

NOUVELLES C-GLYCOSYLFUVONES EXTRAITES DE *SPERGULARIA RUBRA*

M.-L. BOUILLANT*, F. FERRERES DE ARCE*, J. FAVRE-BONVIN*, J. CHOPIN*, A. ZOLL† et G. MATHIEU†

* Laboratoires de Chimie-Biologique et de Phytochimie, Université Claude-Bernard, Lyon 1, 69621 Villeurbanne, France;

† Laboratoire de Pharmacognosie, Faculté de Pharmacie, Université de Dijon, 21000 Dijon, France

(Reçu le 20 novembre 1978)

Key Word Index—*Spergularia rubra*; Caryophyllaceae; C-glycosylflavones; 6,8-di-C-glucosylflavones; vicenin-2; lucenin-2; stellarin-2; 7,2''-di-O-glucosyl-6-C-arabinosylapigenin; isomollupentin.

Abstract—Three 6,8-di-C-glucosylflavones: 6,8-di-C- β -D-glucopyranosylapigenin, luteolin and chrysoeriol were isolated from the whole plant of *Spergularia rubra*. Two new compounds, 7,2''-di-O- β -D-glucopyranosyl-6-C- α -L-arabinopyranosylapigenin and 6-C- α -L-arabinopyranosylapigenin (isomollupentin), were also characterized. Structural assignments were based on 1 H NMR and MS spectra and on comparison with synthetic samples. MS fragmentation patterns of the new di-O-glucosyl compound PM derivative and of its acid hydrolysis product are given.

INTRODUCTION

Au cours de travaux préliminaires [1, 2], l'un d'entre nous a montré que *Spergularia rubra*, Caryophyllaceae officinale à propriétés diurétiques, était riche en C-glycosylflavones. Nous décrirons ici l'identification de cinq de ces composés dont deux sont des produits nouveaux. Nous les avons classés en trois types: trois substances non modifiées par traitement acide, une substance hydrolysée en milieu acide et une substance isomérisée en milieu acide.

RESULTATS ET DISCUSSION

Substances non modifiées par traitement acide

Il s'agit de di-C-glucosyl-6,8 flavones: ces trois composés dérivant respectivement (spectre UV) de l'apigénine, de la lutéoline et du chrysoériol, conservent leur comportement chromatographique de diglycosides même après une hydrolyse acide prolongée qui ne les modifie aucunement.

L'identification de la di-C- β -D-glucosyl-6,8 apigénine ou vicénine-2 repose sur la comparaison (IR, CP, CCM) avec les produits synthétique et naturel de *Citrus limon* [4], sur les spectres de RMN des dérivés acétylé, triméthylsilylé et perméthylé et sur le spectre de masse du dérivé perméthylé [5].

Une di-C-glucosyl-6,8 lutéoline non isomérisable par hydrolyse acide avait été décrite par Seikel *et al.* chez *Vitex lucens* [3] et nommée lucénine-2. Nous avons identifié cette substance à la di-C-glucosyl-6,8 lutéoline de *S. rubra*, par comparaison des spectres IR de leurs dérivés perméthylés et des spectres de RMN de leurs dérivés acétylés.

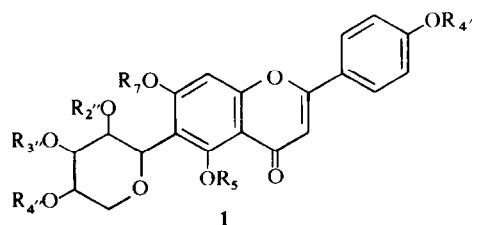
La nature des sucres de C-glycosylation a été déduite du spectre de masse du dérivé perméthylé et de la comparaison du spectre de RMN de ce dérivé avec celui de la PM di-C- β -D-glucopyranosyl-6,8 apigénine. La parfaite superposition des signaux correspondant aux protons et aux méthoxyles des sucres permet d'attribuer tant à la

luténine-2 qu'à la di-C-glycosyl-6,8 lutéoline de *S. rubra* la structure de di-C- β -D-glucopyranosyl-6,8 lutéoline.

Enfin, chez *S. rubra*, une troisième di-C-glycosyl-6,8 flavone a été isolée, dont l'aglycone est le chrysoériol (spectre UV). Sa structure de di-C- β -D-glucopyranosyl-6,8 chrysoériol a été déduite: de la comparaison (CP, CCM) avec le di-C- β -D-glucopyranosyl-6,8 chrysoériol synthétique [7], du spectre de masse et du comportement en CCM du dérivé perméthylé, identique à celui de la PM di-C-glucosyl-6,8 lutéoline. Nous proposons de nommer ce produit stellarine-2 car nous l'avons isolé en même temps de *Stellaria holostea* [6]. Il n'a été mentionné qu'une seule autre fois comme composant de *Larrea tridentata* [15].

Substance hydrolysée en milieu acide

Un quatrième composé (1a), isolé de *S. rubra*, présente un spectre UV de type apigénine substituée en position 7, et un comportement chromatographique de diglycoside, très proche de celui de la saponarine (O-glucosyl-7-isovitexine).



	R_5	R_7	$R_{4''}$	$R_{2''}$	$R_{3''}$	$R_{4''}$
a	H	Glc	H	Glc	H	H
b	H	H	H	H	H	H
c	Me	PM Glc	Me	PM Glc	Me	Me
d	Me	H	Me	H	Me	Me
e	Me	Me	Me	H	Me	Me
f	Me	Me	Me	Me	Me	Me

PM Glc = perméthyl glucosyl.

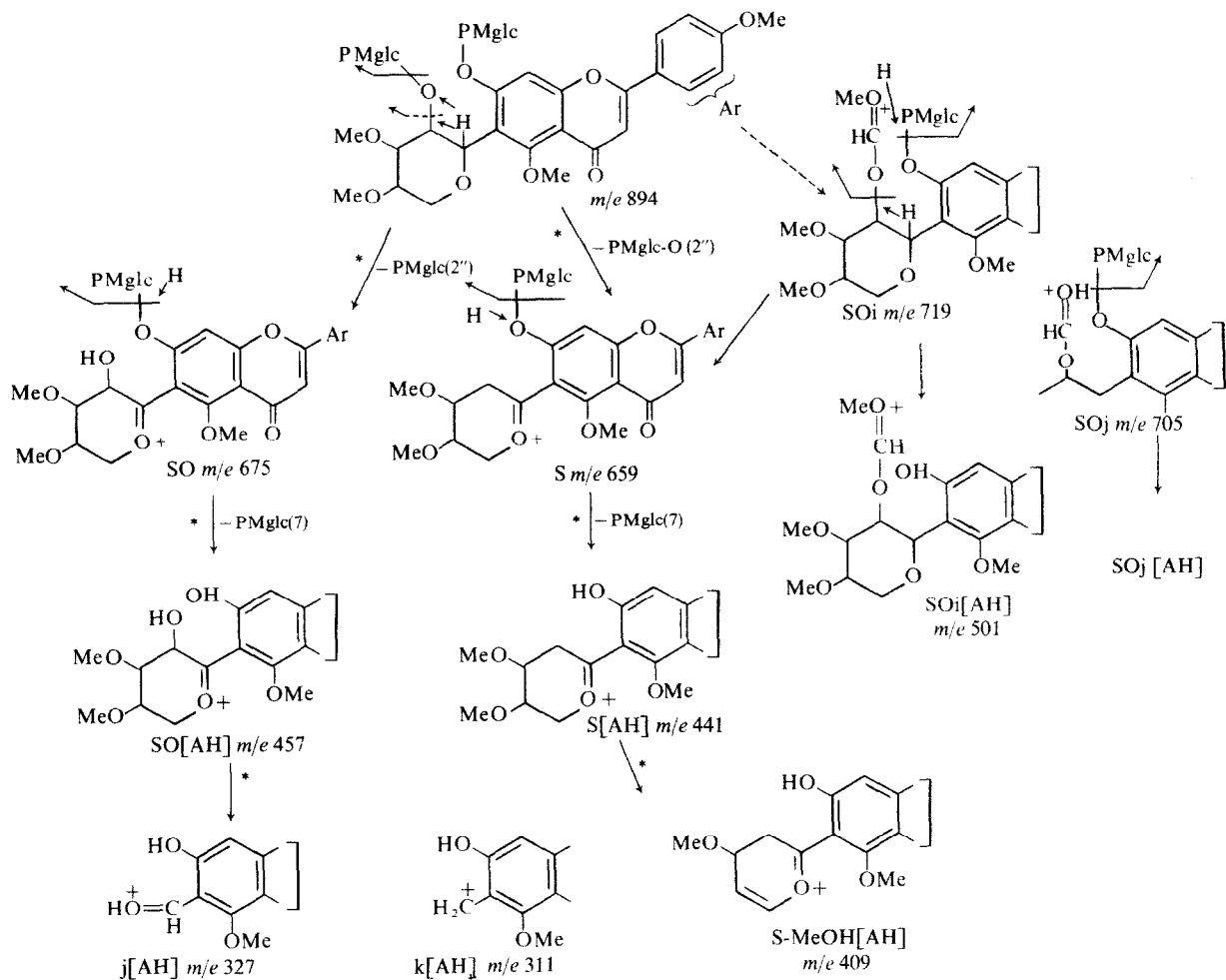


Fig. 1. Schéma de fragmentation en spectrométrie de masse de la PM di-O-glucosyl-7,2'' C-arabinosyl-6 apigénine 1c.

Par hydrolyse acide cette substance donne du glucose et deux mono-C-glycosylflavones, identifiées (CP, CCM) respectivement à la C- α -L-arabinopyranosyl-6 apigénine (1b) et à son isomère la C- α -L-arabinopyranosyl-8 apigénine synthétiques [8]. La structure définitive de ce composé a été déduite de l'étude du spectre de masse du dérivé perméthylé (1c) ($M^+ = 894$) dont le schéma de fragmentation est noté Fig. 1.

Au cours d'un précédent travail [9], nous avons étudié la spectrométrie de masse des perméthyl O-

glycosyl-C-glycosylflavones; par référence à cette étude, le spectre de masse de 1c se présente comme un condensé de ceux d'une PM O-glycosyl-7 C-glycosyl-6 flavone et d'une PM O-glycosyl-2'' C-glycosyl-6 flavone. On observe d'abord, comme chez les PM O-glycosyl-2'' C-glycosyl-6 flavones, l'absence des pics M-15 et M-31, remplacés par les pics SO et S provenant de la perte du groupement PM O-glycosyle en 2''. Puis, chacun de ces pics donne son homologue SO(AH) et S(AH), par perte du PM O-glycosyle en position 7. La fragmentation partielle du PM

Tableau 1. Comparaison des SM (pics principaux %) de mono-OH PM C-glycosyl-6 et 8 apigénines

Composé	Pic	M^+ m/e	M^- , %																		
			14	15	17	31	47	59	61	g	g-2	i	j	k+2	k	l	161	205			
OH 2'' PM isovitexine		516	69	—	6	14	15	19	—	36	19	—	23	—	100	—	30	—	27	—	27
1c		472	35	—	12	42	14	27	23	—	41	—	19	—	51	—	28	—	35	—	—
OH 2'' PM vitexine*		516	100	13	—	—	—	—	—	—	—	—	21	—	29	—	—	16	—	10	—
OH 6'' PM vitexine†		516	100	6	—	—	—	—	—	—	—	73	—	27	—	—	16	—	7	—	—

* Provient de la perméthylation suivie d'hydrolyse acide de la O-xylosyl-2'' vitexine naturelle de *V. lucens* [11].

† Provient de l'hydrolyse acide de la PM O-trityl-6'' vitexine.

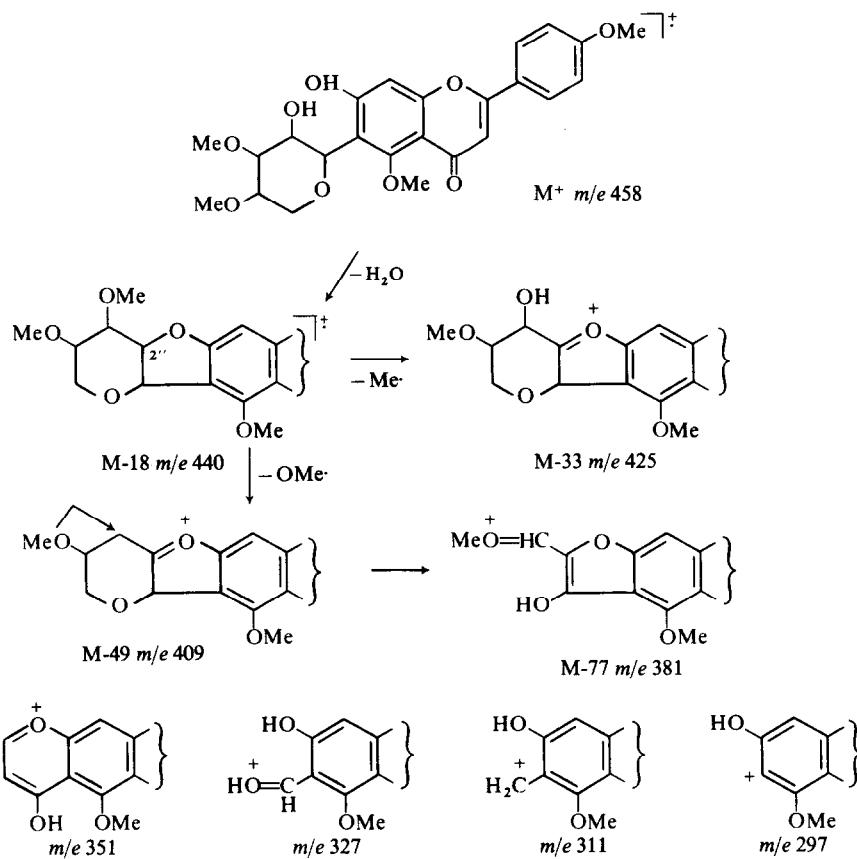


Fig. 2. Schéma de fragmentation du produit d'hydrolyse (1d) de la PM di-O-glucosyl-7,2'' C-arabinosyl-6 apigénine.

O-glycosyle en 2'' conduit aux pics SOi, SOh etc. qui donnent également leurs homologues SOi(AH), SOk(AH) etc.

Dans le but de confirmer cette hypothèse de structure nous avons hydrolysé le dérivé perméthylé 1c obtenant ainsi le dérivé 1d qui possède deux groupements hydroxyles libres en 7 et 2'' et dont le schéma de fragmentation est donné Fig. 2.

Puis nous avons traité ce composé par le diazométhane pour effectuer une méthylation sélective de l'hydroxyle phénolique en 7. La spectrométrie de masse du dérivé monohydroxylé 1e obtenu donne un type de fragmentation identique (voir Tableau 1) à celui obtenu avec la mono-OH-2'' PM isovitexine, qui a été différenciée de ses isomères monohydroxylés en 4'', 3'' et 6'' [10].

Dans ce même Tableau 1, nous avons noté les spectres de deux autres isomères monohydroxylés en 2'' et 6'' et dérivés de la vitexine, c'est à dire C-glucosylés en position 8. Leur schéma de fragmentation typique, principalement l'importance de l'ion moléculaire, exclut cette possibilité pour le composé 1e.

Enfin, la méthylation du produit d'hydrolyse de 1a a conduit au dérivé méthylé 1f qui a été identifié (CCM) à la PM C-arabinosyl-6 apigénine et différencié de la PM C-xylosyl-6 apigénine isomère. En conclusion 1a est la di-O-glycosyl-7,2'' C- α -L-arabinopyranosyl-6 apigénine.

Produit isomérisé par traitement acide

Nous avons pu ultérieurement isoler en petite quan-

tité, à partir de l'extrait non hydrolysé de *S. rubra*, une autre substance qui s'est révélée identique (CCM des produits libre (=1b) et méthylé (=1f), SM du dérivé perméthylé) à la C- α -L-arabinopyranosyl-6 apigénine et qui est donc par conséquent l'aglycone de 1a.

Ce composé est ici isolé pour la première fois à l'état naturel. Son isomère, la C-arabinosyl-8 apigénine ou mollupentine vient d'être mis en évidence chez *Mollugo pentaphylla* [12]. Il s'agit donc de l'isomollupentine et le composé 1a est di-O-glucosyl-7,2'' isomollupentine.

Les composés possédant ce type de glycosylation mixte, à la fois sur un hydroxyle phénolique et sur un hydroxyle du sucre sont encore rares. Nous n'en connaissons que deux exemples, la di-O-glycosyl-4,2'' isoorientine de *Gentiana asclepiadea* [13] et les di-O-glycosyl-7,2'' isovitexines de *Melandrium album* [14].

PARTIE EXPERIMENTALE

Matériel végétal. *Spergularia rubra*, plante entière, fleurie et fructifiée, en provenance d'Algérie et du Maroc.

Chromatographies, produits libres solvants. CP—(1)HOAc 5%; (2) HOAc 15%; (3) BAW: n-BuOH-HOAc-H₂O 4:1:5; (4) n-BuOH-HOAc 27%; (5) BEW: n-BuOH-EtOH-H₂O 5:4:2,2. CCM (Sigel) (6) APEM: EtOH-Py-H₂O-MeOH 80:12:10:5; (7) B.A.F.E.: Butanone-2-EtOAc-HCO₂H-H₂O 30:50:10:10. CCM (Polyamide) (8) H₂O-EtOH-MeEtCO-acétylacétone 12:4:3:1. *Produits perméthyles, solvants.* CCM (Sigel) (9) CHCl₃-EtOAc-Me₂CO 5:4:1 (10) CHCl₃-EtOAc-Me₂CO 5:1:4.

Isolement des C-glycosylflavones. 200 g de plante sèche pulvérisée sont, après dégraissage par l'éther de pétrole (12-15 fois poids/vol.), extraits par EtOH 70% (12-15 fois poids/vol.). Après concentration, le résidu est dilué par H₂O et la phase aqueuse extraite successivement par l'éther puis le *n*-BuOH. La phase butanolique est chromatographiée sur colonne de polyamide (Woelm), élue par H₂O et MeOH 5, 10, 15 et 30%. La purification finale s'effectue par CP dans les solvants HOAc 5%, 10% et *n*-BuOH-HOAc-H₂O 4:1:5.

Di-C-β-D-glucopyranosyl-6,8 apigénine(vicénine-2) cristaux jaune pâle F 233-6° [α]_D + 35° (H₂O); UV λ_{max}^{MeOH} nm: 272, 332; + NaOAc 281, 304 sh, 388, + AlCl₃ 265 sh, 277, 304, 350, 384 + NaOH diluée, 281, 330, 396. RMN: dérivé acétylé (CDCl₃) δ_{TMS}¹⁰⁻⁶ 8.08 (2H, d, *J* = 8 Hz) H-2'; 6'; 7.40 (2H, d, *J* = 8 Hz) H-3', 5'; 6.68 (1H, s) H-3; 5.7-3.6 (H-sucre); 2.53 (s) OAc-5; 2.49 (s) OAc-7; 2.34 (s) OAc-4'; 2.08; 2.05; 2.01; 2.00; 1.92; 1.88; 1.76 OAc-sucre. RMN: dérivé TMS (CCl₄) δ_{TMS}¹⁰⁻⁶ 7.84 (2H, d, *J* = 8 Hz) H-2', 6'; 6.87 (2H, d, *J* = 8 Hz) H-3', 5'; 6.31 (1H, s) H-3; 4.56 (d, *J* = 10 Hz) H-1" et 1"'; 4-3 (m) autres H du sucre. RMN: dérivé perméthylé (CDCl₃) δ_{TMS}¹⁰⁻⁶ 8.19 (2H, d, *J* = 8 Hz); 7.12 (2H, d, *J* = 8 Hz); 6.70 (1H, s) H-3; 4.86 (2H, d, *J* = 10 Hz) H-1" et 1"'; 4, 1 OCH₃-5; 4.02 OCH₃-7 et 4'; 3.97, 3.94; 3.72; 3.69; 3.66; 3.46; 3.40; 3.36; 3.24; 3.22; 3.11; 3.02 OCH₃ et H sucre. SM du dérivé PM (*m/e*) 748, (M⁺, 15%), 733 (M-15, 27%), 717 (M-31, 100%), 701 (M-47, 9%), 645 (M-103, 14%), 615 (M-133, 5%), 585 (M-163, 32%), 573 (M-175, 45%), 559 (M-189, 8%), 543 (M-205, 6%), 541 (M-207, 9%). Réactions colorées; UV, noir-violet; réactif de Bénédict, jaune. Chromatographies CP *R_f* 0.34 (solvant 2); 0.34 (3); CCM (Si gel) 0.21 (6). Dérivé perméthylé—CCM (Si gel) 0.40 (9).

Di-C-β-D-glucopyranosyl-6,8 lutéoline (lucénine-2). F 240° dec. [α]_D + 67° 6 (Py); UV λ_{max}^{MeOH} nm: 257 (log ε 4.20), 273 (log ε 4.23), 351 (log ε 4.29); + NaOAc 275 sh, 282 sh, 417; + NaOAc + H₃BO₃, 268, 286 sh, 386, 428; + AlCl₃ 277, 302 sh, 365, 418; + AlCl₃ + HCl 265 sh, 278, 296 sh, 359, 384; + NaOH 267, 280, 344 sh, 408. RMN: dérivé acétylé (CDCl₃) δ_{TMS}¹⁰⁻⁶ 8.05 (1H, d, *J* = 8 Hz) H-6'; 7.80 (1H, s) H-2'; 7.58 (1H, d, *J* = 8 Hz) H-5'; 6.69 (1H, s) H-3; 4.85 (d, *J* = 10 Hz) H-1" et 1"'; 6-3.6 (m) H-sucre; 2.52 (s) OAc-5; 2.48; 2.34; 2.30; OAc-7, 4' et 3'; 2.06; 2.04; 2.00; 1.92; 1.85; 1.73; OAc; sucre. RMN: dérivé perméthylé (CDCl₃) δ_{TMS}¹⁰⁻⁶ 8.00 (1H, d, *J* = 8 Hz) H-6'; 7.34 (1H, s) H-2'; 7.02 (1H, d, *J* = 8 Hz) H-5'; 6.65, (1H, s) H-3; 4.88 H-1" et 1"'; 4.09, OCH₃-5; 4.05; 4.03 OCH₃-7, 3' et 4'; 3.97; 3.94; 3.72; 3.69; 3.66; 3.45; 3.40; 3.36, 3.24; 3.21; 3.12; 3.02; OCH₃ et H-sucre. SM du dérivé PM (*m/e*) 778 (M⁺, 25%), 763 (M-15, 30%), 747 (M-31, 100%), 731 (M-47, 7%), 675 (M-103, 11%), 615 (M-163, 28%), 603 (M-175, 40%), 589 (M-189, 6%), 573 (M-205, 5%), 571 (M-207, 6%). Réactions colorées; UV, noir violet; réactif de Bénédict, noir. Chromatographies CP *R_f* 0.43 (2); 0.23 (4). Dérivé perméthylé CCM (Si gel) *R_f* 0.32 (9).

Di-C-β-D-glucopyranosyl-6,8 chrysoériol (stellarine-2). UV λ_{max}^{MeOH} nm: 255, 270, 345; + NaOAc, 279, 322, 400; + NaOAc + H₃BO₃ 271, 350; + AlCl₃ 266sh, 280, 296, 362, 290; + AlCl₃ + HCl 262 sh, 278, 296, 354, 386; NaOMe 266, 278, 335 sh, 406. SM du dérivé PM *m/e* 778 (M⁺, 24%), 763 (M-15, 30%), 747 (M-31, 100%), 733 (M-45, 7%), 731 (M-47, 8%), 675 (M-103, 12%), 617 (M-161, 8%). 615 (M-163, 31%), 603 (M-175, 43%), 590 (M-188, 11%), 589 (M-189, 7%), 573 (M-205, 6%), 571 (M-207, 10%), 559 (M-219, 6%). Réactions colorées UV, noir; réactif de Bénédict, jaune-vert. Chromatographies CP *R_f* 0.16 (1); 0.32 (2); 0.27 (3); 0.40 (4); CCM (Si gel) 0.14 (9).

Di-O-glucosyl-7,2"-C-α-L-arabinopyranosyl-6 apigénine (di-O-glucosyl-7,2" isomollupentine) 1a. UV λ_{max}^{MeOH} nm: 272, 334; + NaOAc 270, 386; + NaOAc + H₃BO₃ 270, 336; + AlCl₃ 277, 300, 346, 378 sh; + AlCl₃ + HCl 278, 300, 344, 376 sh; + NaOMe 272, 304 sh, 392. SM du dérivé PM (1c) *m/e* 894 (M⁺, 10%), 719

(SOi, 19%), 705 (SOj, 7%), 689 (SOk, 5%), 675 (SO, 80%), 659 (S, 92%), 515 (SON (AH), 15%), 501 (SOi (AH), 4%), 487 (SOj (AH), 8%), 471 (SOk) (AH, 5%), 457 (SO(AH), 46%), 441 (S(AH), 100%), 439 (8%), 425 (8%), 409 (14%), 381 (7%), 367 (5%), 365 (5%), 351 (5%), 341 (6%), 339 (6%), 327 (46%), 325 (5%), 323 (7%), 321 (7%), 311 (7%), 309 (6%), 219 (7%), 218 (32%), 187 (35%), 155 (10%). Chromatographies CP *R_f* 0.38 (1); 0.66 (2); 0.35 (3); 0.60 (4); 0.12 (5). CCM (Si gel) 0.22 (6); 0.15 (7); dérivé PM 1c 0.27 (10) (Polyamide) 0.75 (8).

Tétrra-O-méthyl-5,4',3",4" C-arabinosyl-6 apigénine (1d) préparée par hydrolyse acide (MeOH, HCl 4N 1:1, 6 hr) de 1c. SM: *m/e* 458 (M⁺, 17%), 440 (M-18, 54%), 425 (M-33, 68%), 411 (M-47, 23%), 409 (M-49, 60%), 399 (17%), 397 (20%), 395 (23%), 393 (26%), 383 (16%), 382 (23%), 381 (63%), 379 (31%), 369 (14%), 368 (14%), 367 (29%), 365 (14%), 355 (11%), 353 (11%), 352 (26%), 351 (100%), 341 (26%), 340 (11%), 339 (40%), 338 (16%), 337 (20%), 335 (11%), 328 (20%), 327 (74%), 326 (11%), 325 (31%), 324 (11%), 323 (20%), 322 (17%), 321 (57%), 313 (34%), 312 (14%), 311 (46%), 310 (11%), 309 (31%), 308 (14%), 299 (14%), 298 (36%), 297 (48%). Chromatographies CCM (Si gel) 0.27 (10).

Penta-O-méthyl-5,7,4',3",4" C-arabinosyl-6 apigénine (1e) préparée par méthylation par CH₂N₂ (3/4 hr en solution dans Et₂O) de 1d. SM voir Tableau 1. Chromatographies CCM (Si gel) 0.23 (10).

C-α-L-Arabinopyranosyl-6 apigénine (isomollupentine) (1b). UV λ_{max}^{MeOH} nm: 271, 334; + NaOAc 278, 302, 385; + AlCl₃ 278, 304, 350, 384; + NaOMe 278, 325, 394. SM du dérivé PM 1f: *m/e* 486 (M⁺, 26%), 471 (M-15, 21%), 455 (M-31, 66%), 439 (M-47, 13%), 431 (8%), 427 (8%), 425 (13%), 423 (7%), 397 (11%), 381 (11%), 367 (M-119, 16%), 356 (21%), 355 (M-131, 100%), 342 (11%), 341 (M-145, 42%), 339 (13%), 331 (11%), 325 (M-161, 13%), 323 (11%), 319 (M-175, 11%). Chromatographies CP *R_f* 0.37 (2), 0.71 (6), 0.80 (8); CCM (Si gel) 0.61 (6). Dérivé PM: CCM (Si gel) 0.20 (9).

Les dérivés perméthylés ont été obtenus suivant la méthode décrite précédemment [5] et leur hydrolyse acide effectuée en tubes scellés dans HCl 4N MeOH 1:1 à 100-110° pendant 1 hr. Les spectres de masse ont été enregistrés au Centre de spectro-métrie de masse de l'Université de Lyon, avec un spectrographe AEI MS 902, à 70 eV. Les températures (échantillon et source) varient entre 150 et 190°. Les spectres de RMN ont été enregistrés au Centre de RMN de l'Université de Lyon, à 100 MHz avec un appareil Varian HA 100.

Remerciements—Les auteurs remercient 'les Bons Producteurs' et la 'Société Lyonnaise d'herboristerie' qui leur ont fourni le matériel végétal.

REFERENCES

1. Zoll, A. (1972) Thèse de doctorat en Pharmacie, No. 1 Grenoble, France.
2. Zoll, A. et Nouvel, G. (1974) *Plant. Med. Phytother.* **VIII**, 134.
3. Seikel, M. K., Chow, J. H. S. et Feldman, L. (1966) *Phytochemistry* **5**, 439.
4. Chopin, J., Roux, B., Bouillant, M. L., Durix, A., d'Arcy, A., Mabry, T. J. et Yoshioka, Y. H. (1969) *C.R. Acad. Sci. Ser. C* **268**, 980.
5. Bouillant, M. L., Favre-Bonvin, J. et Chopin, J. (1975) *Phytochemistry* **14**, 2267.
6. Bouillant, M. L., Ferreres de Arce, F., Zoll, A., Mathieu, G., Favre-Bonvin, J. et Chopin, J. (1979) en préparation.
7. Chopin, J., Planche, G. et Bouillant, M. L., résultats non publiés.

8. Chopin, J., Biol, M. C. et Bouillant, M. L. (1972) *C.R. Acad. Sci. Ser. C* **274**, 1740.
9. Bouillant, M. L., Basset, A., Favre-Bonvin, J. et Chopin, J. (1978) *Phytochemistry* **17**, 527.
10. Bouillant, M. L., Basset, A., Favre-Bonvin, J. et Chopin, J. (1979) *Phytochemistry* **18**, 690.
11. Horowitz, R. M. et Gentili, B. (1966) *Chem. Ind.* 625,
12. Besson, E., résultats non publiés.
13. Goetz, M. et Jacot-Guillarmod, A. (1977) *Helv. Chim. Acta* **60**, 1322.
14. Besson, E., Basset, A., Bouillant, M. L., Chopin, J., Van Brederode, J. et Van Nigtevecht, G. (1979) *Phytochemistry* **18**, 657.
15. Sakakibara, M., Mabry, T. J., Bouillant, M. L. and Chopin, J. (1977) *Phytochemistry* **16**, 1113.