

C-7 de la flavone. En conclusion le flavonoïde isolé de cette deuxième fraction de colonne s'identifie à la di-C- α -L-arabinopyranosyl 6,8 genkwanine, nouveau composé naturel pour lequel nous proposons le nom de almeideïne.

PARTIE EXPERIMENTALE

300 g d'écorces de tiges d'*Almeidea guyanensis* Pulle récoltées en Guyane sont épuisées par MeOH. L'extrait méthanolique est passé sur colonne d'Amberlite XAD-2 et les flavonoides élués par l'eau ammoniacale à 5%; après neutralisation de la phase ammoniacale, la soln est passée de nouveau sur Amberlite XAD-2 avec élution par MeOH. La soln méthanolique de flavonoides est évaporée à sec et le résidu repris par 300 ml H₂O bouillante. La phase aq. après épuisement par Et₂O puis par EtOAc, est fixée à nouveau sur Amberlite XAD-2; la colonne est abondamment lavée avec H₂O puis les flavonoides sont élués par MeOH. Cette soln purifiée de flavonoides est chromatographiée sur colonne de gel de silice (70–230 mesh) avec comme solvant d'élution le mélange CHCl₃–MeOH–H₂O 65:25:4. Après contrôle CP, deux lots de fractions sont conservés; ils livrent chacun quelques dizaines de mg d'un composé cristallisé. La technique de perméthylation a été décrite antérieurement [4]. Les hydrolyses acides sont réalisées avec HCl 2N à 100° pendant 2 hr. L'identification du glucose est effectuée par CPG selon la technique de Swelley *et al.* [8]: Gas Chrome Q 80–100 imprégné de SE52 à 5%. Les dérivés PM et leurs produits d'hydrolyse sont purifiés par CCM sur gel de silice avec les mélanges solvants suivants: CHCl₃–EtOAc–Me₂CO (5:1:4) et (5:4:1). Les SM sont enregistrés sur un appareil AEI MS 902 à 70 eV, la température variant entre 150 et 190°.

O-glucosyl-2'' C-arabinosyl-6 genkwanine. UV $\lambda_{\max}$ nm: MeOH-274, 336; NaOAc-270, 390; AlCl₃ et AlCl₃ + HCl-282, 302, 350, 382; NaOMe-270, 390 stable et sans diminution d'intensité de la bande I. $R_f \times 100$: CP AcOH 15% = 72; CCM gel Si, EtOAc–Py–H₂O–MeOH, 80:12:10:5 = 21. SM produit naturel (principaux pics m/e (%)) 298 (100%) 297 (100%) 269 (21) 268 (25) 267 (17) 179 (47) 121 (25) 118 (12). SM du dérivé PM: M^+ 690 (1%), 515 (7), 501 (6), 485 (1), 471 (26), 455 (100), 423 (8), 355 (6), 341 (60). SM du dérivé PM après hydrolyse chlorhydrique (penta-OMe-

5,7,4',3',4'' isovitexine) M^+ 472 (40%) 457 (8), 455 (14), 441 (13), 425 (32), 413 (25) 411 (65), 409 (10), 355 (10), 341 (100), 327 (65), 311 (40). SM de la PM C-arabinosyl-6 genkwanine: M^+ 486 (24%), 471 (18), 455 (82), 439 (13), 427 (6), 425 (10), 397 (7), 395 (7), 367 (13), 355 (100), 341 (47), 325 (10), 323 (7), 311 (15).

O-glucosyl-2'' C-arabinosyl-8 genkwanine Ce composé n'a pas été isolé mais seulement caractérisé, chromatographiquement au sein du mélange. Son 'aglycone' a été élué de CCM sur gel de silice au stade penta OMe-5,7,4',3',4'' vitexine dont la méthylation ultérieure a donné la PM C-arabinosyl-8 genkwanine chromatographiquement identique à la PM molludisine. SM M^+ 486 (100%) 395 (14), 369 (10), 355 (90), 341 (64), 325 (10), 311 (10).

Di-C-arabinosyl-6,8 genkwanine (almeideïne). UV $\lambda_{\max}$ nm: MeOH-272, 336; NaOAc: (256), (268), 398; AlCl₃ et AlCl₃ + HCl-276, 304, 386; NaOMe-254, 279, 396 stable et sans diminution d'intensité de la bande I. $R_f \times 100$: CP AcOH 15% = 57; CCM gel Si EtOAc–Py–H₂O–MeOH, 80:12:10:5 = 19. SM du dérivé PM: M^+ 660 (10%), 645 (17), 629 (100), 613 (9), 599 (16), 541 (28), 529 (44), 515 (24), 499 (6), 497 (8). SM du dérivé TMS: M^+ 1124 (3%), 1109 (100), 917 (40), 885 (50), 789 (34).

BIBLIOGRAPHIE

1. Bouillant, M. L., Besset, A., Favre-Bonvin, J. et Chopin, J. (1978) *Phytochemistry* **17**, 527.
2. Chopin, J., Biol, M. C. et Bouillant, M. L. (1972) *C. R.* **274**, 1840.
3. Jurd, L. (1962) *The Chemistry of Flavonoid Compounds* (Geissman, T. A., ed.) p. 107. Pergamon Press, Oxford.
4. Bouillant, M. L., Favre-Bonvin, J. et Chopin, J. (1975) *Phytochemistry* **14** 2267.
5. Chopin, J., Bouillant, M. L., Ramachandran Nair, A. G., Ramesh, P. et Mabry, T. J. (1978) *Phytochemistry* **17**, 299.
6. Besson, E. (1977) Thèse de Doctorat de 3ème cycle, No. 655, Lyon.
7. Chopin, J. et Bouillant, M. L. (1970) *C. R.* **270**, 331.
8. Swelley, C. C., Bentley, R., Makita, M. et Wells, W. W. (1963) *J. Am. Chem. Soc.* **85**, 2491.

5,3',4'-TRIHYDROXY-6,7,8-TRIMETHOXYFLAVONE FROM *SIDERITIS LEUCANTHA*

FRANCISCO TOMAS*, FEDERICO FERRERES* and ANTONIO GUIRADO†

Centro de Edafología Biología Aplicada del Segura, C.S.I.C. Avda, 18 de Julio no. 1, Murcia, Spain and †Departamento de Química Orgánica, Universidad de Murcia, Spain

(Received 19 June 1978)

Key Word Index—*Sideritis leucantha*; Labiatae; 5,3',4'-trihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone.

From the whole plant of *Sideritis leucantha* Cavanilles, we have now isolated and identified two flavonoids: 5,4'-dihydroxy-6,7,8,3'-tetramethoxyflavone, recently found in *S. mugronensis* [1], and 5,3',4'-trihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone, a new natural substance. The new flavone was identified by UV, NMR, MS spectra and TLC of its methyl derivative.

Free hydroxyls in 5,3' and 4' were identified by UV

[2], as was the presence of substituents in 6 and/or 8 in the flavone nucleus [3]. Nobiletin was obtained by permethylation, verified by TLC with an authentic sample and by its MS spectra. A triacetate was obtained by peracetylation; its MS spectra is in accordance with expectations. In the MS of the new flavone, peaks of m/e appeared at: 360 (M^+) (65) and 345 (M^+-15) (100); 211 (40) and 183 (35), which showed the structure of ring

A [4]; 137(23) and 134(20), in accordance with the structure assigned to ring B, due to retro-Diels-Alder partial fragmentation.

EXPERIMENTAL

Extraction and purification. 0.5 kg of the plant were pulverized and percolated with MeOH. The extract was concd to 0.5 l. and purified with trichloroethylene. The methanolic extract was taken to dryness. The dried extract was dissolved in a small vol. of MeOH and chromatographed on 3MM paper, in 15% HOAc for 14 hr. All the bands were eluted with MeOH, concd and re-run in EtOAc-HCO₂H-H₂O (10:2:3), the band with R_f 0.91 being eluted. Final re-run was in 30% HOAc, the band with R_f 0.59 being eluted. The final eluate was treated by TLC with Si gel 60 with C₆H₆-MeOH-HOAc (45:3:2), giving 2 bands with R_f 0.15 (A) and 0.65 (B). By means of TLC on Si gel 60, they were successively purified in CHCl₃-EtOAc-Me₂CO (5:4:1), C₆H₆-EtOAc-Me₂CO (5:4:1) and C₆H₆-MeOH-Me₂CO (45:3:2). Yield: A: 34 mg; B: 22 mg.

Identification. A and B by permethylation with MeI, yielded nobiletin. MS (70 eV direct inlet) m/e 402 (M⁺). By TLC with Si gel, both PM ethers and pure nobiletin showed identical R_f s in 4 solvents. Substance B was identical by TLC with an authentic sample of 5,4'-dihydroxy-6,7,8,3'-tetramethoxyflavone.

Substance A. Mp 196–8°. UV λ_{max} nm: MeOH, 348, 278, 256; NaOMe, 408, 268; AlCl₃, 435, 340 sh, 306 sh, 277; AlCl₃/HCl, 364, 304, 286, 262; NaOAc, 410, 268. NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 3.84, 3.92, 4.02 (s, 3H each, 6-, 7-, 8-OMe), 6.54 (s, 3-H), 6.98 (d, J = 8 Hz, 5'-H), 7.40 (d, J = 2 Hz, 2'-H), 7.48 (q, J = 8 and

2 Hz, 6'-H). MS (70 eV direct inlet) m/e : 360 (M⁺) (65), 345 (M-15) (100), 211 (40), 183 (35), 137 (23), 134 (20); Triacetate: 486 (M⁺), 475 (M-15), 444, 402, 360, 345, 211, 183; Permethylether: 402 (M⁺), 387 (M-15).

Substance B. Mp 162–4°. UV λ_{max} nm: MeOH, 344, 279, 254; NaOMe, 410, 266; AlCl₃, 366, 305 sh, 286, 255 sh; AlCl₃/HCl, 360, 305 sh, 286, 255 sh; NaOAc, 412, 266. MS (70 eV direct inlet) m/e : 374 (M⁺) (49), 359 (M-15) (100), 211 (29), 183 (35); Diacetate: 458 (M⁺), 443 (M-15), 416, 374, 359, 211, 183; Permethylether: 402 (M⁺), 387 (M-15).

Acknowledgements—The authors are indebted to: Dr. B. Rodríguez (Instituto de Química Orgánica C.S.I.C., Madrid) for supplying nobiletin and 5,4'-dihydroxy-6,7,8,3'-tetramethoxyflavone, and Prof. A. Hernández (Departamento de Botánica, Universidad de Murcia) for the identification of the plant material. MS spectra were registered by courtesy of Prof. F. Barba (Departamento de Química Orgánica, Universidad de Murcia).

REFERENCES

- Rodríguez, B. (1977) *Phytochemistry* **16**, 800.
- Mabry, T. J., Markham, K. R. and Thomas, M. B. (1970) *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer, New York.
- Tomás, F., Pastor, R. and Carpena, O. (1976) *Anal. Quim.* **72**, 809.
- Rama Rao, A. V. and Venkataraman, K. (1968) *Indian J. Chem.* **6**, 677.

DIFFERENTIATION DES HYDROXY-5 DIMETHOXY-6,7 OU 7,8 ET DES TRIMÉTHOXY-5,6,7 OU 5,7,8 FLAVONES PAR SPECTROMETRIE DE MASSE

MICHEL GOUDARD*, JEAN FAVRE-BONVIN†, JANOS STRELISKY‡, MIHAIL NOGRADI‡ et JEAN CHOPIN*

*Laboratoire de Chimie Biologique et †Laboratoire de Phytochimie. Université Claude Bernard (Lyon I), 69621 Villeurbanne, France et ‡Institut de Chimie organique, Université technique, Budapest XI, Hungary

(Reçu le 12 juin 1978)

Key Word Index—MS fragmentation; 5-hydroxy-6,7- or 7,8-dimethoxyflavones; 5,6,7- or 5,7,8-trimethoxyflavones.

Abstract—The relative abundance of M and M-15 peaks in the mass spectrum allows the differentiation of 5-hydroxy-6,7-dimethoxy- and 5,7,8-trimethoxyflavones (M > M-15) from 5-hydroxy-7,8-dimethoxy and 5,6,7-trimethoxyflavones (M < M-15) respectively, thus affording a solution to the 5,6,7- or 5,7,8-orientation problem on a microscale.

De nombreux dérivés O-méthylés de trihydroxy-5,6,7 et 5,7,8 flavones et flavonols diversement substitués sur le noyau B ont été mis en évidence dans les extraits végétaux. Le choix entre isomères 5, 6, 7 et 5, 7, 8 dans la détermination de structure est parfois délicat lorsque les deux isomères ou leurs dérivés perméthylés ne sont pas disponibles pour comparaison.

Nous avons montré dans une précédente publication l'intérêt de la spectrométrie de masse pour la différenciation des dihydroxy-5,7 méthoxy-6 ou 8 flavones, flavonols et méthyl-3 flavonols, les isomères méthoxy-6 présentant

un pic M-18 supérieur à 10% et un pic moléculaire supérieur au pic M-15 à l'inverse des isomères méthoxy-8 [1].

Nous avons pu depuis étendre nos investigations aux dérivés diméthylés en 6, 7 ou 7, 8 et aux dérivés triméthylés en 5, 6, 7 ou 5, 7, 8. Comme le montre le Tableau I, les spectres de masse des hydroxy-5 diméthoxy-6,7 flavones, flavonols et méthyl-3 flavonols présentent eux aussi un pic moléculaire (pic de base) supérieur au pic M-15. Cependant, le pic M-18 présente une importance très variable (1 à 25%) suivant les substituants présents