

154. Etude des composés flavoniques et xanthoniques dans les feuilles de *Gentiana ciliata* L.

par Michel Goetz¹⁾, Faustin Maniliho et André Jacot-Guillarmod

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

(4.IV.78)

Study of the flavonic and xanthonic compounds in the leaves of *Gentiana ciliata* L.

Summary

Fifteen 1,3,7,8-oxygenated xanthenes (1-15) were isolated from the leaves of *Gentiana ciliata* L. (genus *Gentianopsis*). Among these were six new glycosides: glucosyl-1-decussatin 6, glucosyl-1-gentiacaulein (8), primeverosyl-8-isogentiacaulein (9), glucosyl-3-isogentiacaulein (10), glucosyl-1-swertianin (12) and primeverosyl-7-swertianin (13). Three known flavone C-glycosides were also found (16-18).

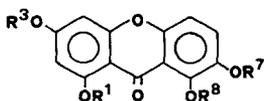
1. Introduction. - *Gentiana ciliata* L., longtemps classée dans le sous-genre *Gentianella* (KUSN.), a été incorporée depuis 1951, dans le genre *Gentianopsis* [1]. Il nous a paru intéressant de déterminer le contenu en polyphénols de cette espèce afin de justifier d'une part la séparation d'avec le genre *Gentiana* et d'autre part son éloignement de *Gentianella*.

Quelques travaux phytochimiques antérieurs ont permis de mettre en évidence la gentiopicrine (Korte [2]), des triterpènes et des xanthenes 1,3,7,8-tétra-oxygénés (Carbonnier et al. [3]). Les fleurs ont fait l'objet d'une récente étude de Massias et al. [4], lesquels ont identifié plusieurs xanthenes tri- et tétra-oxygénés.

Le présent travail a trait à la détermination des structures de quinze xanthenes (1-15) dont six (6, 8, 9, 10, 12 et 13) sont décrites pour la première fois, et de trois C-glycosides flavoniques (16-18).

2. Résultats. - 2.1. *Isolement des composés.* Les feuilles séchées sont extraites selon les techniques mises au point précédemment [5] dans nos laboratoires. Les extraits apolaires (ligroïne et éther) sont chromatographiés sur colonne de polyamide (solvant MeOH/AcOH/H₂O 90:5:5) et fournissent les aglycones 1-4 après purification sur colonne de cellulose microcristalline (AcOH 20%) et de Sephadex LH 20 (MeOH).

¹⁾ Adresse actuelle: Department of Chemistry, Cornell University, Ithaca N.Y. 14853 U.S.A.

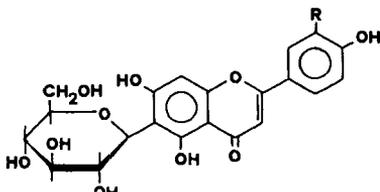


1	$R^1 = H; R^3 = R^7 = R^8 = CH_3$	décussatine
2	$R^1 = R^7 = H; R^3 = R^8 = CH_3$	gentiacauléine
3	$R^1 = R^7 = CH_3; R^3 = R^8 = H$	isogentiacauléine
4	$R^1 = R^7 = R^8 = H; R^3 = CH_3$	swertianine
5	$R^1 = \text{primev.}; R^3 = R^7 = R^8 = CH_3$	
6	$R^1 = \text{gluc.}; R^3 = R^7 = R^8 = CH_3$	
7	$R^1 = \text{primev.}; R^3 = R^8 = CH_3; R^7 = H$	gentiabavaroside
8	$R^1 = \text{gluc.}; R^3 = R^8 = CH_3; R^7 = H$	
9	$R^1 = R^7 = CH_3; R^3 = H; R^8 = \text{primev.}$	
10	$R^1 = R^7 = CH_3; R^3 = \text{gluc.}; R^8 = H$	
11	$R^1 = \text{primev.}; R^3 = CH_3; R^7 = R^8 = H$	isogentiakochianoside
12	$R^1 = \text{gluc.}; R^3 = CH_3; R^7 = R^8 = H$	
13	$R^1 = R^8 = H; R^3 = CH_3; R^7 = \text{primev.}$	
14	$R^1 = R^7 = H; R^3 = CH_3; R^8 = \text{primev.}$	gentiakochianoside
15	$R^1 = R^7 = H; R^3 = CH_3; R^8 = \text{gluc.}$	
19	$R^1 = R^3 = R^7 = CH_3; R^8 = H$	isodécussatine
20	$R^1 = R^3 = R^7 = R^8 = CH_3$	

Les glycosides **5** à **18** sont isolés après fractionnement de l'extrait méthanolique sur colonne de polyamide (MeOH 40–90%), suivi de chromatographie sur cellulose, solvant: AcOH 15% (dans le cas des composés **17** et **18**), n-BuOH/AcOH/H₂O 4:1:5 (pour **5–7**), n-BuOH/AcOH/H₂O 10:4:6 (pour **8, 9** et **11**) et CHCl₃/AcOH/H₂O 10:8:1,5 (pour **12** à **16**). Le composé **10** est obtenu par chromatographie sur couches minces à l'échelle préparative (gel de silice 60 F 254, AcOEt/MeOH/H₂O 21:4:3). Chaque produit est encore purifié par filtration sur gel de Sephadex LH 20 (élution au MeOH ou MeOH 80%) suivie d'une recristallisation dans le méthanol.

2.2. Détermination des structures. - Composés **1–5, 7, 11** et **14–18**. L'identification a été faite dans chaque cas par comparaison avec des échantillons authentiques et des données de la littérature (comportement chromatographique dans plusieurs systèmes, spectres UV. avant et après addition des réactifs usuels [6], F. et spectres IR.).

Composé **6**. L'examen des spectres UV., caractéristiques d'une xanthone oxygénée en 1,3,7,8, permet de conclure à l'absence de groupe hydroxyle libre. L'hydrolyse acide conduit au glucose et à la décussatine **1**. Ce même aglycone est obtenu par le traitement de **6** avec la β -glucosidase (*Sigma Corp.* St. Louis, USA). Le spectre RMN. du dérivé acétylé indique la présence de quatre groupes acétoxyde aliphatiques entre 2,03 et 2,12 δ et de seize protons entre 3,84 et 5,52 δ ;



16	$R = OCH_3$	isoscoparine
17	$R = H$	isovitexine
18	$R = OH$	iso-orientine

parmi ceux-ci, trois singulets à 3,89, 3,91 et 3,96 δ peuvent être attribués à trois groupes méthoxyle aromatiques. **6** est donc le glucoside en 1 de la décussatine; il s'agit d'un nouveau composé naturel. Le seul autre glycoside connu de la décussatine est le primevéroside en 1 (**5**), trouvé dans plusieurs espèces des *Gentianacées*.

Composé 8. Comme l'addition de AlCl_3 ne modifie par l'allure du spectre UV., un groupe hydroxyle en 1 ou en 8 est exclu. En revanche, la présence d'un groupe hydroxyle libre en 7 est probable: pas de modification du spectre par addition de NaOAc, mais déplacement bathochrome sous l'effet de NaOMe. L'hydrolyse acide conduit au glucose et à la gentiacauléine **2** (aussi obtenu par traitement de **8** par la β -glucosidase). La méthylation (CH_2N_2) de **8**, suivie de l'hydrolyse acide, fournit la décussatine. Le spectre RMN. du dérivé acétylé de **8** confirme la présence du glucose et indique que ce dernier ne peut être fixé qu'en 1, la position 7 étant occupée par un groupe acétoxy (singulet à 2,34 δ) [7]. Le composé **8** est par conséquent la glucosyl-1-gentiacauléine. La substance isolée est nouvelle et constitue le premier exemple d'un glucoside de la gentiacauléine.

Composé 9. L'hydrolyse acide conduit au glucose, au xylose et à l'isogentiacauléine **3**. Comme le spectre UV. de **9** ne subit aucune modification par addition de AlCl_3 , le sucre ne peut être fixé qu'en position 8. La vérification est apportée par la méthylation de **9** suivie de l'hydrolyse acide qui fournit l'isodécussatine **19** (comparaison avec un échantillon témoin). La quantité de substance isolée n'a pas permis d'en enregistrer le spectre RMN. Nous pouvons néanmoins préciser que **9** est la primevérosyl-8-isogentiacauléine. Mentionnons que son isomère, le primevéroside en 3, est déjà connu.

Composé 10. Le spectre UV. est caractéristique d'une xanthone substituée en 1,3,7,8. L'addition de AlCl_3 provoque un important déplacement bathochrome de toutes les bandes: présence d'un groupe hydroxyle libre en 1 ou en 8. Il n'y a aucun déplacement sous l'effet de NaOAc. L'hydrolyse acide conduit au glucose et à l'isogentiacauléine. Ce même aglycone est obtenu après traitement de **10** avec la β -glucosidase. Le sucre ne peut être fixé qu'en position 3; la vérification est apportée par la méthylation de **10** suivie de l'hydrolyse acide. Ces opérations conduisent à un composé qui contient un seul hydroxyle libre, en 3. Le peu de substance isolée ne nous a pas permis d'en effectuer le spectre RMN. Cependant, comme les valeurs R_f de **10** dans plusieurs systèmes de solvants indiquent qu'il s'agit sans doute d'un monosaccharide, nous pouvons préciser que **10** est le glucoside en 3 de l'isogentiacauléine. C'est une substance nouvelle.

Composé 12. L'hydrolyse acide conduit au glucose et à la swertianine **4**. L'action de la β -glucosidase fournit le même aglycone. L'examen des spectres UV. de **12** indique la présence d'un groupe hydroxyle libre en 1 ou en 8. Comme la méthylation suivie de l'hydrolyse acide conduit à la décussatine, le glucose ne peut être fixé qu'en position 1. La vérification est apportée par l'étude du spectre RMN. du dérivé acétylé de **12**. On y relève notamment dix protons entre 3,85 et 5,55 δ , parmi lesquels un singulet aromatique, deux groupes acétoxy aromatiques à 2,32 et 2,50 δ , dont un seul peut se trouver à proximité immédiate de la fonction

carbonyle, et quatre groupes acétoxyde aliphatiques. **12** est par conséquent le glucoside en 1 de la swertianine dont l'isomère **15** est le seul autre glucoside connu de cet aglycone.

Composé 13. Le spectre RMN. de ce composé n'a pas pu être enregistré en raison de la faible quantité de substance isolée. Nous pouvons cependant préciser qu'il s'agit sans doute du primevéroside en 7 de la swertianine. En effet, les spectres UV. de **13** sont très ressemblants à ceux du désacétylgentiabavaroïde [8]; par hydrolyse acide, on obtient la swertianine, du glucose et du xylose; le sucre, certainement le disaccharide primevérose, est fixé en position 7 puisque la méthylation de **13** suivie de l'hydrolyse acide conduit à un composé ne contenant aucun hydroxyle libre au voisinage de la fonction carbonyle. **13** serait donc le troisième primevéroside de la swertianine à être décrit, les deux autres (**11** et **14**) se trouvant du reste aussi dans *Gentiana ciliata* L.

3. Discussion. - Parmi les composés isolés, six n'ont jamais été décrits jusqu'à présent. Ces substances portent à dix-neuf le nombre de glycosides de xanthones 1,3,7,8-tétra-oxygénés connus. Nos résultats ne concordent pas entièrement avec ceux de *Carbonnier et al.* [3]. En effet, seuls **1**, **2**, **3**, **5** et **14** sont signalés par ces auteurs; les treize autres composés ne sont pas mentionnés. De plus, nous ne trouvons pas deux des glycosides cités par *Carbonnier* mais leurs isomères: primevérosyl-1-gentiacauléine et primevérosyl-8-isogentiacauléine.

Il est intéressant de relever le fait que toutes les xanthones de *Gentiana ciliata* L. sont substituées dans les positions 1,3,7,8. Elles conduisent par la méthylation totale (précédée d'une hydrolyse acide pour **5-15**) à la tétraméthoxy-1,3,7,8-xanthone (**20**). Les xanthones avec ce schéma de substitution n'ont été identifiées que dans la famille des *Gentianaceae*. L'élévation de *Gentianopsis* au niveau de genre distinct de *Gentianella* nous paraît par conséquent validée. En effet, les xanthones substituées en 1,3,5,8 et 1,3,4,5,8, qui semblent caractéristiques du genre *Gentianella*, sont absentes dans *Gentiana ciliata* L. De plus, les espèces de *Gentianella* semblent ne présenter que des glucosides de xanthones, alors que *Gentiana ciliata* L. contient à la fois des glucosides et des primevérosides.

Gentiana ciliata L. se situant dans un genre distinct du genre *Gentiana*, nous nous attendions donc à y trouver de nombreuses caractéristiques permettant de justifier cette séparation. Or nos résultats tendent au contraire à prouver que *Gentiana ciliata* L. ne se différencie que peu de certaines espèces du genre *Gentiana*; la morphologie de *Gentiana ciliata* L. l'éloigne pourtant nettement des *Gentiana*.

Les auteurs remercient vivement Monsieur le Prof. *Cl. Favarger* de l'identification du matériel végétal et de ses nombreux conseils dans le domaine botanique, Monsieur le Prof. *R. Tabacchi* de son intérêt pour ce travail et Monsieur *J.L. Boss* de son aide technique. Ils expriment leur gratitude à la maison *Hoffmann-La Roche et Co.* à Bâle (laboratoire du Prof. *W. Boguth*) pour le relevé des spectres RMN.

Partie expérimentale

Généralités. Voir [9].

Isolement et techniques analytiques. Le matériel végétal a été récolté dans le canton de Vaud (région des Rasses). 200 g de poudre de feuilles séchées ont été employés.

Tableau 1. *Specires UV*. (λ_{\max} en nm, solvant = MeOH, e = épaulement)

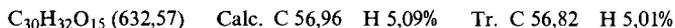
Composé	Solvant pur	Solvant additionné de			
		AlCl ₃	AlCl ₃ /HCl	NaOMe	NaOAc
6	353, 303	353, 303		353, 303	
	252, 243	252, 243		252, 243	
8	360, 303	360, 303		410, 275	362, 300
	251, 241	251, 241		249 (e)	255, 243
9	370, 313	370, 313		415, 320	410, 318
	250, 240	250, 240		272, 239	270
10	370 (e), 315	410, 346	410, 346	383, 306	380, 310
	255, 238	278, 256	278, 256	272, 239	265
12	375, 312	450, 342	450, 337	400 (e), 305	400 (e), 300
	270, 242	275, 247	275, 247	280	272
13	375 (e), 327	420, 360 (e)	420, 360 (e)	380, 270	380, 325
	262, 235	328, 275	325, 268		270 (e)

Les séparations sur colonne ont été réalisées à l'aide de polyamide *Macherey-Nagel SC₆*, de cellulose microcristalline *Merck* et de *Sephadex LH 20 Pharmacia*. Systèmes de CCM.: polyamide *MN DC₁₁*, MeOH/H₂O 9:1 (système a); cellulose 60 *Merck*, AcOH 10% (système b); CHCl₃/AcOH/H₂O 20:15:3 (système c); n-BuOH/AcOH/H₂O 10:4:5 (système d); silicagel 60 *F₂₅₄ Merck*, AcOEt/MeOH/H₂O 21:4:3 (système e).

Données analytiques. Composés 1-5, 7, 11, 14-18. Comparaisons avec des échantillons authentiques précédemment identifiés dans nos laboratoires. Quantités isolées: **1**: 19 mg; **2**: 80 mg; **3**: 4 mg; **4**: 35 mg; **5**: 35 mg; **7**: 540 mg; **11**: 195 mg; **14**: 16 mg; **15**: 2 mg; **16**: 15 mg; **17**: 11 mg; **18**: 88 mg.

Composé 6. Quantité isolée: 5 mg. F. 180°; Rf 0,65 (système a); Rf 0,71 (système b); Rf 0,75 (système c).

Dérivé acétylé: F. 102°; recristallisé dans EtOH.



Composé 8. Quantité isolée: 17 mg. F. 140-1°. Rf 0,57 (système a); Rf 0,68 (système b); Rf 0,71 (système c); Rf 0,67 (système d); Rf 0,63 (système e).

Dérivé acétylé: F. 194-6° (recristallisé dans EtOH).



Composé 9. Quantité isolée: 4 mg. F. 215-218°. Rf 0,41 (système a); Rf 0,52 (système b); Rf 0,71 (système c); Rf 0,47 (système d); Rf 0,37 (système e).

Composé 10. Quantité isolée: 2 mg. F. 225°. Rf 0,50 (système a); Rf 0,47 (système b); Rf 0,76 (système c); Rf 0,70 (système d); Rf 0,48 (système e).

 Tableau 2. *Spectres RMN*. dans CDCl₃ des composés acétylés
(270 MHz, δ en ppm par rapport au TMS pris comme référence interne)

	Protons aromatiques		OCH ₃	OCOCH ₃
	H(2) et H(4) J = 2,5 Hz	H(5) et H(6) J = 9,5 Hz		
6	6,54	7,10	3,89 (3 H)	
	6,76	7,24	3,91 (3 H)	
8	6,56	7,12	3,96 (3 H)	2,34 (3 H)
	6,74	7,30	3,91 (3 H)	
12	6,55	7,26	3,89 (3 H)	2,32 (2 H)
	6,59	7,42		2,50 (3 H)

Composé 12. Quantité isolée: 11 mg. F. 200° (déc.). Rf 0,33 (système a); Rf 0,32 (système b); Rf 0,55 (système c); Rf 0,58 (système d); Rf 0,52 (système e).

Dérivé acétylé: F. 194-5° (recristallisé dans EtOH).

$C_{32}H_{32}O_{17}$ (688,57) Calc. C 55,81 H 4,68% Tr. C 55,68 H 4,88%

Composé 13. Quantité isolée: 2,5 mg. F. 224°. Rf 0,39 (système a); Rf 0,55 (système b); Rf 0,54 (système c); Rf 0,51 (système d); Rf 0,42 (système e).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] *Yu-Chuan Ma*, Acta Phytotax. 1, 1 (1951).
- [2] *F. Korte*, Z. Naturf. 9 (b), 354 (1954).
- [3] *J. Carbonnier, M. Massias, M.-C. Jarreau-Carbonnier & D. Molho*, Trav. Lab. Jaysinia 4, 169 (1972).
- [4] *M. Massias, J. Carbonnier & D. Molho*, Bulletin du Museum d'Histoire Naturelle, 31^e série, no. 423, 45 (1976).
- [5] *K. Hostettmann, R. Tabacchi & A. Jacot-Guillarmod*, Helv. 57, 294 (1974).
- [6] *T.J. Mabry, K.R. Markham & M.B. Thomas*, 'The Systematic Identification of Flavonoids', Springer, New York 1970.
- [7] *P. Rivaille, J. Massicot, M. Guyot & V. Plouvier*, Phytochemistry 8, 1533 (1969).
- [8] *K. Hostettmann, A. Jacot-Guillarmod & V.M. Chari*, Helv. 59, 2592 (1976).
- [9] *K. Hostettmann & A. Jacot-Guillarmod*, Helv. 57, 1155 (1974).

155. Total Synthesis of Indole and Dihydroindole Alkaloids. XV¹⁾. Further Chemistry of Vindoline

by James P. Kutney, Ursula Bunzli-Trepp, Toshio Honda, Junki Katsube and Brian R. Worth

Department of Chemistry, University of British Columbia,
2075 Wesbrook Place, Vancouver, Canada V6T 1W5

(11.IV.78)

Summary

The general reactivity of various sites in the vindoline series has been investigated. The facility of electrophilic substitution at C(15) and the effect of steric crowding on reactions at C(4) are discussed. At the basic nitrogen sites, oxidations with mercuric acetate and potassium permanganate are also discussed.

Selective functionalisations of 3',4'-dehydrovinblastine led to a series of derivatives of the alkaloid vinblastine [2-7]. Alternatively, elaboration of catharanthine and subsequent modified *Polonovski* coupling with vindoline (**1**) provided further examples of the 'dimer' molecules [7-20]. As part of a continuing effort in this area of antineoplastic agents, it was of interest to investigate further

¹⁾ Part XIV, [1].