

PNEUMONANTHOSIDE, PREMIER GLYCOSIDE DE  
L'OXO-3  $\alpha$ -IONOL CHEZ *GENTIANA PNEUMONANTHE*

A.J. CHULIA,\* E. MPONDO MPONDO

Laboratoire de Pharmacognosie, UFR de Pharmacie, Université Scientifique, Technologique et Médicale de Grenoble,  
Domaine de la Merci, 38700 La Tronche, France

et R. NARDIN

Centre Grenoblois de Résonance Magnétique, DRF, CENG, Avenue des Martyrs 38041 Grenoble, France

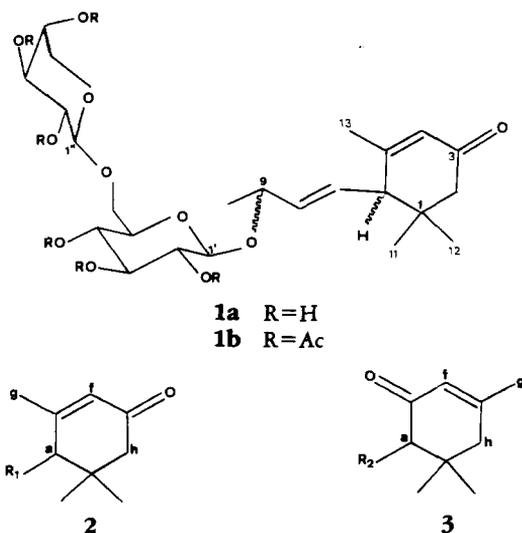
L'étude phytochimique des feuilles de *Gentiana pneumonanthe* L. (Gentianaceae), nous avait permis de caractériser dans l'extrait MeOH, plusieurs C-glycosylflavones (1). Après dégraisage à l'hexane, l'extrait  $\text{CHCl}_3$  à chaud de ces feuilles contient, d'autre part, des glucosides monoterpéniques: swertiamarine (rdt 0,15%), swéroside (rdt 0,07%), fréquents dans les racines de gentianes (2) et un hétéroside nouveau, le pneumonanthoside (rdt 0,005%). Le pneumonanthoside est purifié par chromatographies colonnes successives de polyamide, silice et sephadex LH 20. Il est identifié à la structure **1a** sur la base de ses caractéristiques spectrales.

De poids moléculaire 502 (sm  $\text{fab}^+$ ),  $[\alpha]^{20}_{\text{D}} = +21^\circ$  (MeOH,  $c = 0,085$ ), le pneumonanthoside libre, après hydrolyse acide, du glucose et de l'arabinose caractérisés par ccm (3). Outre la nature

osidique de **1a**, les spectres de  $\text{rmn } ^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  de ce composé montrent une partie correspondant à un oxo-3  $\alpha$ -ionoxy.

En effet, l'analyse du spectre de  $\text{rmn } 2\text{D } ^1\text{H}-^1\text{H}$  corrélés (cosy 45) de la partie non osidique de **1a** met en évidence: un enchaînement  $-\text{CH}(\text{a})-\text{CH}(\text{b})=\text{CH}(\text{c})-\text{CH}(\text{d})-\text{CH}_3(\text{e})$ ; un enchaînement  $-\text{CH}(\text{f})=\text{C}-\text{CH}_3(\text{g})$ ; un méthylène  $-\text{CH}_2(\text{h})-$  et deux méthyles singuliers.

Les déplacements chimiques du méthine  $\text{CH}(\text{d})$  à  $\delta 4,44$  ppm en  $\text{rmn } ^1\text{H}$  et  $\delta 75,1$  ppm en  $\text{rmn } ^{13}\text{C}$  indiquent pour ce carbone, une O-liaison. L'autre méthine  $\text{CH}(\text{a})$  est inclus dans une cyclohexène-one. Ses valeurs de déplacements chimiques  $\delta = 2,68$  ppm en  $\text{rmn } ^1\text{H}$  et  $\delta = 56,9$  ppm en  $\text{rmn } ^{13}\text{C}$ , le placent en  $\alpha$  d'une seconde insaturation, faisant partie d'un système conjugué responsable des bandes uv ( $\lambda = 235$  nm) et ir ( $\nu = 1650$   $\text{cm}^{-1}$ ; cétone hexagonale



$\alpha, \beta$  insaturée dont le carbonyle résonne en  $\text{rnm } ^{13}\text{C}$  à  $\delta = 179,4$  ppm). Des deux possibilités de structure **2** et **3**, **3** est à exclure au vu du déplacement chimique du carbone  $\text{CH}_2(\text{h})$  à 48,2 ppm, valeur en faveur d'un carbonyle vicinal.

La structure ainsi définie est donc un oxo-3  $\alpha$ -ionoxy. Cette partie terpénique, est, d'autre part responsable des ions à  $m/z = 209$  ( $\text{MH}^+$ -glucoarabinosyl) en  $\text{sm fab}^+$  du pneumonanthiside [**1a**] et à  $m/z = 191$  [ $\text{M}^+$ -(O-glucoarabinosyl) $_{\text{Ac}}$ ] en  $\text{sm ei}$  du pneumonanthiside acétylé [**1b**]. Enfin les données spectrales relevées ici sont en accord avec celles des oxo-3  $\alpha$ -ionols de la littérature (4-6).

L'aglycone de **1a** est éthérifiée par une unité glucoarabinosyle. Le glucosyle de configuration  $\beta$  ( $J_{\text{H-1}'} = 7,8$  Hz,  $\delta_{\text{C-1}'} = 101,5$  ppm) est relié à la partie terpénique par son carbone anomère. Le déplacement chimique  $\delta_{\text{C-6}'} = 69,5$  ppm du glucose, contrairement à la valeur habituellement observée pour un hydroxyméthylène de ce type,  $\delta = 60,8$  à 62,0 ppm (7), montre que ce carbone participe à la liaison éther qui engage, également, le carbone anomère ( $\delta$  ppm  $\text{C-1}'' = 105,1$ ) de l' $\alpha$ -arabinose dont la configuration en  $1''$  est précisée par la valeur de la constante de couplage  $J_{\text{H-1}''} = 6,8$  Hz, qui indique H( $1''$ ) et H( $2''$ ) diaxiaux (8). L'ensemble des valeurs de déplacements chimiques des carbones des deux unités osidiques, montrent en outre, la forme pyranosyle de ces dernières. Etant donné, les faibles quantités de **1a** obtenues, les configurations des carbones 6 et 9 n'ont pu, actuellement, être précisées. D'autre part, la configuration *trans* de la double liaison en 7,8 est déterminée sans ambiguïté par  $J_{\text{H-7}, \text{H-8}} = 15$  Hz. Le pneumonanthiside [**1a**] est donc défini comme l'[( $\alpha$ -L-arabinopyranosyloxy-1)-6 $\beta$ -D-glucopyranosyloxy-1]-9 oxo-3  $\alpha$ -ionoxy.

Si les oxo-3  $\alpha$ -ionols ont été décrits, notamment dans les feuilles de tabac (4,5), aucun de leurs hétérosides n'est signalé à notre connaissance. Au sein des

gentianacées, ce type de composé est original, car jusqu'à présent, seul le loliolide, provenant, comme c'est vraisemblablement le cas pour le pneumonanthiside, du catabolisme des caroténoïdes, est cité chez *Canscora decussata* (9) et *Gentiana pedicellata* (10).

## PARTIE EXPERIMENTALE

### PROCEDES EXPERIMENTAUX GENERAUX.—

Les spectres uv sont enregistrés sur un spectrophotomètre Beckman U25. Le spectre ir est effectué sur un spectrophotomètre Beckman Acculab 4. Les spectres de masse en ei et  $\text{fab}$  sont réalisés à l'aide d'un spectrographe AEI902. Les spectres de  $\text{rnm } ^{13}\text{C}$  à deux dimensions,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  corrélés (cosy 45) et  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ , sont enregistrés sur un Bruker AM400 (Centre Grenoblois de Résonance Magnétique), par l'un de nous. Les spectres de  $\text{rnm } ^{13}\text{C}$ -standard et DEPT sont enregistrés par S. Lavaitte sur un Bruker AM300 du CGRM. Les chromatographies couche mince analytiques sont effectuées sur silice Merck 60 F254. Sur colonne, la silice Merck 60 (70-230 Mesh) est utilisée. La clhp est conduite sur colonnes C18  $\mu$ Bondapak pour **1a** et Lichrosorb Si 60 pour **1b**, pressurisées par une pompe Waters 6000A.

MATERIEL VEGETAL.—*G. pneumonanthe* est récoltée au stade de floraison dans le marais de Lavours (Ain), France. Un échantillon d'herbier est déposé au laboratoire Pharmacognosie de l'université de Grenoble.

EXTRACTION ET PURIFICATION.—300 g de feuilles sèches, dégraissées par le *n*-hexane, sont ensuite traitées par  $\text{CHCl}_3$  à chaud. L'extrait  $\text{CHCl}_3$  (25 g), chromatographié sur colonne de polyamide (gradient de MeOH dans  $\text{C}_6\text{H}_6$ ), fournit cinq fractions. La fraction 2 (élution  $\text{C}_6\text{H}_6$ -MeOH=95:5) chromatographiée sur colonne de silice permet l'obtention de 15 mg de pneumonanthiside [**1a**], élué par le mélange  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (90:10). **1a** subit une purification ultime sur sephadex LH 20 (MeOH). La fraction 3 (élution  $\text{C}_6\text{H}_6$ -MeOH=90:10) contient la swertiamarine et le swéroside qui sont séparés sur colonne de silice par le mélange  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (95:5). La purification finale sur Sephadex LH 20 (MeOH), fournit 450 mg de swertiamarine et 210 mg de swéroside.

Swéroside et swertiamarine sont identiques à des témoins authentiques (ccm, uv, clhp,  $\text{rnm } ^1\text{H}$ ).

PNEUMONANTHOSIDE [**1a**].—Ccm  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (85:15), rf 0,20; clhp C18  $\mu$ Bondapak (300 $\times$ 4 mm) MeOH- $\text{H}_2\text{O}$  (40:60), tr = 13 min à 1 ml/min; uv  $\lambda$  nm MeOH 235 (6500), ir  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$  KBr 3400, 2950, 1650, 1370, 1260,

1070, 1010;  $\text{rnm } ^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{TMS}$ )  $\delta$  ppm 5,88 (1H, q,  $J=1,5$  Hz, H-4), 5,76 (1H, dd,  $J=15$  et 9,5 Hz, H-7), 5,58 (1H, dd,  $J=15$  et 7,7 Hz, H-8), 4,44 (1H, dq,  $J=7,7$  et 6,5 Hz, H-9), 4,30 (1H, d,  $J=6,8$  Hz, H-1<sup>n</sup>), 4,28 (1H, d,  $J=7,8$  Hz, H-1') 4,06 (1H, dd,  $J=11,2$  et 1,8 Hz, H<sub>A</sub>-5<sup>n</sup>), 3,85 (1H, dd,  $J=12,5$  et 3 Hz, H<sub>A</sub>-6'), 3,67 (1H, dd,  $J=11,2$  et 5,5 Hz, H<sub>B</sub>-5<sup>n</sup>), 3,58 (1H, dd,  $J=8,8$  et 6,8 Hz, H-2<sup>n</sup>), 3,55 (1H, dd,  $J=12,5$  et 4,5 Hz, H<sub>B</sub>-6'), 3,5 à 3,20 (autres H des sucres), 2,68 (1H, d,  $J=9,5$  Hz, H-6), 2,50 (1H, d,  $J=17$  Hz, H<sub>A</sub>-2), 2,04 (1H, d,  $J=17$  Hz, H<sub>B</sub>-2), 1,98 (3H, d,  $J=1,5$  Hz, H-13), 1,03 (3H, s, H-11 ou H-12), 0,99 (3H, s, H-12 ou H-11);  $\text{rnm } ^{13}\text{C}$  (75,46 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{TMS}$ )  $\delta$  ppm aglycone 179,4 (C-3), 165,7 (C-5), 137,1 (C-8), 131,0 (C-7), 126,2 (C-4), 75,1 (C-9), 56,9 (C-6), 48,0 (C-2), 37,5 (C-1), 28,1 (C-11 ou C-12), 27,4 (C-12 ou C-11), 23,9 (C-13), 22,3 (C-10),  $\beta$ -glucosyl: 101,5 (C-1'), 78,2 (C-3'), 76,9 (C-5'), 74,9 (C-2'), 71,4 (C-4' ou C-4<sup>n</sup>), 69,5 (C-6'),  $\beta$ -arabinosyl: 105,1 (C-1<sup>n</sup>), 74,2 (C-2<sup>n</sup>), 72,3 (C-3<sup>n</sup>), 69,3 (C-4<sup>n</sup> ou C-4'), 66,6 (C-5<sup>n</sup>);  $\text{sm fab}^+ m/z$  525 ( $\text{MNa}^+$ ), 503 ( $\text{MH}^+$ ), 371 ( $\text{MH}^+$ -arabinosyl), 209 ( $\text{MH}^+$ -glucoarabinosyl), 191 (M-O-glucoarabinosyl).

**HYDROLYSE DE 1a.**—HCl 2N 1h à 100°. L'hydrolysât concentré est chromatographié sur silice imprégnée de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (3). La révélation par le phtalate d'aniline met en évidence du glucose et de l'arabinose.

**PNEUMONANTHOSIDE ACÉTYLE [1b].**—2 mg de [1a] sont solubilisés dans 0,5 ml de pyridine et 3 ml de  $\text{Ac}_2\text{O}$  et laissés à température ambiante pendant 48 h. [1b] est ensuite extrait par  $\text{C}_6\text{H}_6$  et purifié par clhp semi préparative:  $\text{SiO}_2$  (250×7 mm) dans  $n$ -hexane- $\text{CHCl}_3$ - $i\text{PrOH-MeOH}$  (85:10:2,5:2,5),  $\text{tr}=15,5$  min à 3 ml/min;  $\text{rnm } ^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3/\text{TMS}$ )  $\delta$  ppm 5,96 (1H, se, H-4), 5,61 (1H, dd,  $J=15,5$  et 9,5 Hz, H-7), 5,41 (1H, dd,  $J=15,5$  et 7,5 Hz, H-8), 5,26 à 4,88 (6H, m, H-2', -2<sup>n</sup>, -3',

-3<sup>n</sup>, -4', -4<sup>n</sup>), 4,47 (1H, d,  $J=7$  Hz, H-1<sup>n</sup>), 4,43 (1H, d,  $J=8$  Hz, H-1'), 4,32 (1H, qd,  $J=7,5$  et 6,5 Hz, H-9), 4,03 à 3,56 (5H, m, H-6', -5', -5<sup>n</sup>), 2,55 (1H, d,  $J=9,5$  Hz, H-6), 2,39 (1H, d,  $J=17$  Hz, H<sub>A</sub>-2), 2,14 à 1,95 (6×3H, s,  $\text{CH}_3\text{CO}$  et 1H, dans le massif des acétyles, H<sub>B</sub>-2), 1,57 (3H, se, H-13), 1,29 (3H, d,  $J=6,5$  Hz, H-10), 1,04 (3H, s, H-11 ou H-12), 0,97 (3H, s, H-12 ou H-11);  $\text{sm ie } 70\text{ev } m/z$  (%) 754 ( $\text{M}^+$ , 4), 634 (5), 525 (10), 427 (5), 317 (10), 259 (70), 234 (10), 192 (43), 191 (41,  $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{O}$ : 191,1438 mesuré, 191,1436 calculé), 170 (18), 157 (30), 139 (50), 135 (40), 97 (28), 69 (12), 43 (100).

#### BIBLIOGRAPHIE

1. F. Burret, A.J. Chulia, A.M. Debelmas, et K. Hostettman, *Planta Med.*, **34**, 176 (1978).
2. R. Hegnauer, "Chemotaxonomie der Pflanzen, IV," Birkhäuser Verlag, Stuttgart, 1966, p. 176.
3. S.A. Ansen, *J. Chromatogr.*, **107**, 224 (1975).
4. A.J. Aasen, B. Kimland, et C.R. Enzell, *Acta Chem. Scand.*, **25**, 1481 (1971).
5. A.J. Aasen, B. Kimland, et C.R. Enzell, *Acta Chem. Scand.*, **27**, 2107 (1973).
6. D. Behr, I. Wahlberg, T. Nishida, et C.R. Enzell, *Acta. Chem. Scand.*, **B 32**, 391 (1978).
7. N.J. Cussans et T.N. Hukerby, *Tetrahedron*, **31**, 2719 (1975).
8. H. Ishii, I. Kitagawa, K. Matsushita, K. Shirakawa, K. Tori, T. Tozoy, M. Yoshikawa, et Y. Yoshimura, *Tetrahedron Lett.*, **22**, 1529 (1981).
9. S. Ghosal, A.K. Singh, et R.K. Chaudhuri, *J. Pharm. Sci.*, **65**, 1549 (1976).
10. S. Ghosal, A.K. Singh, et K. Biswas, *Planta Med.*, **49**, 240 (1983).

Received 28 April 1986