

# CORYMBOSIDE, NOUVELLE DI-C-GLYCOSYLFLAVONE DES RACINES DE *CARLINA CORYMBOSA*

ELISABETH BESSON\*, ALAIN DOMBRIS†, JEAN RAYNAUD† et JEAN CHOPIN\*

\* Laboratoire de Chimie biologique, Université Claude Bernard (Lyon I), 69621 Villeurbanne, France;

† Laboratoire de Botanique et de Biologie Cellulaire, Faculté de Pharmacie, Université Claude Bernard (Lyon I), 69373 Lyon Cedex 2, France

(Reçu le 20 avril 1979)

**Key Word Index**—*Carlina corymbosa*; Compositae; di-C-glycosylflavone; corymboside; 6-C- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-8-C- $\beta$ -D-galactopyranosylapigénine;  $^{13}\text{C}$  NMR.

**Abstract**—Corymboside, a new di-C-glycosylflavone from *Carlina corymbosa* roots, was shown to be 6-C- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-8-C- $\beta$ -D-galactopyranosylapigénine by MS, CD,  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR.

Dans le cadre d'une étude systématique des flavonoïdes du genre *Carlina* (Compositae), l'un de nous [1] a isolé à partir des racines de *Carlina corymbosa* L. une nouvelle di-C-glycosylflavone: le corymboside. Nous montrons dans la présente note que le corymboside est la C- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-6 C- $\beta$ -D-galactopyranosyl-8 apigénine c'est-à-dire l'isomère Wessely-Moser du composé S isolé de *Polygonatum multiflorum* [2], lequel pourrait donc recevoir le nom d'isocorymboside.

Le corymboside se présente sous la forme d'un solide jaune optiquement actif qui présente le spectre UV et les déplacements caractéristiques de l'apigénine [3], mais dont les propriétés chromatographiques sont celles d'un glycoside. L'hydrolyse acide ne libérant aucun sucre, il s'agit d'un C-glycoside, ce qui se trouve confirmé par le spectre de masse du dérivé perméthylé qui est celui d'une perméthyl di-C-glycosyl-6,8 flavone. Le pic moléculaire  $\text{M}^+ 704$  correspond à une perméthyl C-pentosyl C-hexosylapigénine et l'importance relative des pics  $\text{M} - 131$  et  $\text{M} - 175$  montre que le pentose est en position 6. De plus l'importance relative des pics  $\text{M} - 131 > \text{M} - 119 > \text{M} - 145$  est en faveur d'une structure C-arabinosyl-6 [4]. Cependant le perméthylcorymboside présente un comportement chromatographique différent de celui du dérivé perméthylé de l'isoschaftoside (C- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-6 C- $\beta$ -D-glucopyranosyl-8 apigénine) [5]. De même le corymboside se différencie de l'isoschaftoside dans des conditions chromatographiques qui permettent la séparation des C-glucosyl et C-galactosylapigénines [6], ce qui suggère pour le corymboside une structure de C-arabinosyl-6 C-galactosyl-8 apigénine. Or la structure de C- $\beta$ -D-galactopyranosyl-6 C- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-8 apigénine a récemment été établie pour le composé S isolé de *Polygonatum multiflorum* [2].

notamment à l'aide de la RMN du  $^{13}\text{C}$ . Nous avons donc soumis le corymboside à un chauffage en milieu acide afin de provoquer son isomérisation de Wessely-Moser en C-galactosyl-6 C-arabinosyl-8 apigénine. Par chromatographie du mélange obtenu, nous avons pu isoler un produit présentant le même comportement chromatographique que le composé S et dont le dérivé perméthylé présente également le même comportement chromatographique et le même spectre de masse que le dérivé perméthylé du composé S. De plus le perméthyl corymboside lui-même présente le même comportement chromatographique que PMS', le dérivé perméthylé du composé S' accompagnant en très faible quantité le composé S dans *Polygonatum multiflorum* [2].

L'identité des sucres présents dans le corymboside et le composé S a ensuite été confirmée par la comparaison des spectres de RMN du  $^{13}\text{C}$  des deux substances. On retrouve en effet dans les deux spectres les pics observés entre 60 et 100 ppm d'une part dans le spectre de la molludistine (C- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-8 O-méthyl-7 apigénine) [7] et d'autre part dans le spectre de la C- $\beta$ -D-galactopyranosyl-8 apigénine ([8]; Chari, V. M., communication personnelle) (Tableau 1).

Ces résultats sont en accord avec les spectres de RMN du  $^1\text{H}$  des dérivés perdeutérométhylés du composé S et du corymboside dans lesquels les protons anomères apparaissent sous forme de doublets avec des constantes de couplage de 10 et 9 Hz qui ne sont compatibles qu'avec des structures pyranoses dans lesquelles  $\text{H}_1$  et  $\text{H}_2$  sont en position *trans*-diaxiale. Le présence de rotamères est attestée par le fait que chaque proton anomère est dédoublé; ce phénomène avait déjà été observé avec les dérivés perdeutérométhylés du schaftoside et de l'isoschaftoside (Besson, E., résultats non publiés).

Tableau 1. Spectres de RMN du  $^{13}\text{C}$  de C-glycosylflavones

	$\delta_{\text{TMS}}$ des atomes de carbone glycosidiques								
Composé S*	79.4	75.0	74.8	74.0	71.0	69.5	69.1	68.9	61.1
Corymboside*	79.9	75.3	74.4	—	70.2	—	69.0	68.8	61.1
Molludistine†	—	—	74.9	74.0	71.1	—	68.9	67.9	—
Galactosyl-8 apigénine*	80.5	75.4	—	73.9	—	—	69.1	68.5	61.3

\* 90°.

† t. ord.

Ces résultats sont également en accord avec la similitude des courbes de dichroïsme circulaire du corymboside et de l'isoschaftoside dans lesquelles le groupement C- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-6 contribue à la forte ellipticité moléculaire positive observée vers 279 nm [9]. On peut en conclure que le corymboside est la C- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-6 C- $\beta$ -D-galactopyranosyl-8 apigénine, deuxième exemple naturel d'une di-C-glycosyl-6,8 flavone contenant du galactose.

#### PARTIE EXPÉRIMENTALE

Les spectres de  $^1\text{H}$  RMN ont été enregistrés sur un appareil CAMECA (250 MHz) à t. ord., les spectres de  $^{13}\text{C}$  RMN sur Varian FT-XL 100 (25,2 MHz) à 90° ou à t. ord., les spectres de masse sur AEI MS-902 (70 eV). Perméthylations et purification des dérivés perméthylés (PM) selon [4].

**Plante.** *Carlina corymbosa* L. (échantillon déposé au Laboratoire de Botanique de la Faculté de Pharmacie de Lyon) récoltée à Saint-Paul Trois Châteaux, Drôme, en juillet 1977.

**Isolement.** 350 g de poudre de racine séchée à l'air sont extraits successivement par  $\text{CHCl}_3$  (1 l.) et MeOH 60% ( $2 \times 1$  l.). Les extraits méthanoliques sont évaporés à sec et repris par 300 ml d'eau bouillante. Après filtration, la solution est extraite par  $\text{Et}_2\text{O}$ , EtOAc et *n*-BuOH. Seule la phase butanolique contient un flavonoïde apparaissant sous forme de tache sombre en UV. Le produit est purifié per CPP (Whatman 3) dans BAW (4:1:5) et HOAc 15% alternativement.

**Corymboside.** Poudre jaune se décomposant sans fondre:  $[\alpha]_D^{25} + 79^\circ$  ( $\text{H}_2\text{O}$ ,  $c$  6,7 g/l); DC (MeOH)  $[\theta]_{274}^{25} + 10300$ ,  $[\theta]_{250}^{25} - 5950$ , isoschaftoside:  $[\theta]_{272}^{25} + 17300$ ,  $[\theta]_{250}^{25} - 5650$  [g]; UV  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$  nm: 274 (4,24), 336 (4,24); +  $\text{AlCl}_3$  283, 306, 352, 385; +  $\text{AlCl}_3$  + HCl 283, 306, 350, 385; + NaOAc 284, 388; + NaOH 281, 399;  $^{13}\text{C}$  RMN ( $d_6$ -DMSO) 90°:  $\delta_{\text{TMS}}$  181,7 (C-4), 163,7 (C-2), 160,7 (C-7, C-4'), 158,0 (C-9), 154,4 (C-5), 128,5 (C-2', 6'), 121,4 (C-1'), 116,0 (C-3', 5'), 108,3 (C-6), 104,2 (C-8), 103,8 (C-10), 101,9 (C-3), C des sucres: voir Tableau 1; composé S: 182,0 (C-4), 164,2 (C-2), 161,2 (C-7), 161,0 (C-4'), 158,7 (C-9), 154,8 (C-5), 129,0 (C-2', 6'), 121,4 (C-1'), 116,0 (C-3', 5'), 108,4 (C-6), 104,6 (C-8), 103,7 (C-10), 102,4 (C-3), C des sucres: voir Tableau 1; CP (Whatman No. 1)  $R_f$  0,16 (BAW 4:1:5), 0,54 (15% HOAc); CCM (Si gel activé)  $R_f$  0,25 (EtOAc-Py- $\text{H}_2\text{O}$ -MeOH 80:12:10:5), isoschaftoside: 0,29. La perméthylation du corymboside et de la CCM du produit sur Si gel dans  $\text{CHCl}_3$ -EtOAc-Me $_2\text{CO}$  (5:4:1) conduit à une bande  $R_f$  0,15 (PM isoschaftoside 0,19) présentant le SM d'une PM C-arabinosyl-6 C-hexosyl-8 apigénine:  $m/e$  704 ( $M^+$ , 17%), 689 ( $M - 15$ , 25%), 673 ( $M - 31$ , 100%), 585 ( $M - 119$ , 25%), 573 ( $M - 131$ , 30%), 559 ( $M - 145$ , 14%), 541 ( $M - 163$ , 11%), 529 ( $M - 175$ , 19%), 515 ( $M - 189$ , 5%).

**Perdeutériométhyl corymboside.** SM ( $m/e$ ) 734 ( $M^+$ , 25%), 716 ( $M - 18$ , 28%), 700 ( $M - 34$ , 100%), 608 ( $M - 126$ , 28%), 597 ( $M - 137$ , 44%), 580 ( $M - 154$ , 17%), 561 ( $M - 173$ , 13%), 550 ( $M - 184$ , 25%), 533 ( $M - 201$ , 10%);  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{TMS}}$  8,09 ( $d$ ,  $J = 9$  Hz, H-2', 6'); 6,97 ( $d$ ,  $J = 9$  Hz, H-3', 5'); 6,61 ( $s$ , H-3); 4,73 ( $d$ ,  $J = 10$  Hz), 4,69 ( $d$ ,  $J = 10$  Hz), 4,58 ( $d$ ,  $J = 9$  Hz), 4,49 ( $d$ ,  $J = 9$  Hz, H-1'' et H-1'''). PDM isoschaftoside:

8,03 ( $d$ ,  $J = 9$  Hz, H-2', 6'); 6,99 ( $d$ ,  $J = 9$  Hz, H-3', 5'); 6,58 ( $s$ , H-3); 4,80 ( $d$ ,  $J = 10$  Hz), 4,71 ( $d$ ,  $J = 10$  Hz), 4,58 ( $d$ ,  $J = 9$  Hz), 4,50 ( $d$ ,  $J = 9$  Hz, H-1'' et H-1''').

**Isomérisation acide du corymboside.** Après 1 hr de chauffage à 100 dans MeOH-HCl 4 N (1:1), la CP-2D dans BAW (4:1:5) et 2% HOAc fait apparaître une nouvelle tache  $H_1$  de même  $R_f$  que le corymboside  $H_2$  dans BAW, mais de  $R_f$  beaucoup plus faible dans HOAc. Cependant la CPP dans 2% HOAc à front perdu fait apparaître trois bandes dont l'une  $H_3$  présente un  $R_f$  légèrement supérieur à celui du corymboside  $H_2$ . Après perméthylation des éluats, on obtient trois dérivés perméthylés PM  $H_1$ , PM  $H_2$  et PM  $H_3$ . PM  $H_1$  présente un SM de PM C-pentosyl-6 C-hexosyl-8 apigénine:  $m/e$  704 ( $M^+$ , 10%), 689 ( $M - 15$ , 12%), 673 ( $M - 31$ , 47%), 585 ( $M - 119$ , 13%), 573 ( $M - 131$ , 22%), 559 ( $M - 145$ , 13%), 541 ( $M - 163$ , 8%), 529 ( $M - 175$ , 17%), perturbé par des pics très importants à 530 (39%), 516 (100%), 515 (52%), 502 (40%) et 499 (44%) d'origine indéterminée. PM  $H_2$  présente le même SM et le même  $R_f$  0,12 dans  $\text{CHCl}_3$ -EtOAc-Me $_2\text{CO}$  (5:4:1) que le perméthylcorymboside et que le dérivé perméthylé (PMS') du composé S' de *Polygonatum multiflorum* [2]. PM  $H_3$  présente un SM de PM C-hexosyl-6 C-pentosyl-8 apigénine:  $m/e$  704 ( $M^+$ , 21%), 689 ( $M - 15$ , 41%), 673 ( $M - 31$ , 100%), 599 ( $M - 105$ , 17%), 585 ( $M - 119$ , 10%), 573 ( $M - 131$ , 17%), 559 ( $M - 145$ , 8%), 541 ( $M - 163$ , 44%), 529 ( $M - 175$ , 79%), 515 ( $M - 189$ , 89%) et le même  $R_f$  0,14 que le dérivé perméthylé du composé S de *Polygonatum multiflorum* [2].

**Remerciements.**—Nous remercions V. M. Chari pour la communication du spectre de  $^{13}\text{C}$  RMN de la C-galactosyl-8 apigénine et W. Gaffield pour les mesures de dichroïsme circulaire.

#### RÉFÉRENCES

- Dombris, A. (1978) Thèse de doctorat d'Université en Pharmacie, Lyon.
- Chopin, J., Dellamonica, G., Besson, E., Skrzypczakowa, L., Budzianowski, J. et Mabry, T. J. (1977) *Phytochemistry* **16**, 1999.
- Mabry, T. J., Markham, K. R. et Thomas, M. B. (1970) *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer, New York.
- Bouillant, M. L., Favre-Bonvin, J. et Chopin, J. (1975) *Phytochemistry* **14**, 2267.
- Chopin, J., Bouillant, M. L., Wagner, H. et Galle, K. (1974) *Phytochemistry* **13**, 2583.
- Chopin, J. et Bouillant, M. L. (1975) in *The Flavonoids* (Harborne, J. B., Mabry, T. J. et Mabry, H. E., eds.) p. 679. Chapman & Hall, London.
- Chopin, J., Bouillant, M. L., Nair, A. G. R., Ramesh, P. et Mabry, T. J. (1978) *Phytochemistry* **17**, 299.
- Castledine, R. M. et Harborne, J. B. (1976) *Phytochemistry* **15**, 803.
- Gaffield, W., Horowitz, R. M., Gentili, B., Chopin, J. et Bouillant, M. L. (1978) *Tetrahedron* **34**, 3089.