

DEPRESSOSIDE, NOUVEL IRIDOÏDE ISOLE DE
GENTIANA DEPRESSA

ALBERT J. CHULIA et MOURAD KAOUADJI

*Laboratoire de Pharmacognosie, UER de Pharmacie, Université Scientifique et Médicale de Grenoble,
Domaine de La Merci, F-38700 La Tronche, France*

ABSTRACT.—Depressoside (**1a**), a new iridoid, has been isolated from defatted leaves of *Gentiana depressa* (Gentianaceae). Its structure has been elucidated by spectroscopic means and hydrolysis as 7-[6-(2,3-dihydroxy benzoyl)-1-*O*- β -D-glucosyl] 11-(1-*O*-pyrogallyl) loganate.

L'analyse des feuilles de *Gentiana depressa* D. Don. (Gentianacées), met en évidence dans les fractions polaires des C-glycosylflavones (1) et un iridoïde **1a**, pour lequel nous proposons la dénomination dépressoside. D'une teneur approximative de 0,1%, ce produit est issu de l'extrait méthanolique des feuilles préalablement dégraissées au CHCl_3 . Après fractionnement par cc de Séphadex LH 20 (MeOH), la purification est assurée par plusieurs cc de cellulose.

RESULTATS ET DISCUSSION

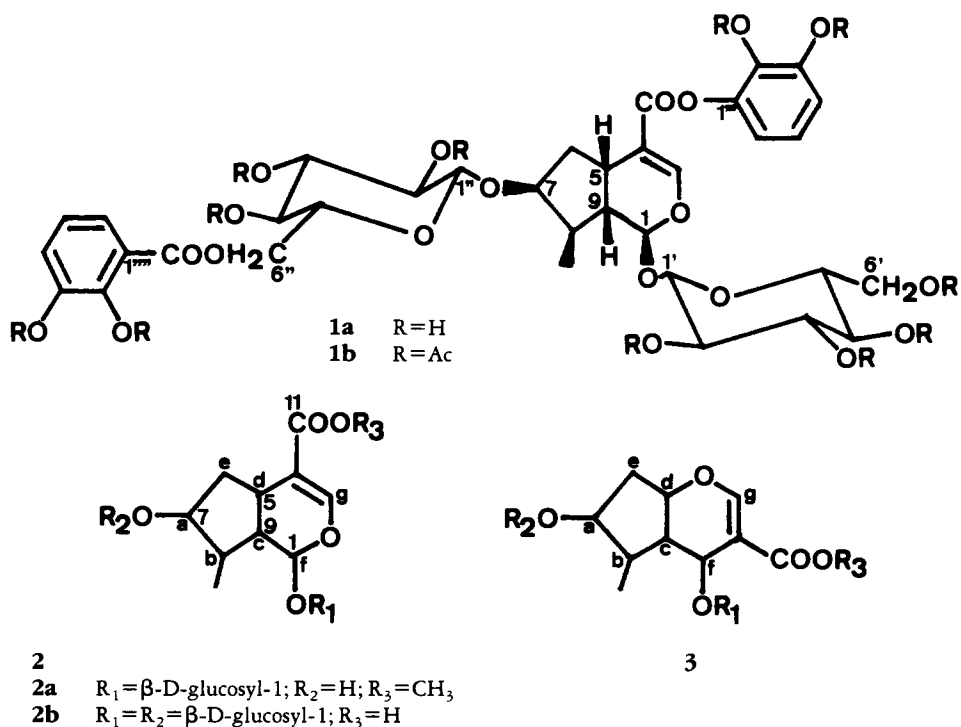
De formule brute $\text{C}_{35}\text{H}_{42}\text{O}_{20}$, ce composé présente en fabms les ions MH^+ à m/z 783 et (M-H) à m/z 781; soumis à l'hydrolyse acide, il libère du glucose.

L'étude des spectres de $\text{rmn } ^1\text{H}$ du produit naturel **1a** (CD_3OD) et du dérivé peracétylé (CDCl_3), complétée par celle du spectre de $\text{rmn } ^{13}\text{C}$ du produit naturel (CD_3OD), montre deux parties dans cette molécule: l'une, aromatique représentée par deux noyaux (6H et 4 -OH), l'autre, aliphatique correspondant à deux unités glucosidiques (14H et 7 -OH) et à un enchaînement défini par 11H.

Les deux noyaux aromatiques, 1,2,3-trisubstitués sont signalés en $\text{rmn } ^1\text{H}$ du produit naturel par deux groupes de trois protons adjacents: δ 7,32 ppm, dd, J 8, 1,5 Hz; δ 7,00 ppm, dd, J 8, 1,5 Hz; δ 6,73 ppm, dd, J 8, 8 Hz; δ 6,63 ppm, dd, J 8, 1,5 Hz; δ 6,53 ppm, dd, J 8, 8 Hz; δ 6,47 ppm, dd, J 8, 1,5 Hz.

Pour justifier le déblindage d'un proton situé sur le premier noyau (δ 7,32 ppm), une double liaison doit être placée dans son voisinage; la bande ir à 1670 cm^{-1} et le signal ^{13}C à 171,2 ppm l'identifient à un carbonyle. Cela permet d'expliquer l'absorption uv du dépressoside à 317 nm. L'enregistrement enfin de l'ion à m/z 153 correspondant au pic de base dans le spectre du produit naturel en fabms négative, montre clairement la présence d'une unité dihydroxy-2,3 benzoyl dans cette molécule. Le second noyau aromatique est caractérisé par deux protons (δ 6,63 et 6,47 ppm) qui deviennent isochrones dans le dérivé peracétylé (δ 6,85 ppm). Cela implique donc l'inclusion d'un hydroxyle phénolique distal dans une liaison ester, fonction dont le carbonyle est signalé à 168,6 ppm en $\text{rmn } ^{13}\text{C}$ et 1690 cm^{-1} en ir. De ce fait, un reste pyrogallyl est ainsi défini puis confirmé après saponification.

Les deux unités glucosidiques diffèrent par leur environnement; cela se traduit par le déblindage apparent du méthylène-oxy de l'une (δ 4,52 ppm, dd, J 12, 1,5 Hz; δ 4,26 ppm, dd, J 12, 7 Hz) inclus dans une liaison. A l'inverse, l'unité suivante porte un hydroxyméthylène dont les deux protons non équivalents résonent à leur champ habituel (δ 3,93 ppm, dd, J 12, 1,5 Hz; δ 3,70 ppm, dd, J 12, 5,5 Hz). De comportement identique dans le dérivé peracétylé, les deux $-\text{CH}_2\text{O}-$ admettent alors, le même type de liaison, ce qui permet de déduire que la première unité glucosidique est acylée en position 6, comme le montre la valeur de déplacement chimique de 64,5 ppm attribuée à ce carbone, celle de 62,7 ppm correspondant au C-6 suivant. Cette analyse est en accord avec la résonance des C-5 (δ 75,6 et 78,3 ppm) qui indique l'effet de blindage



entraîné par l'acylation du carbone adjacent (2-4). La configuration β et la O-1-liaison de ces deux glucoses est enfin précisée par les signaux ¹³C à δ 104,0 et 100,2 ppm des carbones anomères.

En conséquence, le dépressoside (**1a**) présente une unité (dihydroxy-2,3-benzoyl)-6-glucosyloxy-1 et une unité glucosyloxy-1. Outre un pyrogallyloxy-1, le reste de cette molécule regroupe onze protons dont un enchaînement -CH(a)-CH(b)-CH(c)-CH(d)-CH₂(e)- correspondant à un cyclopentane 1,2,3,4-tétrasubstitué. Ce résultat est déduit de l'analyse du spectre de ¹H (C₅D₅N) de ce composé, complétée par des expériences de double irradiation permettant de définir: CH(a): δ 5,42 ppm, m, *J* 5,5, 4,5, 2 Hz; CH(b): δ 2,13 ppm, *J* 9,5, 7, 4,5 Hz; CH(c): δ 2,39 ppm, ddd, *J* 9,5, 9,5, 3,5 Hz; CH(d): δ 3,39 ppm, m, *J* 9,5, 8, 7, 1,5 Hz; CH₂(e₁): δ 2,62 ppm, ddd, *J* 15, 8, 2 Hz; CH₂(e₂): δ 1,91 ppm, ddd, *J* 15, 7, 5,5 Hz. Par son déblindage (δ 5,42 ppm), CH(a) est O-lié; d'autre part, CH(b) est porteur d'un méthyle (δ 0,93 ppm, d, *J* 7 Hz) tandis que CH(c) est adjacent à un méthine déblindé CH(f) (δ 5,68 ppm, d, *J* 3,5 Hz). La quatrième substitution du cyclopentane enfin, est indiquée par un couplage longue distance (*J* 1,5 Hz) observé entre H(d) et un proton éthylénique H(g) apparaissant sous forme d'un singulet élargi à δ 7,58 ppm. Compte-tenu du nombre d'atomes de carbone et d'oxygène dans cette molécule et de tous les éléments définis jusqu'à présent, il reste à placer 1 C et 1 O non porteurs de proton. Ils ne peuvent être situés que dans un hétérocycle auquel participent CH(f) et CH(g). Cela conduit à un noyau pyranne accolé au cyclopentane. Des deux possibilités **2** et **3**, la dernière est à éliminer à la vue du déplacement chimique de CH(d) à δ 3,39 ppm en ¹H et surtout à δ 32,3 ppm en ¹³C, excluant toute O-liaison pour ce méthine. En outre, la ¹³C confirme la nature héli-acétalique de CH(f) par le signal à δ 97,3 ppm. De ce fait, la structure partielle **2** correspond à un reste loganoyl (R₁=glucosyl-1), O-substitué en 7 (R₂=[dihydroxy-2,3 benzoyl]-6-glucosyl-1) et en 11 (R₃=pyrogallyl-1). La définition de la configuration des substituants en 7 et 8, tient compte à la fois de l'analyse comparative des valeurs

des couplages de H-6, -7, -8 et -9 dans le dépressoside et dans la loganine (Tableau 1), complétée par les données enregistrées pour le barbatoside (5). En effet s'il est relativement simple, à la lecture de ce tableau, de déduire l'orientation *pseudo*-équatoriale de H-7, celle de H-8 est moins évidente à déterminer. Grâce aux résultats relatifs au barbatoside et plus particulièrement à $J_{7,8}=9,2$ Hz en relation avec une *trans*-7,8-configuration, on peut affirmer sans ambiguïté que le dépressoside ($J_{7,8}=4,5$ Hz) se présente, comme la loganine ($J_{7,8}=5$ Hz), sous la forme *cis*-7,8.

TABLEAU 1. Valeurs des Couplages (Hz) relatifs à H-6, -7, -8 et -9 dans le Dépressoside (**1a**) et la Loganine (**2a**), en $\text{rnm } ^1\text{H}$.

	1a	2a
$J_{7,6a}$	2	1,5
$J_{7,6b}$	5,5	5
$J_{7,8}$	4,5	5
$J_{8,9}$	9,5	9

La O-7-glucosylation affecte simultanément le C-7 par un déblindage et à l'inverse, les deux C adjacents par un blindage, comparativement aux signaux de la loganine (**2a**) (Tableau 2).

TABLEAU 2. Déplacements chimiques en $\text{rnm } ^{13}\text{C}$ (δ ppm/TMS; CD_3OD) des C-6, -7 et -8 dans le Dépressoside (**1a**) et la Loganine (**2a**).

	1a	2a
C-6	40,3	42,7
C-7	80,1	74,9
C-8	41,0	42,1

En conséquence, le dépressoside (**1a**) est identifié au [(dihydroxy-2,3-benzoyl)-6- β -D-glucosyloxy-1]-7 (pyrogallyloxy-1)-11 loganate. Une confirmation de cette structure est apportée par la similitude des spectres de $\text{rnm } ^{13}\text{C}$ dans la région correspondant à la partie osidique de **1a** et de la loganine (**2a**), s'opposant au benzoyl en 6' (Tableau 3). D'autre part, l'analyse comparative des valeurs de déplacement chimique des protons du cyclopentane dans le produit naturel **1a**, dans le produit de saponification **2b** et dans la loganine (**2a**), montre clairement, par le déblindage apparent de tous les protons dans **1a** et plus particulièrement celui de H-7, l'influence du benzoyl situé en 6'' (Tableau 4).

TABLEAU 3. Déplacements chimiques en $\text{rnm } ^{13}\text{C}$ (δ ppm/TMS; CD_3OD) des C osidiques dans le Dépressoside (**1a**) et la Loganine (**2a**).

1a				2a	
C-1'	100,2	C-1''	104,0	C-1'	100,0
C-2'	74,7	C-2''	74,7	C-2'	74,7
C-3'	78,3	C-3''	77,5	C-3'	78,3
C-4'	71,5	C-4''	71,9	C-4'	71,5
C-5'	77,9	C-5''	75,5	C-5'	77,9
C-6'	62,7	C-6''	64,5	C-6'	62,7

Les glucosides monoterpéniques habituellement rencontrés dans les Gentianacées sont principalement représentés par des sécoiridoïdes. Trois espèces seulement, riches en sécoiridoïdes, étaient connues jusqu'à présent pour contenir des iridoïdes: *Swertia*

TABLEAU 4. Déplacements chimiques en rnm^1H (δ ppm/TMS; CD_3OD) des H-5, -6, -7, -8 et -9 dans le Dépressoside (**1a**) la Loganine (**2a**) et l'Acide (glucosyloxy-1)-7 loganique (**2b**).

	1a	2a	2b
H-5	3,22	3,10	3,08
H-6	1,86	1,60	1,64
H-7	2,41	2,25	2,26
H-8	5,40	4,04	4,04
H-9	2,23	1,86	1,86
H-9	2,23	2,03	2,03

carolinensis (acide loganique et oxo-7 loganine) (6,7), *Gentiana punctata* (gentioside) (8) et *Erythraea centaurium* (*m*-hydroxy benzoyl-6' loganine) (9). L'accumulation préférentielle d'un iridoïde, le dépressoside, chez *G. depressa*, semble caractériser aujourd'hui cette espèce au sein de la famille et constitue peut-être un élément chimiotaxinomique qui mérite d'être souligné.

PARTIE EXPERIMENTALE

G. depressa, a été collectée au stade de floraison, à 3500 m d'altitude à Rupchet (Népal) par J. F. Dobremez. Un échantillon d'herbier est déposé au laboratoire de Pharmacognosie de Grenoble, Domaine de la Merci, F-38700 La Tronche.

EXTRACTION ET PURIFICATION DU DÉPRESSOSIDE (**1a**).—Les feuilles sèches (100 g) de *G. depressa*, dégraissées par CHCl_3 sont épuisées par MeOH à froid. L'extrait méthanolique concentré à sec (18 g) est solubilisé dans H_2O puis partagé successivement contre C_6H_6 , Et_2O et *n*-BuOH. Après traitement par cc de Séphadex LH 20 (MeOH), la fraction butanolique permet d'obtenir le dépressoside en tête de colonne. La purification, assurée par deux cc de cellulose successives éluées par le mélange *n*-BuOH-AcOH- H_2O (4:1:6, phase supérieure), conduit à 96 mg de ce composé (rdt 0,1%).

DÉPRESSOSIDE (**1a**).—Non obtenu à l'état cristallisé [α] $^{20}_D = -31^\circ$ (0,175 MeOH); ν λ MeOH max (log ϵ) 217 (4,18), 242 ép (3,87), 277 ép (3,32), 317 (3,47); / AlCl_3 225, 270, 357; / $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ 217, 270 ép, 317, 360 ép; /MeONa 230, 285 ép, 342; /AcONa 225 ép, 250 ép, 277 ép, 317; /AcONa + B(OH) $_3$ 225 ép, 250 ép, 280 ép, 325 nm; ir ν KBr max 3450, 3040, 2990, 2940, 1690, 1670, 1620, 1520, 1470, 1380, 1300, 1230, 1160, 1100, 1070, 1020, 890, 870, 840, 750, 710 cm^{-1} ; fabms positive 783 (MH $^+$), 621 (MH $^+ - 162$), 495; /négative 781 (M-H) $^-$, 629 (M-H-152) $^-$, 511 (M-H-152-118) $^-$, 287, 153; rnm^1H (250 MHz, CD_3OD) δ 7,52 (1H, d, $J=1$ Hz, H-3), 7,32 (1H, dd, $J=8$, 1,5 Hz, H-6 $''''$), 7,00 (1H, dd, $J=8$, 1,5 Hz, H-4 $''''$), 6,73 (1H, dd, $J=8$, 8 Hz, H-5 $''''$), 6,63 (1H, dd, $J=8$, 1,5 Hz, H-4 $''''$), 6,53 (1H, dd, $J=8$, 8 Hz, H-5 $''''$), 6,47 (1H, dd, $J=8$, 1,5 Hz, H-6 $''''$), 5,40 (2H, s élargi, H-1, 7), 4,73 (1H, d, $J=7,5$ Hz, H-1' ou 1''), 4,70 (1H, d, $J=8,5$ Hz, H-1' ou 1''), 4,52 (1H, dd, $J=12$, 1,5 Hz, H $_A$ -6''), 4,26 (1H, dd, $J=12$, 7 Hz, H $_B$ -6''), 3,93 (1H, dd, $J=12$, 1,5 Hz, H $_A$ -6'), 3,70 (1H, dd, $J=12$, 5,5 Hz, H $_B$ -6'), 3,62-3,24 (8H, m, H-2', 2'', 3', 3'', 4', 4'', 5', 5''), 3,18 (1H, m, H-5), 2,41 (1H, dd élargi, $J=15$, 8, 1,5 Hz, H $_A$ -6), 2,23 (2H, m, H-8, 9), 1,86 (1H, dd élargi, $J=15$, 8, 5,5 Hz, H $_B$ -6), 1,13 (3H, d, $J=6$ Hz, H-10); / (250 MHz, $\text{C}_3\text{D}_5\text{N}$) δ : 7,84 (1H, s élargi, H-3), 7,49 (1H, dd, $J=7,5$, 1,5 Hz, H-6 $''''$), 7,43 (1H, dd, $J=7,5$, 1,5 Hz, H-4 $''''$), 7,20 (1H, dd, $J=8,5$, 1,5 Hz, H-4 $''''$), 7,07 (1H, dd, $J=8,5$, 1,5 Hz, H-6 $''''$), 6,97 (1H, dd, $J=7,5$, 7,5 Hz, H-5 $''''$), 6,94 (1H, dd, $J=8,5$, 8,5 Hz, H-5 $''''$), 5,68 (1H, d, $J=3,5$ Hz, H-1), 5,42 (3H, m, H-7, 1', 1''), 4,86 (1H, d élargi, $J=11$, 1 Hz, H $_A$ -6''), 4,68 (1H, dd, $J=11$, 6 Hz, H $_B$ -6''), 4,62 (1H, dd, $J=12$, 1,5 Hz, H $_A$ -6'), 4,41 (1H, dd, $J=12$, 5,5 Hz, H $_B$ -6'), 4,35-4,10 (8H, m, H-2', 2'', 3', 3'', 4', 4'', 5', 5''), 3,39 (1H, m, $J=9,5$, 8, 7, 1,5 Hz, H-5), 2,62 (1H, ddd, $J=15$, 8, 2 Hz, H $_A$ -6), 2,39 (1H, ddd, $J=9,5$, 9,5, 3,5 Hz, H-9), 2,13 (1H, m, $J=9,5$, 7, 4,5 Hz, H-8), 1,91 (1H, ddd, $J=15$, 7, 5,5 Hz, H $_B$ -6), 0,93 (3H, d, $J=7$ Hz, H-10); rnm^{13}C (62,9 MHz, CD_3OD) δ 171,2 (s, C-7 $''''$), 168,6 (s, C-11), 152,3 (d, C-3), 151,3 (s, C-2 $''''$), 147,3 (s, C-2 $''''$), 147,1 (s, C-3 $''''$ ou 3 $''''$), 147,0 (s, C-3 $''''$ ou 3 $''''$), 136,5 (s, C-1 $''''$), 121,7 (d, C-4 $''''$), 121,1 (d, C-6 $''''$), 120,1 (d, C-4 $''''$ ou 5 $''''$), 120,0 (d, C-4 $''''$ ou 5 $''''$), 114,1 (s, C-4), 113,1 (s, C-1 $''''$), 111,9 (d, C-6 $''''$), 109,9 (d, C-5 $''''$), 104,0 (d, C-1'), 100,2 (d, C-1'), 97,3 (d, C-1), 80,1 (d, C-7), 78,3 (d, C-5' ou 3'), 77,9 (d, C-5' ou 3'), 77,5 (d, C-3''), 75,5 (d, C-2'), 74,7 (d, C-2'), 71,9 (d, C-4''), 71,5 (d, C-4'), 64,5 (t, C-6''), 62,7 (t, C-6'), 47,1 (d, C-9), 41,0 (d, C-8), 40,3 (t, C-6), 32,3 (C-5), 13,5 (q, C-10).

DÉRIVÉ PERACÉTYLÉ (**1b**).—(**1a**, Ac_2O , $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$, température ambiante, 48 h), f 198° (purifié par cc silice- C_6H_6 -MeOH, 9:1); ir ν KBr max 3020, 2960, 2880, 1765, 1730, 1720, 1645, 1500, 1480,

1470, 1430, 1370, 1270, 1235, 1215, 1170, 1130, 1060, 1040, 1020, 905, 880, 825, 800, 760 cm^{-1} ; rnm^1H (250 MHz, CDCl_3) δ 7,85 (1H, dd, $J=7,5$, 2 Hz, H-6'''), 7,40 (1H, d, $J=1$ Hz, H-3), 7,37 (1H, dd, $J=8$, 2 Hz, H-4'''), 7,30 (1H, dd, $J=8$, 7,5 Hz, H-5'''), 7,15 (1H, dd, $J=8,5$, 8,5 Hz, H-5'''), 6,85 (2H, d, $J=8,5$ Hz, H-4''', 6'''), 5,40 (1H, m, H-7), ca. 5,30 (3H, m, H osidiques), 5,25 (1H, d, $J=3$ Hz, H-1), 5,13 (1H, d, $J=9,5$ Hz, H-1''), ca. 5,10 (2H, m, H osidiques), 5,00 (1H, dd, $J=9,5$, 8 Hz, H-2'), 4,90 (1H, d, $J=8$ Hz, H-1'), 4,34 (1H, dd, $J=12,5$, 6 Hz, H_B -6''), 4,31 (1H, dd, $J=12,5$, 4,5 Hz, H_B -6'), 4,27 (1H, dd, $J=12,5$, 2,5 Hz, H_A -6''), 4,16 (1H, dd, $J=12,5$, 2,5 Hz, H_A -6'), 3,91 (1H, m, $J=10$, 6, 2,5 Hz, H-5''), 3,78 (1H, m, $J=10$, 4,5, 2,5 Hz, H-5'), 3,05 (1H, m, H-5), 2,35 (1 OAc), 2,32 (1 OAc), 2,28 (1 OAc), 2,27 (1 OAc), ca. 2,24 (1H, m, H_A -6), 2,08 (1 OAc), ca. 2,06 (2H, m, H-8, 9), 2,05 (1 OAc), 2,04 (2 OAc), 2,00 (1 OAc), ca. 1,95 (1H, m, H_B -6), 1,84 (1 OAc), 1,08 (3H, d, $J=7,5$ Hz, H-10).

ACIDE *O*-GLUCOSYL-7 LOGANIQUE (2b).—(1a, NaOH N, température ambiante, 30 min, purification par ccm cellulose-*n*-BuOH-AcOH- H_2O (4:1:6, phase supérieure); rnm^1H (250 MHz, CD_3OD) δ 7,39 (1H, d, $J=1,5$ Hz, H-3), 5,28 (1H, d, $J=4,5$ Hz, H-1), ca. 4,80 (1H, H-1''), 4,65 (1H, d, $J=8$ Hz, H-1'), 4,04 (1H, m, H-7), 3,90 (1H, dd, $J=12$, 1,5 Hz, H_A -6'), 3,72-3,14 (9H, m, H osidiques), 3,08 (1H, m, H-5), 2,24 (1H, m, $J=14$, 8, 1,5 Hz, H_A -6), 2,02 (1H, m, $J=9,5$, 8,5, 4,5 Hz, H-9), 1,85 (1H, m, $J=8,5$, 7,5, 5 Hz, H-8), 1,64 (1H, m, $J=14$, 7,5, 4,5 Hz, H_B -6), 1,10 (3H, d, $J=7,5$ Hz, H-10).

PYROGALLOL.—(1a, NaOH N, température ambiante, 30 min, HCl/ Et_2O , purification par ccm cellulose-AcOH aq. 5%); produit identique à un échantillon authentique de pyrogallol (ccm, uv).

BIBLIOGRAPHIE

1. A.J. Chulia, "Polyphénols et iridoïdes des feuilles de *Gentiana argentea* Royle, *G. pedicellata* Wall. et *G. depressa* D. Don. (Gentianacées)," Thèse de Doctorat ès-Sciences Pharmaceutiques, Grenoble 1984, 02, n°2.
2. K.R. Markham, B. Ternai, R. Stanley, M. Geiger, et T.J. Mabry, *Tetrahedron*, **34**, 1389 (1978).
3. V.M. Chari, H. Wagner, G. Schilling, et A. Nesmélyi, IUPAC Int. Symp. Chem. Nat. Prod. 11th, Sofia (1978), tome 2, p. 279.
4. R.K. Chaudhuri, F.Ü. Afifi-Yazar, O. Sticher, et T. Winklert, *Tetrahedron*, **36**, 2317 (1980).
5. P. Junior, *Planta Med.*, **45**, 127 (1982).
6. C.J. Coscia et R. Guarnaccia, *Chem. Comm.*, **1**, 138 (1968).
7. C.J. Coscia, R. Guarnaccia, et L. Botta, *Biochemistry*, **8**, 5036 (1969).
8. S. Popov et N. Marekov, *Phytochemistry*, **10**, 3077 (1971).
9. S. Takagi, M. Yamaki, E. Yumioka, T. Nishimura, et K. Sakina, *Yakugaku Zasshi*, **102**, 313 (1982).

Received 18 June 1984