

teneurs respectives de 300 et 600 ppm; dans les cotylédons ces flavones présentes à l'état de traces existent sous forme hétérosidique.

L'identification de la tricétine repose sur ses propriétés spectrophotométriques UV en accord avec celles de la littérature [2] et les caractéristiques SM du dérivé acétylé [4]. L'interprétation de spectre de RMN [5] du dérivé acétylé dissout in  $\text{CDCl}_3$  confirme l'existence des acétyles ( $s$  2.42 ppm 1 OAc,  $s$  2.32 ppm 4 OAc) et montre dans la région des protons aromatiques 4 signaux: deux doublets ( $J = 2.5$  Hz) à 6.83 et 7.32 ppm = H-6 et H-8, un singulet à 6.55 ppm = H-3 et un singulet à 7.58 ppm pour 2 protons magnétiquement équivalents = H-2' et H-6'.

En conclusion, nous pouvons souligner le fait que l'organe graine de *Lens culinaris* montre sur le plan polyphénolique une large diversité de classes et d'espèces moléculaires et apporte dans le cas présent des arguments à valeur chimiosystématique. Par la chimie de sa graine la Lentille est une Légumineuse comme en témoigne la présence de désoxy-5 flavonoïde, et un représentant de la tribu des Viciées [6] comme semble le démontrer la présence de tricétine jusqu'alors connue chez *Lathyrus* autre représentant de cette même tribu.

#### PARTIE EXPERIMENTALE

**Matériel.** Les graines de *Lens culinaris* Medicus, Lentille verte du Puy variété Anicia, proviennent de la Société Elite-Clause.

**Méthodes.** L'analyse a été conduite selon les protocoles du laboratoire, soit après hydrolyse acide du matériel [7, 8], soit après extraction directe au  $\text{MeOH-H}_2\text{O}$  (7:3). Dans ce dernier cas, après évaporation de la solution hydrométhanolique, le résidu est repris à l'aide de  $\text{H}_2\text{O}$  et la solution aqueuse est alors épuisée successivement par  $\text{Et}_2\text{O}$ ,  $\text{AcOEt}$  et  $n\text{-BuOH}$ .

La Tricétine a été isolée de la fraction  $\text{Et}_2\text{O}$  (extrait hydrométhanolique) par CP dans  $\text{AcOH-H}_2\text{O}$  (3:2) et purifiée en ultime étape par passage sur colonne de polyamide MN5C6 avec élution dans  $\text{MeOH-C}_6\text{H}_6$  (3:2) UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm  $\text{MeOH}$ :

248 (260) 270, 355;  $\text{NaOAc}$  270, 400;  $\text{NaOAc/H}_3\text{BO}_3$ : 260, 370;  $\text{AlCl}_3$ : 273, 420;  $\text{AlCl}_3/\text{HCl}$ : 273, 390;  $\text{NaOMe}$ : instable.  $R_f \times 100$ : CP, BAW (4:1:5 phase supérieure): 69 (lutéoline 82)  $\text{AcOH-H}_2\text{O}$  (6:4) 15 (lutéoline 25) Forestal: 38 (lutéoline 58); CCM polyamide:  $\text{C}_6\text{H}_6\text{-MeOH-MeCOEt}$  (4:3:3): 29 (lutéoline 43). SM: les valeurs entre parenthèses représentent les intensités relatives; principaux pics  $m/e$ :  $M^+$  512 (2%) 470 (65) 428 (35) 386 (59) 344 (71) 302 (100) 286 (18) 273 (15) 271 (8) 153 (12). 150 (7). RMN:  $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz; dérivé acétylé ( $\text{Py-Me}_2\text{CO}$ , 24 hr, temp. ambiante) échelle  $\delta/\text{TMS}$ : résultats voir texte.

**Diglycosyl dephinidine.** L'extraction a été réalisée sur les téguments par du  $\text{MeOH-HCl}$  0.1% à froid; l'extrait concentré a été purifié en CP dans deux solvants successifs: BAW (4:1:5 phase supérieure) puis BBFW, phase supérieure du mélange  $n\text{-BuOH-C}_6\text{H}_6\text{-HCOOH-H}_2\text{O}$  (100:19:10:25).  $R_f \times 100$ : CP,  $\text{HCl}$  1%: 27; BAW (4:1:5 phase supérieure): 18;  $\text{AcOH-HCl-H}_2\text{O}$  (15:3:82): 43; résultats très semblables à ceux de la 3-rhamnoside-5-glucoside delphinidine extraite des pétales de *Lathyrus odoratus* (9). L'hydrolyse acide a fourni de la delphinidine identifiée par cochromatographie avec un témoin. Les sucres n'ont pu être identifiés. Vis.  $\lambda_{\text{max}}$  nm: 534 in  $\text{MeOH-HCl}$  0.1% (aglycone 560 in  $n\text{-BuOH}$ ).

#### BIBLIOGRAPHIE

1. Harborne, J. B., Boulter, D. et Turner, B. L. (1971) *Chemotaxonomy of the Leguminosae* p. 62. Academic Press, London
2. Lamer, B., Malcher, E. et Grimshaw, J. (1968) *Tetrahedron Letters* 12, 1419.
3. Beckmann, S. et Geiger, H. (1968) *Phytochemistry* 7, 1667.
4. Audier, H. (1966) *Bull. Soc. Chim. France* 2892.
5. Mabry, T. J., Markham, K. R. et Thomas, M. B. (1970) *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer, New York.
6. Jay, M., Lebreton, P. et Letoublon, R. (1971) *Boissiera* 19, 219.
7. Lebreton, P., Jay, M. et Voirin, B. (1967) *Chim. Anal. France* 49, 375.
8. Jay, M., Gonnet, J. F., Wollenweber, E. et Voirin, B. (1975) *Phytochemistry* 14, 1605.
9. Harborne, J. B. (1967) *Comparative Biochemistry of the Flavonoids* p. 35. Academic Press, London.

*Phytochemistry*, 1978, Vol. 17, pp 827-829. Pergamon Press Printed in England.

## LES FLAVONOÏDES DU *LOTUS CORNICULATUS*

MAURICE JAY, AURANGZEB HASAN, BERNARD VOIRIN et MARIE-ROSE VIRICEL

Département de Biologie Végétale, Service de Phytochimie, Université Claude Bernard Lyon I, 69621 Villeurbanne, France

(Received 12 December 1977)

**Key Word Index**—*Lotus corniculatus*; Leguminosae; flavonoids; 5-deoxyflavonoids; fisetin; geraldol; 5-deoxykaempferol; 8-methoxyflavonoids; sexangularetin; limocitrin.

#### INTRODUCTION

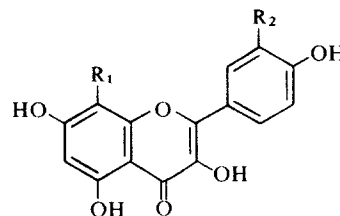
Poursuivant notre investigation au niveau des représentants de la tribu des Lotées (Famille des Légumineuses) [1, 2], nous rapportons ici des résultats relatifs au chimisme polyphénolique du *Lotus corniculatus* L. Cette espèce est probablement, au sein des Légumineuses, une de celles qui ont reçu le plus d'attention de la part

des chercheurs; sur le plan polyphénolique, les travaux récents [3-10] nous révèlent l'existence—dans les feuilles, de quercétine et de kaempférol—dans les fleurs, de gossypétine, de méthyl-7 gossypétine et de méthyl-8 gossypétine (corniculatusine). Nous avons pu, grâce à une méthodologie plus systématique, mettre en évidence, tant au plan foliaire qu'au plan floral, six flavonoïdes nouveaux pour cette espèce.

## RESULTATS

A côté des deux aglycones déjà identifiés—quercétine et kaempférol—nous avons isolé à partir d'un hydrolysât de feuilles quatre flavonols dont les propriétés spectrophotométriques, chromatographiques et SM (Tableau 1) nous ont conduits aux identifications suivantes: fisétine, désoxy-5 kaempférol, isorhamnétine et géraldol.

C'est au niveau du matériel floral que nous avons rencontré la plus grande diversité polyphénolique: 9 aglycones flavoniques. Cinq d'entre eux ont déjà été identifiés dans le matériel foliaire: quercétine, kaempférol, isorhamnétine, désoxy-5 kaempférol et géraldol. Pour les autres composés, spécifiques des fleurs, nous envisagerons d'abord le cas des constituents A, B et C qui appartiennent à la même famille structurale bien que construits respectivement sur les types quercétine, kaempférol et isorhamnétine comme en témoigne leur comportement spectrophotométrique UV in MeOH (Tableau 2). La parenté structurale de A, B et C est soulignée au niveau des trois caractéristiques physico-chimiques suivantes: le  $\lambda_{\max}$  UV in MeOH de la bande I est supérieur d'environ 8 nm à celui de la bande I du flavonol-type correspondant (kaempférol 366—composé B 374 par exemple); le  $R_f$  en CP in AcOH-H<sub>2</sub>O (3:2) est pratiquement identique à celui du flavonol-type correspondant, alors qu'il est significativement supérieur en CCM de polyamide; le SM révèle un pic moléculaire qui n'est pas pic de base, ce dernier revenant à l'ion M-15. Ces trois caractéristiques militent en faveur de méthoxy-8 flavonols [11-13] dont les identifications comme corniculatusine (A), sexangularétine (B) et limocitrine (C) ont été assurées par analyse en RMN pour A et B, et confirmées dans les trois cas par confrontation chromatographique avec des substances témoins. Le dernier composé (D) s'est révélé spectrophotométriquement et chromatographiquement identique à un échantillon



A: R<sub>1</sub> = OMe R<sub>2</sub> = OH

B: R<sub>1</sub> = OMe R<sub>2</sub> = H

C: R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OMe

D: R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OH

témoin de gossypétine (OH-8 quercétine); l'analyse en SM confirme d'ailleurs cette identification.

La présente analyse de divers échantillons de *Lotus corniculatus* révèle l'existence chez cette espèce de désoxy-5 flavonoïdes: fisétine, désoxy-5 kaempférol, géraldol, et complète l'inventaire des méthoxy-8 flavonoïdes: sexangularétine, limocitrine. Aucun de ces échantillons ne nous a permis de retrouver le 'Lotus FIA' ou méthyl-7 gossypétine signalée par Harborne [7]; à ce sujet d'ailleurs, l'auteur vient d'apporter un rectificatif [14] dans lequel il reconnaît la confusion réalisée en 1969 entre méthyl-7 gossypétine et méthyl-8 gossypétine. La présence de désoxy-5 flavonols constitue une des caractéristiques du profil polyphénolique des Légumineuses, et peut apparaître ici comme un critère chimique témoignant de l'appartenance systématique du *Lotus corniculatus*. L'identification de méthoxy-8 flavonols semble quant à elle constituer une donnée polyphénolique relativement originale pour la famille des Legumineuses; mais comme de tels composés n'ont jamais encore fait l'objet de recherches systématiques orientées au sein de cette famille, la portée chimiosystématique de nos identifications doit être envisagée avec prudence, d'autant

Tableau 1. Caractéristiques physicochimiques des flavonols des feuilles de *Lotus corniculatus*

	$R_f \times 100$			$M^+$	SM		$\lambda_{\max}$ UV in MeOH	Fluorescence
	1	2	3		D	C		
Quercétine	33	73	20	302	153	137	255, (270), 370	Jaune-brun
Kaempférol	46	87	35	286	153	121	268, 365	Jaune-brun
Isorhamnétine	37	73	40	316	153	151	253, (268), 367	Jaune-brun
Fisétine (désoxy-5 quercétine)	42	71	20	286	137	137	248, (262), (307), 319, 362	Jaune-brillant
Désoxy-5 kaempférol	47	86	40	270	137	121	256, (307), 319, 355	Jaune-brillant
Géraldol (désoxy-5 isorhamnétine)	48	83	45	300	137	151	253, (308), 320, 364	Jaune-brillant

$R_f$ : 1 = CP in AcOH-H<sub>2</sub>O (3:2); 2 = CP in BAW (4:1:5); 3 = CCM polyamide 11F 254 Merck in C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>-MeCOEt-MeOH (4:3:3) SM: M<sup>+</sup> = pic moléculaire; D et C = pics après RDA selon Audier [16].

Tableau 2. Méthoxy-8 flavonols des fleurs de *Lotus corniculatus*

	$R_f \times 100$			$M^+$	SM			$\lambda_{\max}$ UV <i>in</i> MeOH	Fluorescence
	1	2	3		M-15	M-43	C		
Corniculatusine (méthoxy-8 quercétine)	33	67	40	332 53 %	317 100 %	289 7 %	137 8 %	258, (273), 331, 377	Brune
Sexangularétine (méthoxy-8 kaempférol)	50	84	50	316 75 %	301 100 %	273 16 %	121 26 %	(254), 272, 324, 374	Brune
Limocitrine (méthoxy-8 isorhamnétine)	38	75	65	346 70 %	331 100 %	303 10 %	151 15 %	258, (272), 336, 376	Brune

$R_f$ : 1 = CP in AcOH-H<sub>2</sub>O (3:2); 2 = CP in BAW (4:1:5); 3 = CCM polyamide 11F 254 Merck in C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>-MeCOEt-MeOH (4:3:3) SM: M<sup>+</sup> = pic moléculaire; M-15 = M-Me; M-43 = M-COMe; C = pic C après RDA selon Audier [16].

plus que chez *Lotus corniculatus* ces flavonoïdes semblent être l'apanage du matériel floral dont l'expression métabolique peut être indépendante de l'appartenance systématique comme cela a déjà été souligné pour la corniculatusine [14].

#### EXPÉRIMENTAL

Le matériel végétal, *Lotus corniculatus* L., est issu de trois stations : départements de l'Ain, de la Loire et des Hautes-Alpes. L'étude des aglycones flavoniques a été conduite selon la technique du laboratoire [15].

*Sexangularétine* (méthoxy-8, tétrahydroxy-3,4',5,7 flavone). RMN : (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 100 MHz, ppm échelle  $\delta$ /TMS : 3H, s 3.95 (OMe); 1H, s 6.36 (H-6); 2H, dd ( $J = 2.5$  et 8.5 Hz) 7.11 (H-3', H-5'); 2H, dd ( $J = 2.5$  et 8.5 Hz) 8.30 (H-2', H-6').

*Corniculatusine* (méthoxy-8, pentahydroxy-3,3',4',5,7 flavone). RMN : CCl<sub>4</sub>, 60 MHz, dérivé triméthylsilylé selon (17) : ppm échelle  $\delta$ /TMS : 3H, s 3.90 (OMe); 1H, s 6.14 (H-6); 1H, d ( $J = 8.5$  Hz) 6.85 (H-5'); 1H, d ( $J = 2.5$  Hz) 7.69 (H-2'); 1H, dd ( $J = 8.5$  et 2.5 Hz) 7.80 (H-6').

*Gossypétine* (hexahydroxy-3,3',4',5,7,8 flavone).  $R_f \times 100$  : CP AcOH-H<sub>2</sub>O (3:2) : 18; BAW (4:1:5) : 35. UV  $\lambda_{max}$  nm : MeOH—262, 278, (310), 340, 384; NaOAc—instable; NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>—272, (284), (312), 356, 410; AlCl<sub>3</sub>—289, (326), 391, 482; AlCl<sub>3</sub>/HCl—272, (310), 370, 448; NaOMe—instable.

SM (les valeurs entre parenthèses représentent l'intensité relative): 319 (37%), M<sup>+</sup> 318 (100), 317 (24), 289 (14), 169 (25), 137 (28), 109 (11) (principaux pics en valeur  $m/e$ ).

#### REFERENCES

- Jay, M., Hasan, A., Voirin, B., Favre-Bonvin, J. et Viricel, M. R. (1978) *Phytochemistry* in press.
- Gonnet, J. F. et Jay, M. (1972) *Phytochemistry* **11**, 2313.
- Bate-Smith, E. C. (1962) *J. Linn. Soc. Botany London* **58**, 95.
- Harney, P. M. et Grant, W. F. (1964) *Am. J. Botany* **51**, 621.
- Harborne, J. B. (1965) *Phytochemistry* **4**, 107.
- Harborne, J. B. (1965) *Phytochemistry* **4**, 647.
- Harborne, J. B. (1969) *Phytochemistry* **8**, 177.
- Nakaoki, T. et Morita, N. (1956) *J. Pharm. Soc. Japan* **76**, 320, 350.
- Harborne, J. B. (1971) in *Chemotaxonomy of the Leguminosae* (Harborne, J. B., Boulter, D. et Turner, B. L. eds) p. 31. Academic Press, London.
- Nielsen, J. G. (1970) *Tetrahedron Letters* 803.
- Combier, H. (1968) Thèse Doctorat de Spécialité, Lyon.
- Kingston, D. G. I. (1971) *Tetrahedron* **27**, 2691.
- Goudard, M., Favre-Bonvin, J., Lebreton, P. et Chopin, J. (1978) *Phytochemistry* **17**, 145.
- Harborne, J. B., Saleh, N. A. M. et Smith, D. M. (1978) **17**, 589.
- Jay, M., Gonnet, J. F., Wollenweber, E. et Voirin, B. (1975) *Phytochemistry* **14**, 1605.
- Audier, H. (1966) *Bull. Soc. Chim. Franc.* 2892.
- Mabry, T. J., Kagan Markham, K. R. et Thomas, M. B. (1970) *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer-Verlag, New York.

*Phytochemistry*, 1978, Vol. 17, pp. 829–830 Pergamon Press. Printed in England

## 5-O-METHYLBIOCHANIN A, A NEW ISOFLAVONE FROM *ECHINOSPARTUM HORRIDUM*

RENÉE J. GRAYER-BARKMEIJER\*, JOHN L. INGHAM\* and PAUL M. DEWICK†

\* Phytochemical Unit, Plant Science Laboratories, University of Reading, Reading RG6 2AS, England; † Department of Pharmacy, University of Nottingham, Nottingham NG7 2RD, England

(Received 30 November 1977)

**Key Word Index**—*Echinospartum horridum*; Leguminosae; Papilionoideae; Genisteae; isoflavones; phenolic compounds; chemotaxonomy; 5-methyl ether of biochanin A.

**Abstract**—Five known isoflavones (daidzein, formononetin, genistein, 5-O-methylgenistein and biochanin A) have been isolated from the leaves and stems of *Echinospartum horridum*. A sixth compound has been characterised by chemical and spectroscopic methods as the new isoflavone, 5-O-methylbiochanin A.

#### INTRODUCTION

The genus *Echinospartum* consists of 4 [1] species native to the Iberian Peninsula and southern France. The systematic position of these species is still uncertain. Originally included in *Genista*, they were later transferred to the separate genus *Echinospartum* [2, 3] and placed close to *Ulex*. Although Gibbs [4] recognized their similarity to the subgenus *Spartocarpus* of *Genista*, he maintained *Echinospartum* as a distinct genus. In contrast, Polhill [5] transferred the taxon to *Genista* regarding it as a section of the subgenus *Spartocarpus*.

A survey, using herbarium material, of flavonoids in the tribe Genisteae (Leguminosae, subfamily Papilionoideae) revealed the widespread occurrence of simple isoflavones such as daidzein (7,4'-dihydroxy- 1), genistein (5,7,4'-trihydroxy- 2) and 5-O-methylgenistein (7,4'-dihydroxy-5-methoxy- 3). Formononetin (7-hydroxy-4'-methoxyisoflavone 4) occurred less frequently in this group [6]. We have recently examined the fresh leaves of several Genisteae (including some of the species studied by Harborne [6]) and have found a wider spectrum of isoflavones than previously suspected. One plant, *Echinospartum horridum* (Vahl) Rothm., was particularly rich in isoflavones, containing in addition to compounds 1–4 substantial quantities of biochanin A (5,7-dihydroxy-4'-methoxyisoflavone 5) and its 5-O-methyl ether (6), a substance not previously reported as a natural product.

oideae) revealed the widespread occurrence of simple isoflavones such as daidzein (7,4'-dihydroxy- 1), genistein (5,7,4'-trihydroxy- 2) and 5-O-methylgenistein (7,4'-dihydroxy-5-methoxy- 3). Formononetin (7-hydroxy-4'-methoxyisoflavone 4) occurred less frequently in this group [6]. We have recently examined the fresh leaves of several Genisteae (including some of the species studied by Harborne [6]) and have found a wider spectrum of isoflavones than previously suspected. One plant, *Echinospartum horridum* (Vahl) Rothm., was particularly rich in isoflavones, containing in addition to compounds 1–4 substantial quantities of biochanin A (5,7-dihydroxy-4'-methoxyisoflavone 5) and its 5-O-methyl ether (6), a substance not previously reported as a natural product.