

**129. Contribution à la phytochimie du genre *Gentiana*, XX¹⁾.
Identification de nouveaux di-*O*-glucosides de *C*-glucosylflavones
dans *Gentiana asclepiadea* L.**

par Michel Goetz et André Jacot-Guillarmod

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

(27. IV. 77)

**Phytochemistry of genus *Gentiana*, XX. Identification of new di-*O*-glucosides of
C-glucosylflavones in *Gentiana asclepiadea* L.**

Summary

Two new *O*-glucosides of *C*-glucoside flavonic compounds [isorientin-2'',4'-di-*O*- β -D-glucoside (**1**) and isovitexin-2''-4'-*O*- β -D-glucoside (**2**)] have been isolated from leaves of *Gentiana asclepiadea* L. This is the first case of di-*O*-glucosides of *C*-glucoside flavones occurring in nature.

1. Introduction. – Dans une précédente communication [1], nous avons signalé la présence, dans les feuilles de *Gentiana asclepiadea* L., de mangiférine et de six *C*-glucosides flavoniques dont le 2''-*O*-glucoside de l'isovitexine (**3**) décrit pour la première fois.

Une étude plus approfondie de cette plante nous a permis d'isoler deux nouveaux di-*O*-glucosides de *C*-glucosylflavones (**1** et **2**) dont nous décrivons la détermination de structure. Ces substances sont les premiers di-*O*-glucosides de *C*-glucosides flavoniques rencontrés dans la nature.

2. Résultats. – 2.1. *Isolement des composés.* L'extraction a été réalisée comme décrit précédemment [1]. Les deux flavones **1** et **2** ont été obtenues à partir de l'extrait méthanolique fractionné sur colonne de polyamide (éluant MeOH/H₂O 50:50 avec augmentation progressive de la teneur en MeOH). En raison de leurs comportements chromatographiques très voisins, leur séparation et purification ont nécessité plusieurs passages sur colonne de cellulose microcristalline avec successivement comme éluants: *n*-BuOH/AcOH/H₂O 4:1:5 puis AcOH 4% et CHCl₃/AcOH/H₂O 20:15:3. Finalement **1** et **2** sont encore chromatographiés sur Sephadex LH20 (MeOH).

2.2. *Déterminations des structures.* – *Composé 1.* Les spectres UV., en présence des réactifs usuels, sont semblables à ceux de **4**, isolé précédemment dans *Gentiana asclepiadea* [1], ils sont caractéristiques d'une flavone dont les groupes hydroxyle 5 et

¹⁾ Partie XIX, v. Helv. 59, 2596 (1976).

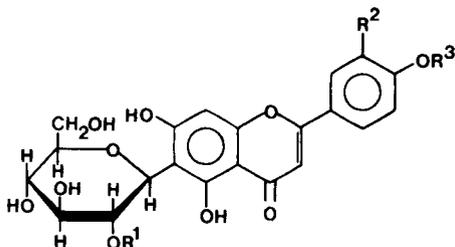
7 sont libres. La valeur R_f très élevée sur polyamide suggère qu'il s'agit d'un glycoside de **4**. Cette hypothèse est vérifiée par l'hydrolyse acide ménagée (HCl 2 N, 20 minutes) qui conduit parallèlement à **4** et **5** et à du glucose. L'hydrolyse acide complète fournit l'isoorientine **6** (avec isomérisation en orientine). L'hydrolyse enzymatique (β -D-glucosidase) se manifeste d'abord par la perte du glucose en 4', fournissant **5** avant de donner **6**. La méthylation de **1**, suivie de l'hydrolyse acide confirme la position d'attache d'un glucose en 4' (comparaison avec un échantillon authentique de triméthyl-3', 5, 7-isoorientine).

Dans le spectre RMN. de **1** acétylé²⁾ on note: a) trois groupes acétoxy aromatiques à 2,31 (position 3'), à 2,39 (position 7) et à 2,46 (position 5); b) cinq protons aromatiques, dont un à 6,57 (H-C(3)), un à 7,14 (H-C(5'), $J=8,5$ Hz), un à 7,36 (H-C(8)), un à 7,58 (H-C(2'), $J=2,5$ Hz) et un à 7,69 (H-C(6'), $J=2,5$ et 8.5 Hz); c) onze groupes acétoxy aliphatiques (singulets entre 1,90 et 2,12); d) vingt et un protons aliphatiques (multiplet complexe entre 3,35 et 5,39) dont H-C(1'') à 3,98, $J=10$ Hz, H-C(1'') à 4,84, $J=10$ Hz et H-C(1'') à 4,21, $J=10$ Hz, indiquant que le C-glucose et les deux O-glucoses sont tous dans la configuration β .

Il faut remarquer l'absence du signal acétoxy en 2'' caractéristique des 6-C-glucosides flavoniques acétylés (région 1,70–1,83) confirmant la structure de **1**: isoorientine-4', 2''-di-O- β -D-glucoside.

Composé 2. – Les spectres UV., avant et après l'addition des réactifs usuels, indiquent la présence de groupes hydroxyle libres en 5 et en 7; ils sont très semblables à ceux de **7**, isolé précédemment [1]. L'hydrolyse acide fournit tout d'abord **7** et **3** puis l'isovitexine **8** (avec isomérisation en vitexine). L'action de la β -D-glucosidase donne d'abord **3** puis **8**. La méthylation, suivie de l'hydrolyse acide confirme l'attache d'un glucose en 4' (comparaison avec un échantillon authentique de diméthyl-5, 7-isovitexine).

Enfin le relevé du spectre RMN. du dérivé acétylé indique: a) deux groupes acétoxy aromatiques à 2,40 (position 7) et à 2,46 (position 5); b) six protons aromatiques dont un à 6,52 (H-C(3)), deux à 7,11 (H-C(3') et H-C(5'), $J=8,5$ Hz), un à 7,37 (H-C(8)) et deux à 7,82 (H-C(2') et H-C(6'), $J=8,5$ Hz); c) onze groupes acétoxy



1 $R^1 = R^3 = \beta$ -D-glucosyl; $R^2 = OH$

2 $R^1 = R^3 = \beta$ -D-glucosyl; $R^2 = H$

3 $R^1 = \beta$ -D-glucosyl; $R^2 = R^3 = H$

4 $R^1 = H$; $R^2 = OH$; $R^3 = \beta$ -D-glucosyl

5 $R^1 = \beta$ -D-glucosyl; $R^2 = OH$; $R^3 = H$

6 $R^1 = R^3 = H$; $R^2 = OH$

7 $R^1 = R^2 = H$; $R^3 = \beta$ -D-glucosyl

8 $R^1 = R^2 = R^3 = H$

²⁾ Enregistré à 270 MHz dans $CDCl_3$ (δ en ppm par rapport au TMS pris comme référence interne).

aliphatiques (singulets entre 1,90 et 2,13); d) vingt et un protons aliphatiques (multiplet complexe entre 3,35 et 5,36) dont H-C(1'') à 3,92, $J=10$ Hz, H-C(1''') à 4,20, $J=10$ Hz et H-C(1'') à 4,80, $J=10$ Hz, indiquant la configuration β .

Il faut en plus noter l'absence du signal acétoxyde en 2'' (région 1,70–1,83), ce qui confirme la structure de **2**: isovitexine-4',2''-di-*O*- β -D-glucoside.

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

Composé	Dans solvant pur	Dans solvant additionné de			
		AlCl ₃	AlCl ₃ /HCl	NaOMe	NaOAc
1	333, 274	345, 281	344, 283	380, 278(sh)	380
				270	315(sh) 279
2	324, 274	376, 340	376, 336	372, 281	370, 281
		300, 283	296(sh), 283		

Les auteurs remercient M. le Prof. *Cl. Favarger* de l'identification du matériel végétal, M. le Prof. *R. Tabacchi* et M. *K. Hostettmann* de l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail, ainsi que Melle *M. Perrenoud* de son aide technique. Ils expriment leur gratitude à la Maison *F. Hoffmann-La Roche & Co.* à Bâle (laboratoire du Prof. *W. Boguth*) pour le relevé des spectres RMN. 270 MHz.

Partie expérimentale

Généralités. Voir [2]. Analyses par CCM.: système a: polyamide *Merck DC11*, MeOH/H₂O 8:2; système b: cellulose *F₅₀ Merck*, AcOH 4%; système c: cellulose *F₅₀ Merck*, CHCl₃/AcOH/H₂O 20:15:3. 350 g de feuilles ont fourni 12 mg de **1** et 10 mg de **2**.

Composé 1. F. 211–213° (déc.); $R_f=0,82$ (système a); $R_f=0,78$ (système b); $R_f=0,18$ (système c). Dérivé acétyle: F. 163–165°; recristallisé dans EtOH.

C₆₁H₆₈O₃₅ (1361,17) Calc. C 53,83 H 5,04% Tr. C 52,97 H 4,94%

Composé 2. F. 206–208°; $R_f=0,85$ (système a); $R_f=0,80$ (système b); $R_f=0,13$ (système c). Dérivé acétyle: F. 156–158°; recristallisé dans EtOH.

C₅₉H₆₈O₃₃ (1303,15) Calc. C 54,38 H 5,10% Tr. C 53,88 H 4,97%

Composés 3–8. Comparaison avec des échantillons authentiques précédemment identifiés dans nos laboratoires.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] *M. Goetz, K. Hostettmann & A. Jacot-Guillarmod*, *Phytochemistry* 15, 2014 (1976).
 [2] *K. Hostettmann, G. Bellmann, R. Tabacchi & A. Jacot-Guillarmod*, *Helv.* 56, 3050 (1973).