 sh, 275 sh, 330, 400 + NaOMe 242, 275, 330, 400. – IR.: 1720 cm⁻¹ (ester). – RMN. du dérivé acétylé, voir [1].

Composé 2. Quantité isolée 120 mg. F. = 228°, recrystallisé dans le MeOH. Rf = 0,42 (solvant a), Rf = 0,65 (solvant b).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] K. Hostettmann, R. Tabacchi & A. Jacot-Guillarmod, *Helv.* **57**, 294 (1974).
- [2] J. B. Stothers, *Carbon-13 NMR. Spectroscopy*, Academic Press, New York and London 1972.
- [3] P. Colson, H. J. Jennings & I. C. P. Smith, *J. Amer. chem. Soc.* **96**, 8081 (1974); K. Hostettmann & A. Jacot-Guillarmod, *Helv.* **59**, 1584 (1976).
- [4] P. Colson & R. R. King, *Carbohydr. Res.* **47**, 1 (1976).
- [5] N. J. Cussans & T. N. Huckerby, *Tetrahedron* **31**, 2719 (1975).
- [6] H. Wagner & V. M. Chari, publication en préparation.
- [7] D. R. Bundle, H. J. Jennings & I. C. P. Smith, *Canad. J. Chemistry* **51**, 3812 (1973); M. R. Vignon & Ph. J. A. Vottero, *Tetrahedron Letters* **1976**, 2445.
- [8] B. Ternai & K. R. Markham, *Tetrahedron* **72**, 565 (1976); H. Wagner, M. V. Chari & J. Sonnenbichler, *Tetrahedron Letters* **1976**, 1799.