

## LES FLAVONOÏDES DE *DORYCNIMUM SUFFRUTICOSUM* ET DE *TETRAGONOLOBUS SILIQUOSUS* (LEGUMINOSAE)

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

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

(Reçu le 19 janvier 1978)

**Key Word Index**—*Dorycnium suffruticosum*; *Tetragonolobus siliquosus*, Leguminosae; flavonoids, syringetin; mearnsetin; 3'-methylmyricetin; sexangularetin; 5-deoxyflavonols.

### INTRODUCTION

*Dorycnium suffruticosum* et *Tetragonolobus siliquosus* sont deux représentants de la tribu des Lotae (sous-famille Lotoïdeae, famille Leguminosae). Les phytochimistes ne se sont à ce jour intéressés qu'au genre *Dorycnium* pour lequel ils rapportent l'identification de deux flavonoïdes banaux: myricétine et kaempférol [1–3]. La présente étude des deux espèces citées montre tant au plan du chimisme foliaire qu'à celui du chimisme floral des profils flavoniques particulièrement intéressants par leur importante diversité moléculaire et leur indéniable originalité.

### RESULTATS

#### Les flavonoïdes de *Dorycnium suffruticosum*.

Le matériel foliaire livre après hydrolyse chlorhydrique 6 composés; quatre d'entre eux, flavonols largement répandus dans le règne végétal, ont pu de ce fait être facilement identifiés comme: myricétine, quercétine, kaempférol et isorhamnétine. Les structures des deux autres composés majeurs ont été établies après analyses comparatives spectrophotométriques et chromatographiques, et après étude en SM et en RMN. Répondant au même type structural (dérivés méthylés de myricétine) comme en témoignent leurs caractéristiques spectrophotométriques UV, ces deux composés diffèrent par leur masse moléculaire  $m/e$  332 et  $m/e$  346 correspondant respectivement à une pentahydroxy, monométhoxy-flavone, et à une tétrahydroxy, diméthoxy-flavone, et par leur pic de fragmentation du noyau B après RDA [4]:  $m/e$  167 (noyau B dihydroxylé, monométhoxylé) et  $m/e$  181 (noyau B monohydroxylé, diméthoxylé). Les deux structures sont définitivement établies après analyse des spectres de RMN qui conduisent alors aux conclusions suivantes: (i) pour la flavone monométhylée, pentahydroxy-3,3',5,5',7 méthoxy-4' flavone ou méarnsétine, flavonol rare ayant été isolé pour la première fois chez *Acacia mearnsii* (Leguminosae, Mimosoïdeae [5]); (ii) pour la flavone diméthylée, tétrahydroxy-3,4',5,7 diméthoxy-3',5' flavone ou syringétine, flavonol isolé pour la première fois d'une autre Leguminosae-Lotoïdeae: *Lathyrus pratensis* [6] représentant de la tribu des Viciae. Ces conclusions structurales sont en outre confirmées dans le cas de la syringétine par: (i) comparaison chromatographique du produit isolé de *Dorycnium suffruticosum* avec un échantillon témoin de syringétine, et (ii) comparaison des spectres de RMN in  $C_6D_6$  des dérivés totalement méthylés de myricétine d'une part et du composé de *Dorycnium* d'autre part (il y a superposition parfaite des signaux tant dans la région des méthoxyles que dans celle des protons aromatiques).

A côté de ces six flavonoïdes majeurs, nous avons caractérisé chromatographiquement un composé présent en très faible teneur dans les feuilles: le désoxy-5 kaempférol.

Ces divers aglycones flavoniques sont présents dans le matériel végétal sous forme d'hétérosides dont les plus importants quantitativement ont pu être identifiés comme: *O*-glucosyl-3 quercétine, *O*-rhamnosyl-3 quercétine, *O*-rutinosyl-3 quercétine, *O*-rhamnosyl-3 myricétine (déjà signalée [1]), *O*-arabinosyl-3 myricétine, *O*-glucosyl-3 myricétine, *O*-rutinosyl-3 isorhamnétine.

Le matériel floral livre à l'hydrolyse six aglycones flavoniques dont cinq ont été précédemment identifiés dans les feuilles: isorhamnétine, kaempférol, quercétine, myricétine et méarnsétine. Le sixième composé répond à une structure de type kaempférol par l'ensemble de ses propriétés spectrophotométriques UV; il diffère toutefois de ce flavonol banal—par sa fluorescence plus brune, par la position du  $\lambda_{\max}$  UV de la bande I dans le MeOH (377 au lieu de 366 nm), et par un  $R_f$  supérieur dans la plupart des systèmes chromatographiques utilisés. Une importante précision structurale est fournie par SM où nous relevons un pic moléculaire situé en valeur  $m/e$  à 316 (caractéristique d'une tétrahydroxy, monométhoxy-flavone) et ne représentant en intensité relative que 75 % du pic de base qui revient à l'ion  $M-15$  ( $m/e$  301): ce résultat milite fortement en faveur d'un méthoxy-8 kaempférol [7], hypothèse confirmée d'ailleurs au vu du spectre de RMN, et des résultats de la confrontation chromatographique entre le produit isolé de *Dorycnium suffruticosum* et un échantillon témoin de méthoxy-8 kaempférol ou sexangularétine extrait de *Sedum acre* var. *sexangulare* (Crassulaceae) [8].

#### Les flavonoïdes de *Tetragonolobus siliquosus*

Les fleurs de *Tetragonolobus siliquosus* possèdent certains des flavonols déjà identifiés chez *Dorycnium suffruticosum*: myricétine, quercétine, kaempférol, isorhamnétine, désoxy-5 kaempférol et syringétine: elles sont toutefois dépourvues de méarnsétine et de sexangularétine que montraient les fleurs de *Dorycnium*: par contre, elles possèdent en propre un autre dérivé méthylé de la myricétine, voisin de la méarnsétine comme le révèle la SM, mais possédant un système *O*-dihydroxylé ( $\Delta\lambda + 18$  nm sur la bande I in NaOAc- $H_3BO_3$  par rapport au MeOH) sur le noyau B. Dans ce contexte, l'analyse du spectre de RMN conduit à l'identification de la pentahydroxy-3,4',5,5',7 méthoxy-3' flavone ou méthyl-3' myricétine, flavonol assez rare isolé pour la première fois, et identifié alors non sans ambiguïté, dans les aiguilles de *Larix laricina* [9].

Les feuilles de *Tetragonolobus siliquosus* livrent à l'hydrolyse, outre des composés banaux tels que quer-

cétine kaempférol et isorhamnétine, quatre autres flavonoïdes plus dignes d'intérêt: deux désoxy-5 flavonols (géraldol et désoxy-5 kaempférol), deux flavones (apigénine et chrysoériol).

### CONCLUSIONS

L'analyse chimique conduite sur deux représentants de la tribu des Lotae, *Tetragonolobus siliquosus* et *Dorycnium suffruticosum*, nous a permis de souligner la présence de caractères flavoniques typiques de Leguminosae comme le géraldol et le désoxy-5 kaempférol [10-12], de caractères flavoniques banaux mais atypiques pour cette famille tels que les flavonols à noyau B trisubstitué (myricétine en particulier), enfin de caractères polyphénoliques nouveaux ou rares tant pour les Leguminosae que pour l'ensemble du règne végétal comme: sexangularétine, syringétine, méarnsétine, méthyl-3' myricétine.

En outre cette généralisation des méthodes modernes d'analyse physico-chimique [13, 14] conduit à un approfondissement de notre connaissance des métabolites secondaires, polyphénoliques en particulier, pouvant avoir de réelles incidences sur la systématique. Nous en voulons pour preuve ici l'exemple fourni par les flavonols à noyau B trisubstitué; si de manière générale la trisubstitution et de manière particulière syringétine et myricétine montrent à l'évidence, au sein des Lotae, la très étroite parenté de *Dorycnium* et de *Tetragonolobus*, il est à souligner que cette même trisubstitution au niveau de ses représentants méthyl-4' et méthyl-3' myricétine permet de différencier leurs espèces respectives.

### PARTIE EXPERIMENTALE

*Dorycnium suffruticosum* Vill. a été récolté dans la région de Montélimar (France); *Tetragonolobus siliquosus* Roth. a été cueilli dans trois stations françaises différentes: (i) environs de Lyon (alluvions du Rhône), (ii) environs de Gap (berges d'un ruisseau serjetant dans la Durance), et (iii) environs de Briançon (zone marécageuse d'une pineraie).

L'étude des aglycones flavoniques a été conduite selon la technique du laboratoire [14, 15]; les trois échantillons de *Tetragonolobus siliquosus* ont révélé le même profil polyphénolique.

Pour les hétérosides, isolement et purification ont été réalisés en CP bidimensionnelle [B.A.W. (4:1:5) première dimension, AcOH-H<sub>2</sub>O (3:2) deuxième dimension] avec ultime purification sur colonne de polyamide en utilisant comme solvant d'élution un mélange en proportions variables de MeOH et de H<sub>2</sub>O. La position des sucres est déterminée par spectrophotométrie UV en présence de réactifs [16]; quant à la nature de l'aglycone et des sucres, elle est établie après hydrolyse chlorhydrique, par CCM de polyamide 11F254 Merck (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>-MeCOEt-MeOH = 4:3:3) pour l'aglycone, et par CPG selon la technique de Swelley *et al* [17] pour les sucres (Gas Chrome Q 80-100 imprégné de SE 52 à 5%). Les identifications d'hétérosides sont confirmées par cochromatographie avec des composés de référence dans les divers systèmes solvants classiques [18].

*Tétrahydroxy-3,4',5,7 diméthoxy-3',5' flavone* (syringétine).  $R_f \times 100$ : CP: AcOH-H<sub>2</sub>O, 6:4 = 42, B.A.W./4.1.5. = 73, AcOH-H<sub>2</sub>O-HCl, 30:10:3 = 59. CCM polyamide 11F254 Merck: C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>-MeCOEt-MeOH, 4:3:3 = 50. UV  $\lambda_{\max}$  nm: MeOH—252, (268), (306), 374; NaOAc—(252), 276, 320, 397; NaOAc-H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>—252, (270), 377; AlCl<sub>3</sub>—264, (276), (310), (366), 434; AlCl<sub>3</sub>-HCl—264, (276), (310), (368), 434; NaOMe—instable. RMN: CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz; dérivé acétylé (Py/

(CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O, 24 h, temp. ambiante; purification sur gel Si avec élution par CHCl<sub>3</sub>); déplacements chimiques (échelle  $\delta$ /TMS): 9H,  $s$  2.34 ppm (trois—OAc); 3H,  $s$  2.40 ppm (—OAc); 6H,  $s$  3.86 ppm (deux—OMe); 1H,  $d$  ( $J$  = 2.5 Hz) 6.85 ppm (H-6); 2H,  $s$ , 7.01 ppm (H-2', H-6'); 1H,  $d$  ( $J$  = 2.5 Hz) 7.32 ppm (H-8), SM (les valeurs entre parenthèses représentent les intensités relatives): 347 (15%), M<sup>+</sup> 346 (100), 300 (17), 138 (14). SM du dérivé acétylé (principaux pics): 472 (M-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O), 430 (M-2 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O), 388 (M-3C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O), 346 (M-4C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O) (100%), 317 (30), 300 (17), 181 (10).

*Myricétine et syringétine méthylés par le diazométhane*. RMN: C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, 100 MHz: 3H,  $s$  3.22 ppm (—OMe); 3H,  $s$  3.39 ppm (—OMe); 6H,  $s$  3.50 ppm (deux—OMe); 6H,  $s$  3.87 ppm (deux—OMe); 1H,  $d$  ( $J$  = 2.5 Hz) 6.16 ppm (H-6); 1H,  $d$  ( $J$  = 2.5 Hz) 6.34 ppm (H-8); 2H,  $s$  7.40 ppm (H-2', H-6').

*Pentahydroxy-3,4',5,5',7 méthoxy-3' flavone*.  $R_f \times 100$ : CP: AcOH-H<sub>2</sub>O, 6:4 = 32; B.A.W./4.1.5. = 60; AcOH-H<sub>2</sub>O-HCl, 30:10:3 = 40; CCM polyamide 11F254 Merck: C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>-MeCOEt-MeOH, 4:3:3 = 25. UV  $\lambda_{\max}$  nm: MeOH—254, (268), (304), 374; NaOAc—(254), 274, 326, 392; NaOAc-H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>—256, 390; AlCl<sub>3</sub>—270, (310), (350), 454; AlCl<sub>3</sub>-HCl—264, (274), (310), (368), 434; NaOMe—instable. RMN: CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz; dérivé acétylé: 12H,  $s$  2.32 ppm (quatre—OAc); 3H,  $s$  2.42 ppm (—OAc); 3H,  $s$  3.89 ppm (—OMe); 1H,  $d$  ( $J$  = 2.5 Hz) 6.85 ppm (H-6); 2H,  $s$  large 7.26 ppm (H-2', H-6'); 1H,  $d$  ( $J$  = 2.5 Hz) 7.32 ppm (H-8) SM: 333 (20%), M<sup>+</sup> 332 (100), 331 (10), 303 (10), 286 (10), 153 (15), 136 (23).

*Pentahydroxy-3,3',5,5',7 méthoxy-4' flavone* (méarnsétine).  $R_f \times 100$ : CP: AcOH-H<sub>2</sub>O, 6:4 = 44; B.A.W./4.1.5. = 80; CCM polyamide 11F254 Merck: C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>-MeCOEt-MeOH, 4:3:3 = 35. UV  $\lambda_{\max}$  nm: MeOH—260, (320), 366; NaOAc—277, 310, 380; NaOAc-H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>—264, 369; AlCl<sub>3</sub>—271, (310), 350, 427; AlCl<sub>3</sub>-HCl—271, (310), 350, 425; NaOMe—276, 318, 406. RMN: (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 100 MHz: 3H,  $s$  3.98 ppm (—OMe); 1H,  $d$  ( $J$  = 2.5 Hz) 6.31 ppm (H-6); 1H,  $d$  ( $J$  = 2.5 Hz) 6.66 ppm (H-8); 2H,  $s$  7.48 ppm (H-2', H-6'). SM: 333 (20%), M<sup>+</sup> 332 (100) (332.0531 trouv., 332.0532 calc. pour C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>8</sub>), 317 (46).

*Tétrahydroxy-3,4',5,7 méthoxy-8 flavone* (sexangularétine).  $R_f \times 100$ : CP: AcOH-H<sub>2</sub>O, 6:4 = 50; B.A.W./4.1.5. = 84; CCM polyamide 11F254 Merck: C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>-MeCOEt-MeOH, 4:3:3 = 50. UV  $\lambda_{\max}$  nm: MeOH—(254), 272, 324, 374; NaOAc—281, 312, 404; NaOAc-H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>—(254), 274, 312, 378; AlCl<sub>3</sub>—273, 313, 357, 435; AlCl<sub>3</sub>-HCl—272, 310, 356, 436; NaOMe—294, 330, 430 instable. RMN: (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 100 MHz: 3H,  $s$  3.95 ppm (—OMe); 1H,  $s$  6.36 ppm (H-6); 2H,  $dd$  ( $J$  = 2.5 et 8.5 Hz) 7.11 ppm (H-3', H-5'); 2H,  $dd$  ( $J$  = 2.5 et 8.5 Hz) 8.29 ppm (H-2', H-6'). SM: 317 (16%), M<sup>+</sup> 316 (75), 302 (25), 301 (100), 273 (16), 139 (28), 121 (26).

*Remerciements*—Nous remercions le Dr. J. B. Harborne pour la fourniture d'un échantillon de syringétine, M. Petiaud pour l'enregistrement des spectres de RMN, et M. Falk pour son aide dans la récolte du matériel.

### BIBLIOGRAPHIE

1. Paris, R. et Stambouli, A. (1959) *Compt. Rend.* **249**, 2395.
2. Paris, R. et Stambouli, A. (1960) *Ann. Pharm. Franc.* **18**, 368.
3. Bandyukova, V. A. (1968) *Rastitel'n Resur.* **4**, 97.
4. Audier, H. (1966) *Bull. Soc. Chim. Franc.* **2892**.
5. McKenzie, A. M. (1967) *Tetrahedron Lett.* **2519**.
6. Harborne, J. B. (1965) *Phytochemistry* **4**, 647.
7. Goudard, M. (1976) Thèse de Doctorat de Spécialité, Lyon.
8. Combier, H., Markham, K., Audier, H., Lebreton, P., Mabry, T. J. et Jay, M. (1968) *Compt. Rend.* **266**, 2495.
9. Niemann, C. J. (1972) *Acta Bot. Néerl.* **21**, 549.
10. Jay, M., Lebreton, P. et Letoublon, R. (1971) *Boissiera* **19**, 219.
11. Harborne, J. B., Boulter, D. et Turner, B. L. (1971) *Chemotaxonomy of the Leguminosae*, p. 31. Academic Press, London.
12. Gonnet, J. F. (1974) Thèse de Doctorat de Spécialité, Lyon.
13. Mabry, T. J., Markham, K. et Thomas, M. B. (1970) *The*

- Systematic Identification of Flavonoids*. Springer, New York.
14. Jay, M., Gonnet, J. F., Wollenweber, E. et Voirin, B. (1975) *Phytochemistry* **14**, 1605.
  15. Lebreton, P., Jay, M. et Voirin, B. (1967) *Chim. Anal. Franç.* **49**, 376.
  16. Jurd, L. (1962) *The Chemistry of Flavonoid Compounds* (Geissman, T. A., ed.), p. 107. Pergamon Press, Oxford.
  17. Swelley, C. C., Bentley, R., Makita, M. et Wells, W. W. (1963) *J. Amer. Chem. Soc.* **85**, 2491.
  18. Harborne, J. B. (1967) *Comparative Biochemistry of the Flavonoids*. Academic Press, London.