

LES FLAVONOÏDES DE DEUX ESPÈCES DU GENRE *CHRYOSPLENIUM**

MAURICE JAY et BERNARD VOIRIN

Service de Phytochimie, Département de Biologie Végétale, U.E.R. des Sciences de la Nature, Université Claude Bernard Lyon 1, 43, boulevard du 11 novembre; 69621 Villeurbanne, France

(Received 25 July 1975)

Key Word Index—*Chrysosplenium alternifolium*; *C. oppositifolium*; Saxifragaceae; quercetagetin derivatives and penduletin.

Abstract—Five flavonols have been isolated from two species of *Chrysosplenium*; *C. alternifolium* contains penduletin, 3,7-di-O-methylquercetagetin, 3,6,7-tri-O-methylquercetagetin and 3,3',6,7-tetra-O-methylquercetagetin; *C. oppositifolium* possesses the last two compounds and 3,3',7 tri-O-methylquercetagetin. These flavonols have been identified by chromatographic and spectral data; the taxonomic implication of this flavonoid pattern has been considered.

INTRODUCTION

Le genre *Chrysosplenium* appartient à la famille des Saxifragacées; les Systématiciens [1,2] lui reconnaissent des liens de parenté avec certaines Saxifragoïdées-Saxifragées et plus particulièrement avec les genres *Heuchera*, *Tiarella*, *Mitella*, *Tolmiea*, c'est à dire avec les Saxifragées à ovaire uniloculaire et à placentation pariétale. Ce genre compte une soixantaine d'espèces dont deux sont bien représentées en France: *C. alternifolium* et *C. oppositifolium*, appartenant respectivement aux sections *Alternifolia* et *Oppositifolia* selon Engler [1]. D'un point de vue chimique, nous nous sommes déjà intéressés au contenu proanthocyanique des deux espèces précitées chez lesquelles nous avons identifié deux constituants majeurs: prodelphinidine et procyanidine [3]. Le chimisme flavonique est connu en tout ou partie pour 6 autres espèces: *C. tosaense*, *C. grayanum*, *C. japonicum*, *C. pseudofaurieri*, *C. maximowiczii*, *C. flagelliferum* chez lesquelles les auteurs japonais et russes soulignent la présence de plusieurs méthoxy-flavonols (Tableau 1). Nous nous proposons de compléter la diagnose polyphénolique des deux représentants français et d'analyser les incidences taxinomiques de ces définitions flavoniques.

RESULTATS CHIMIQUES

Comme le souligne le Tableau 2, les deux espèces étudiées se caractérisent par la présence de dérivés méthylés de OH-6 quercétine (quercetagétine) et de OH-6 kaempférol. L'identification structurale de ces composés repose sur l'analyse de leurs propriétés physico-chimiques. En ce qui concerne la pendulétine (1) et la triMe-3,6,7 quercetagétine (2) (R_f , Tableau 3), leurs caractéristiques U.V., RMN et SM sont identiques à celles

Tableau 1. Profil polyphénolique du genre *Chrysosplenium*

Espèces	Flavonols	Réf.
<i>C. pseudofaurieri</i> Hara	diOH-4',5 tétraOMe-2,3,6,7 flavone	[4]
<i>C. maximowiczii</i> Franch. et Sav.	triOH-4',5,6 triOMe-3,3',7 flavone	[5]
<i>C. tosaense</i> Makino	diOH-4',5 tétraOMe-3,3',6,7 flavone	[6]
<i>C. flagelliferum</i> Fr. Schmidt	diOH-4',5 triOMe-3,6,7 flavone	[7]
<i>C. japonicum</i> (Maxim.) Makino	diOH-4',5 tétraOMe-3,3',6,7 flavone	[8-10]
<i>C. grayanum</i> Maxim.	triOH-3',4',6 triOMe-3,6,7 flavone	
	triOH-2',5',5' triOMe-3,4',7 flavone	[7,11]
	diOH-2',5 tétraOMe-3,4',5',7 flavone	

Tableau 2. Les polyméthoxyflavonols de *Chrysosplenium alternifolium* et de *C. oppositifolium*

Flavonol	<i>C. alternifolium</i>	<i>C. oppositifolium</i>
DiMe-3,7 quercetagétine	+	-
TriMe-3,6,7 quercetagétine	+++	(+)
TriMe-3,3',7 quercetagétine	-	+
TétraMe-3,3',6,7 quercetagétine	(+)	+++
DiOH-4',5 triOMe-3,6,7 flavone	(+)	-

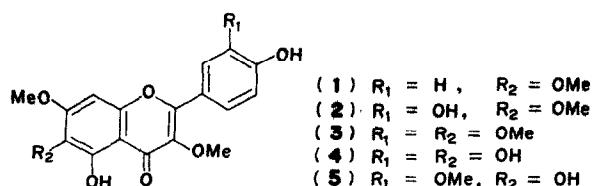
* +++ = Composé majeur (plus de 60%), + = de 10 à 40% (+) = composé mineur (moins de 10%).

Tableau 3. Constantes chromatographiques des polyméthoxyflavonols de *C. alternifolium* et de *C. oppositifolium*

Flavonol	$R_f \times 100$ dans Système				
	S. 1	S. 2	S. 3	S. 4	S. 5
DiMe-3,7 quercetagétine	53	66	74	56	03
TriMe-3,6,7 quercetagétine	77	88	88	80	15
TriMe-3,3',7 quercetagétine	68	73	82	66	20
TétraMe-3,3',6,7 quercetagétine (chrysosplénétine)	85	90	92	83	50
DiOH-4',5 triOMe-3,6,7 flavone (pendulétine)	84	91	91	86	33

Syst. 1 = AcOH 60% CP; Syst. 2 = BAW (4:1:5) CP; Syst. 3 = HOAc-HCl-H₂O (Forestal) (30:3:10) CP; Syst. 4 = t-BuOH-HOAc-H₂O (3:1:1) CP; Syst. 5 = C₆H₆-Petrol-MeCOEt-MeOH (60:26:7:7) CCM polyamide.

* Partie 33 dans la série "Recherches chimiotaxinomiques sur les Plantes Vasculaires". Pour Partie 32 voir Lebreton, P. et Boutard, B. (1975) *Plant. Med. Phytother.*



de flavonoïdes isolés de *Artemisia* par Rodriguez *et al.* [12].

Pour la tétraMe-3,3',6,7 quercétagétine (3) ou chrysoplénétine, mise en évidence par Nakaoki et Morita [13] chez *Chrysosplenium japonicum* et identifiée structuralement par Shimizu et Morita [8,9], les données spectrales (Tableau 4) sont en bon accord avec celles publiées récemment [14,15]. Nous rapportons de plus les résultats de RMN *in CCl₄* et *C₆D₆* (Tableau 5) qui confirment la présence de 4 protons aromatiques et surtout de 4 groupements OMe dont 2 ne subissent que de faibles déplacements de champ lorsque le solvant *CCl₄* est remplacé par *C₆D₆* (OMe-3' et OMe-6), alorsque les deux autres résonnent à des champs significativement plus forts *in C₆D₆* (OMe-3' et OMe-7) [16]. La SM corrobore l'hypothèse structurelle avancée avec un pic moléculaire à 376 (flavonoïde tétraOMe, diOH) et des ions fragments à 197 et à 151 correspondant respectivement selon Audier [17] au noyau A monoOH, diOMe et au noyau B monoOH, monoOMe du squelette flavonique.

En ce qui concerne la diMe-3,7 quercétagétine (4) et la triMe-3,3',7 quercétagétine (5), nous apportons des données physico-chimiques nouvelles pour la littérature flavonique, en particulier avec la flavone diméthoxylée qui, à notre connaissance, est mentionnée pour la première fois à l'état naturel. Le relevé spectrophotométrique UV *in MeOH* de la diMe-3,7 quercétagétine (Tab. 4) est tout à fait original au niveau de la bande II qui se définit en trois pics d'intensité croissante: 238, 258 et 278 nm; il est à noter que la méthylation de OH-6 de la quercétagétine fait disparaître cette figure et la remplace par un tracé classique pour un flavonol disubstitué sur le noyau B (voir composé 2). Les réactifs Al^{3+} et $Al^{3+} + HCl$ signalent la présence d'une substitution en C-6 sur un Me-3 flavonol [18], et d'un *o*-diOH sur la structure flavonique que $NaOAc + H_3BO_3$ permet de localiser sur le phénol latéral; l'OH-4' est confirmé avec NaOH en présence duquel la bande I subit un important déplacement bathochrome sans diminution d'intensité [20]. La SM révèle un pic moléculaire à 346 caractéristique d'une tétraOH, diOMe flavone et des ions fragments à 183 et à 137 correspondant respectivement après rétro Diels Alder à un noyau A diOH, monoOMe et à un noyau B diOH [17]. La structure pressentie est définitivement assurée par RMN qui confirme (par différence) la disubstitution du noyau A et permet de localiser les OMe en C-3 et en C-7 au vu des variations de champ: $\Delta (\delta CCl_4 - \delta C_6D_6 \text{ ppm}) = +0,03$ pour le premier, et $+0,70$ pour le second [16].

Pour la triMe-3,3',7 quercétagétine, les relevés spectrophotométriques U.V. *in MeOH*, $Al^{3+} + HCl$, $NaOAc$ et $NaOMe$ sont identiques à ceux du composé précédent (Tableau 4); les seules différences résident au niveau des réactifs Al^{3+} et $NaOAc + H_3BO_3$ pour lesquels les déplacements bathochromes sont beaucoup moins importants voire inexistant: $\Delta_{\lambda} MeOH - Al^{3+} = +30 \text{ nm}$ (au lieu de $+84 \text{ nm}$ pour le composé précédent), $\Delta_{\lambda} Al^{3+} - (Al^{3+} + HCl) = 0$ (au lieu de -47 nm), $\Delta_{\lambda} MeOH -$

Tableau 4. Propriétés spectrales UV des polyméthoxyflavonols du genre *Chrysosplenium**

Réactif	λ_{max} (nm) DiMe-3,7 quercétagétine	λ_{max} (nm) TriMe-3,3',7 quercétagétine	Chrysoplénétine
MeOH	238, 258, 278, 350	240, (258), 282, 350	256, (270), 350
$AlCl_3$	280, (300), 434	244, 268, 296, 380	268, (280), (300), 382,
$AlCl_3 + HCl$	242, 268, 294, 381	243, 267, 295, 379	263, 281, (300), 372, (408)
$NaOMe$	270, (298), 396	266, (300) 398	268, (300), 408
$NaOAc$	269, (353), 397	269, (352), 404	261, 365, 411
$NaOAc + H_3BO_3$	264, (284), 366	(252), 285, 342	257, (271), 352

* Pour la triMe-3,6,7 quercétagétine et pour la pendulétine, se reporter à la référence [12].

$(NaOAc + H_3BO_3) = -8 \text{ nm}$ (au lieu de $+16 \text{ nm}$); ces différences témoignent d'une disubstitution du phénol latéral du type monoOH, monoOMe, l'OH étant d'ailleurs localisé en 4' comme le montre le comportement *in NaOH* par rapport à celui *in MeOH* [16,20]. Cette hypothèse structurale trouve confirmation avec la SM qui révèle un pic moléculaire à 360 caractéristique d'une triOH, triOMe flavone et des ions fragments à 183 et à 151 typiques respectivement d'un noyau A diOH, monoOMe et d'un noyau B monoOH, monoOMe [17]; de ce fait la position des groupements OMe est la suivante: pour le noyau B en C-3' (voir U.V. *in NaOH*), pour le noyau A en C-7 (voir U.V. *in MeOH* et *in NaOAc*, par analogie avec le comportement spectral du composé 4 et enfin en C-3 de l'hétérocycle. Bien que l'étude par RMN n'ait pu être réalisée du fait de la très faible quantité de produit isolé, les arguments développés sont suffisants pour assigner à ce composé la structure: triOH-4',5,6 triOMe-3,3',7 flavone, déjà identifiée sous le nom de Chrysoplénol C par Shimizu et Morita [5] à la suite de leurs travaux sur *Chrysosplenium maximowiczii*.

ASPECT TAXINOMIQUE

Sur le plan de la composition en aglycones flavoniques, les deux espèces soumises à l'analyse apparaissent relativement distinctes tant par la nature de leurs flavonols que par la distribution relative des deux composés dont elles partagent la présence. Cette conclusion peut être intéressante sur un plan taxinomique puisque les deux espèces concernées appartiennent à des sections différentes du genre *Chrysosplenium*; cependant dans le contexte actuel sa portée reste limitée, car malgré les travaux des auteurs japonais nous n'avons pas encore une vue chimio-systématique assez large du genre. Toutefois à la lumière des résultats du Tableau 1 qui reflètent certainement le chimisme majeur des échantillons analysés, on est frappé par le fait que les représentants de la section *Oppositifolia* (*C. pseudofaurieri*, *C. maximowiczii*, *C. grayanum*...) possèdent des flavonols plus hautement méthylés sur le phénol latéral que ceux des représentants de la section *Alternifolia* (*C. flagelliferum*, *C. japonicum*...) pour lesquels le composé majeur semble être la triMe-3,6,7 quercétagétine.

Replacée dans le contexte général du chimisme polyphénolique des Saxifragacées [3] auxquelles est

Tableau 5. Spectres de RMN des dérivés triméthylsilylés des polyméthoxyflavonols du genre *Chrysosplenium**

	DiMe-3,7 quercétagine CCl ₄	Tétrame-3,3',6,7 quercétagine CCl ₄
	C ₆ D ₆	C ₆ D ₆
H-2'	7,44 d (J 2,5)	7,65 d (J 2,5)
H-6'	7,66 dd (J 2,5) (J 9,0)	7,50 d (J 9,0)
H-5'	6,84 d (J 9,0)	6,82 d (J 9,0)
H-8	6,49 s	6,47 s
OMe C-3	3,83 s	3,80
OMe C-6	—	3,69 s
OMe C-7	3,87 s	3,17
OMe C-3'	—	3,86 s
		3,80
		3,69
		3,89 s
		3,22
		3,42

* Pour la triMe-3,6,7 quercétagine et la pendulétine, se reporter à la référence [12]. Les spectres ont été enregistrés sur Varian HA-100. Les valeurs sont données en ppm (échelle δ) par rapport au TMS. Les nombres entre parenthèses représentent les constantes de couplage en Hz. Les signaux sont figurés par: s = singulet, d = doublet, dd = double doublet.

annexé le genre *Chrysosplenium*, et plus particulièrement celui des Saxifragées nord-américaines chez lesquelles nous avons identifié les flavonols myricétine, quercétine, kaempférol, et le dimère ellagique, la richesse en polyméthoxyflavonols du genre *Chrysosplenium* est tout à fait originale et unique pour la famille au point que le chmiotaxinomiste est en droit de douter du bien-fondé d'un tel rapprochement.

PARTIE EXPERIMENTALE

Matériel. Les pousses feuillées de *Chrysosplenium oppositifolium* L. ont été récoltées en septembre 1973 dans la haute vallée d'Azergues (Rhône, France); celles de *C. alternifolium* L. ont été cueillies en mai 1974 dans la Combe d'Ire (Haute-Savoie, France).

Méthodes. Les échantillons secs ont été pulvérisés puis traités selon une technique précédemment décrite [21]: hydrolyse (HCl 2N) du matériel végétal suivie d'une extraction par Et₂O; après évaporation de ce dernier, le résidu flavonique est chromatographié sur colonne de polyamide SC 6 Macherey Nagel et l'élution est obtenue par C₆H₆ progressivement enrichi en MeCOEt puis en MeOH. Après contrôle en CCM polyamide 11 Merck, les fractions hétérogènes sont traitées en CCM préparative sur polyamide DC 6 Macherey Nagel et les produits élus soumis à une dernière filtration sur colonne de polyamide.

Caractéristiques SM. Composé 3: 374 (100%), 373 (24), 359 (65), 356 (7), 355 (14), 345 (6), 343 (7), 341 (10), 331 (14), 197 (3), 181 (7), 164 (9), 153 (8), 151 (13), 135 (8), 123 (3). Composé 4: 346 (100%), 345 (50), 331 (5), 328 (10), 327 (15), 317 (8),

315 (3), 311 (25), 303 (16), 183 (7), 159 (9), 137 (16), 109 (5). Composé 5: 360 (100%), 359 (50), 345 (25), 342 (10), 341 (6), 331 (6), 329 (10), 327 (6), 317 (16), 183 (9), 151 (15), 139 (35), 123 (18).

BIBLIOGRAPHIE

- Engler, A. (1930) *Saxifragaceae* in *Die natürlichen Pflanzenfamilien* (Engler, A. et Prantl, K.), 2^e édit., 18a, pp. 74-225, Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- Wettstein, R. (1935) *Saxifragaceae* in *Handbuch der systematischen Botanik*, pp. 756-759, Franz Deutike, Leipzig, reprint Asher, Amsterdam 1962.
- Jay, M. (1969) (a) Contribution biochimique à la connaissance taxinomique et phylogénétique des Saxifragacées et familles affines, Thèse Doc. Sc. Lyon. (b) *Trav. Lab. Jaysinia, Mus. Nat. Hist. Nat. Paris*, 3, 111.
- Nikonov, G. K., Safronich, L. N. et Pimenov, M. G. (1970) *Khim. Prir. Soedin.* 2, 268.
- Shimizu, M. et Morita, N. (1968) *J. Pharm. Soc. Japan* 88, 1450.
- Shimizu, M. et Morita, N. (1968) *J. Pharm. Soc. Japan* 88, 1349.
- Morita, N., Shimizu, M. et Takezaki, T. (1968) *J. Pharm. Soc. Japan* 88, 1277.
- Shimizu, M. et Morita, N. (1968) *Chem. Pharm. Bull. Tokyo* 16, 2310.
- Shimizu, M. et Morita, N. (1969) *J. Pharm. Soc. Japan* 89, 702.
- Fukui, K., Matsumoto, T. et Tanaka, S. (1969) *Bull. Chem. Soc. Japan* 42, 1398.
- Shimizu, M. (1969) *J. Pharm. Soc. Japan* 89, 129.
- Rodriguez, E., Carman, N. J., Vander Velde, G., McReynolds, J. H., Mabry, T. J., Irwin, M. A. et Geissman, T. A. (1972) *Phytochemistry* 11, 3509.
- Nakaoki, T. et Morita, N. (1956) *J. Pharm. Soc. Japan* 76, 320.
- Mensch, M. et Eugster, C. H. (1972) *Helv. Chem. Acta* 55, 1610.
- Mears, J. A. (1973) *Phytochemistry* 12, 2265.
- Rodriguez, E., Carman, N. J. et Mabry, T. J. (1972) *Phytochemistry* 11, 409.
- Audier, H. (1966) *Bull. Soc. Chim. France*, 2892.
- Mears, J. A. et Mabry, T. J. (1972) *Phytochemistry* 11, 411.
- Mabry, T. J., Markham, K. R. et Thomas, M. B. (1970) *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer, New York.
- Jurd, L. (1962) *The Chemistry of Flavonoid Compounds* (Geissman, T. A., ed.), pp. 107-155, Pergamon Press, Oxford.
- Jay, M., Gonnet, J. F., Wollenweber, E. et Voirin, B. (1975) *Phytochemistry* 14, 1605.