

TROIS NOUVEAUX FURANNODITERPENES ISOLEES DU CROTON MAYUMBENSIS J.LEONARD.

KOUDOU Jean¹, YAMALE Sosthène², SAMB Abdoulaye², TEULADE Jean Claude³

¹ CERPHAMETRA, Université de Bangui, BP 1450 Bangui, République Centrafricaine

² Laboratoire de chimie et biochimie des Produits Naturels, Faculté des Sciences et
Techniques BP 7021 Dakar, Sénégal

³ Laboratoire de chimie organique, UMR INSERM 484, Faculté de Pharmacie, Université
Clermont-Ferrand I, France.

Résumé

Trois nouveaux furannoditerpènes possédant le squelette clérodane et labdane ont été isolés des écorces du *Croton mayumbensis* J. Léonard poussant en République Centrafricaine, et leurs structures ont été élucidées à partir des données spectrométriques.

Mots clés : *Croton mayumbensis*, Euphorbiaceae, écorce, furoclérodane, furannolabdane .

Introduction

Le *croton mayumbensis* (Euphorbiaceae) est un arbre de 34 m de haut très répandu dans la forêt équatoriale de la République Centrafricaine. C'est une plante médicinale dont les écorces et les feuilles sont empiriquement connues dans le traitement des infections microbiennes et parasitaires [1]. Des travaux antérieurs importants avaient permis d'isoler à partir du genre *Teucrium* (Labiateae) de nouveaux diterpènes à structure clérodane ,ou 9-clérodane et labdane caractérisée par la présence d'un cycle furanne, appelés furoclérodanes et furannolabdanes ou parfois d'un autre groupe hétérocyclique [2-5]. Le genre *Croton* est aussi bien connu en médecine traditionnelle et quelques travaux antérieurs ont permis de mettre en évidence la présence de composés à structure clérodane dans les espèces sud-américaines et asiatiques[6-12].

Malgré ses propriétés intéressantes il n'existe à ce jour dans la littérature aucun travail scientifique décrivant l'activité pharmacologique et l'isolement des constituents chimiques du *Croton mayumbensis*. Le présent travail consacré à son étude phytochimique, a permis d'isoler à partir de ses écorces, trois nouveaux furannoditerpènes.

Matériel et méthodes

Procédure général

IE-SM : Spectromètre de masse modèle Hewlett-Packard 5985B et 5989A ; RMN 400MHZ (^1H), et 100MHZ (^{13}C), spectromètre modèle Bruker AC avec CDCl_3 et DMSO d_6 comme solvants. Les signaux sont enregistrés sur des spectres 2D COSY et HMBC avec le TMS comme produit de référence.

Les analyses par CLHP sont réalisés sur une colonne (20cmx8mm) avec une phase inversée C-18, équipée d'une garde de sécurité. Les couplages CLPH/SM sur un modèle Hewlett-Packard 5985B et un spectromètre de masse 5989A utilisant les mêmes paramètres. La chromatographie sur colonne a été développée avec de l'oxyde d'aluminium neutre 90 Merck standardisé (63-200 μm). Les CCM sont réalisées sur des plaques 60F₂₅₄ à oxyde d'aluminium Merck.

Matériel végétal

Les écorces de *Croton mayumbensis* J.Léonard ont été récoltées au village Boukoko situé à 162km au sud de Bangui en octobre 2003. Les échantillons ont été identifiés par Monsieur Régner Paulin botaniste systématicien de la faculté des Sciences et déposés dans l'herbier du CERPHAMETRA, Université de Bangui.

Les écorces sont séchées à l'air libre et réduites en poudre (100g) avant d'être soumises à macération pendant 72h par un mélange MeOH-CHCl_3 (1 :1). L'extrait est évaporé à sec pour donner un brut brun(2,3g). Le brut est soumis ensuite à un fractionnement sur colonne de silice selon une méthode standard pour donner six fractions : F1 (0,1g) hexane/éther 1/1, 300ml ; F2(0,1g) éther, 200ml ; F3 (0,3g) acétate d'éthyle, 300ml ; F4(0,1g) acétate d'éthyle/éthanol 1/1, 100ml ; F5 (0,1g) éthanol/méthanol 1/1 100ml ; F6(0,3g) méthanol 300ml. Les fractions F2, F3, F4 et F6 (Tableau 4) sont ensuite chromatographiées sur plaques préparatives avec comme éluant le mélange $\text{CHCl}_3/(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{N}$ (95/5, v/v) pour donner 8 fractions SF1 à SF8 qui sont encore des mélanges de composés difficilement séparables. L'utilisation du couplage nécessaire dans ce cas a permis de mettre en évidence la présence de trois composés majeurs dans trois fractions SF2, SF4 et SF6. Seule la fraction SF4 contient des quantités importantes de ces trois composés **1**, **2** et **3** ; elle a été purifiée sur colonne d'alumine neutre avec une élution au CH_2Cl_2 puis ensuite par un gradient de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$ (de 9/1 à 9/4, v/v). La purification sous contrôle CLHP a donné les composés **1**, **2** et **3** avec un rapport de pourcentage respectivement de 6/3/1 par comparaison avec leur pics sur CLHP.

Résultats et discussion

Les écorces de *Croton mayumbensis* sont soumises à une extraction par un mélange méthanol-chloroforme, un produit brut de couleur brune est obtenu avec un rendement de 2,3%. Le brut est ensuite soumis à une chromatographie préparative sur plaque avec comme système éluant le mélange chloroforme / diéthylamine pour donner trois diterpénoides **1**, **2** et **3**. Le couplage CLHP/SM montre pour le composé **1** le pic de l'ion moléculaire à $[\text{M}+\text{H}]^+$ a m/z 372 correspondant à la formule brute : $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_6$ avec un degré d'insaturation égal à 10. Le spectre de RMN ^{13}C montre des signaux de 21 atomes de carbone : 8 atomes de carbone quaternaires, 5 méthynes, 5 méthylènes, trois méthyls, un lactone(δ_c 180,2) un groupe acétyl(δ_c 21,4), deux atomes de carbone éthyléniques($\text{C}=\text{C}$, δ_c 133,5 ;132,5). Les signaux à δ_c : 127,5 ; 102,5 ; 144,3 et 146,9 indiquent la présence du cycle furannique (Table1). Le

composé **1** est un furoclérodane, sa structure a été confirmée par le spectre COSY du ^1H et les corrélations à longue distance HMBC :

a/ caractérisation du groupe furyl : le proton H-14 ($\delta_{\text{H}}6,68$) est couplé avec C-13($\delta_{\text{C}}127,5$), C-15($\delta_{\text{C}}144,3$) par le couplage ^2J , et avec C-12($\delta_{\text{C}}191,4$) par ^3J . Le proton H-16($\delta_{\text{H}}7,99$) est couplé avec C-14($\delta_{\text{C}}102,5$) par ^3J .

b/la chaîne aliphatique : le méthylène H-11($\delta_{\text{H}}3,25$) est couplé avec C-12 par ^2J et donne une corrélation longue distance avec C-2 et C-10. Le méthyl H-19 à $\delta_{\text{H}}1,31$ lié avec le premier cycle hexénique est couplé avec C-2 par ^2J et donne une corrélation longue distance avec C-1 et C-3. H-3($\delta_{\text{H}}28,9$) donne une corrélation longue distance avec C-1 et C-19 tandis que H-4 à $\delta_{\text{H}}1,32-1,78$) donne une longue corrélation avec C-10.

c/ le deuxième cycle hexénique lié avec le groupe lactone a été caractérisé : le méthyl H-21 à $\delta_{\text{H}}3,65$ donne une corrélation longue distance avec C-20, C-5 et C-7. H-8 à $\delta_{\text{H}}4,99$ donne une corrélation longue distance avec C-10.

Le composé **2**.

Son spectre de masse en mode impact électronique et le couplage CLPH/SM montrent le pic de l'ion moléculaire à $m/z368$ correspondant à la formule brute $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_5$ avec 11 comme degré d'insaturation dans la molécule. Le spectre RMN ^{13}C montre des signaux attribués à 22 atomes de carbone : 1 carbonyle à $\delta_{\text{C}}191$, 1 carboxyle à $\delta_{\text{C}}180$, 2 méthyles esters, 2 méthyles, 3 méthylènes, 5 méthynes, 6 atomes de carbone quaternaires aromatiques, 2 éthyléniques (Table2). Le cycle furannique a été confirmé par les signaux de C-13, C-14, C-15, C-16. Le noyau benzénique est caractérisé par les signaux de C-1, C-2, C-3, C-4 et C-10 (Tableau 2). Les protons du cycle furannique sont également caractérisés par leurs signaux apparaissant dans la zone des H aromatiques. Les données spectrales indiquent également la présence de deux cycles dont un est aliphatique et couplé avec l'autre qui est benzénique. En fait, des analogies de structures ont pu être mises en évidence, avec en particulier, la présence d'une structure naphthalénique partiellement hydrogénée reliée à une entité furannique par un système insaturé. L'ensemble de ces données indiquent que le composé **2** est un furannolabdane.

Cette structure a été confirmée par le spectre COSY du ^1H et les corrélations à longue distance HMBC. Le proton H-11 à $\delta_{\text{H}}6,31$ est couplé avec C-13 et C-10 par couplage ^3J .

Le méthyl H-19 à $\delta_{\text{H}}2,17$ est couplé par ^3J avec C-2 et C-4, par ^4J avec C-1 et H-4 ; des corrélations ont été observées au niveau du proton H-4, et pour le méthyl H-20, un couplage avec C-6 par ^2J et avec C-7, C-5, C-21 par ^3J . Le méthylène H-9 est couplé par ^2J avec C-8 et par ^3J avec C-7. Les signaux de l'oxyméthyl et du méthyl ester ont été observés respectivement à $\delta_{\text{H}}3,56$ et $\delta_{\text{H}}3,62$.

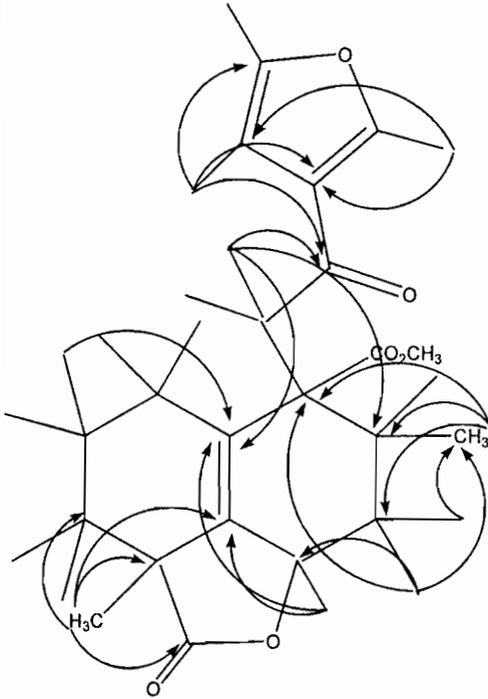
Le composé **3**. Son spectre de masse en impact électronique et le couplage CLPH/SM montrent le pic de l'ion moléculaire à $m/z402$ correspondant à la formule brute $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_7$. Le spectre RMN ^{13}C indique des signaux appartenant à 22 atomes de carbone et un degré d'insaturation égal à 10 : neuf atomes de carbone quaternaires, 4 méthynes, 5 méthylènes, et 4 méthyles (Table3). 4 atomes de carbone sont des carbonyles à δ_{C} : 190,8 ; 172 ; 196,2 ; 178,2. Le spectre de RMN ^1H et celui de ^{13}C indiquent la présence des groupes suivants : le cycle furanne, le cétone α,β éthylénique et 2 méthyles esters. Les données spectrales démontrent la présence de deux parties, une aromatique (cycle furanne) et un groupe bicyclique. La structure du composé **3** a de fortes analogies avec celles des composés **1** et **2** ; La comparaison avec les données de la littérature [2-5] indique que le composé **3** est un furoclérodane (fig3). Cette structure a été confirmée par le spectre COSY du ^1H et les corrélations à longue distance HMBC. La partie de la structure : $\text{O}=\text{C}-\text{CH}_2$ -cyclohexène a été élucidée sur la base des corrélations classiques observées dans le cadre de cette étude (Table3). Les protons

méthyléniques à $\delta_{\text{H}}3,37$ et $3,54$ sont couplés avec C-12 par ^2J et C-10 par ^3J . Les deux protons à $\delta_{\text{H}}1,98$ et $2,23$ sont couplés avec C-10 par ^2J et avec C-9, C-5 et C-3 par ^3J . Ces couplages sont représentatifs de la structure étudiée.

Références bibliographiques

1. Lejolly J. *Croton mayumbensis*.1956, J.Léonard Bull.Jard.Bot.-Etat Brux., 26,p.390, Congo Zaïre.
2. Piozzi Franco,1981, Heterocycles,15(2),1489-1503
3. Piozzi Franco, Rodriguez Benjamin, Savona Giuseppe, 1987, Heterocycles, 25, 807-839
4. Piozzi Franco, 1994, Heterocycles, 37(1), 604-625
5. Piozzi Franco, Bruno Maurizio, Rosselli Sergio, 1998, Heterocycles, 48(10), 2185-2196
6. Brito Souza, Rodríguez, A.R.M., Hiruma-Lima, J.A., Haun, C.A., Nunes, M., D. S.,1998, Planta Med. 64, 126-129.
7. Cravalho, J. C., Silva, M. F., Maciel, M. A., Pinto, A., Nunes, D. S., Lima, R. M., Bastos, J. K., Sarti, S. J.,1996, Planta Med. 62, 402-404
8. Farias, R. A., Rao, V. S., Viana, G. S., Silveira, E. R., Maciel, M. A., Pinto, A. C. 1997, Planta Med. 63, 558-560.
9. Hiruma-Lima, Clélia A., Spadari-Bratfisch, Regina C., Grassi-Kassisse, Dora M., and Brito, Alba R.M. Souza. Antiulcerogenic Mechanisms of Dehydrocrotonin, a Diterpene Lactone Obtained from *Croton cajucara*., 1999 , Planta Med. 65,325-330
10. Risco Ester, Ghia Felipe, Vila Roser, Iglesias, José Elida, Canigueral Alvarez Salvador. Immunomodulatory Activity and Chemical Characterisation of Sangre de Drago (Dragon's Blood) from *Croton lechleri*., 2003, Planta Med; 69, 785-794
11. Kitazama, E., Sato, A., Takahashi, H., Kuwano, H., Ogiso, A.,1980, Chem. Pharm. Bull. 28, 227-234
12. Yamalé, Sosthène, C., 2005, Thèse de Doctorat en chimie et biochimie des produits naturels. UCAD, Sénégal.

Fig1 : COSY ^1H - ^1H et HMBC



Structure du composé1

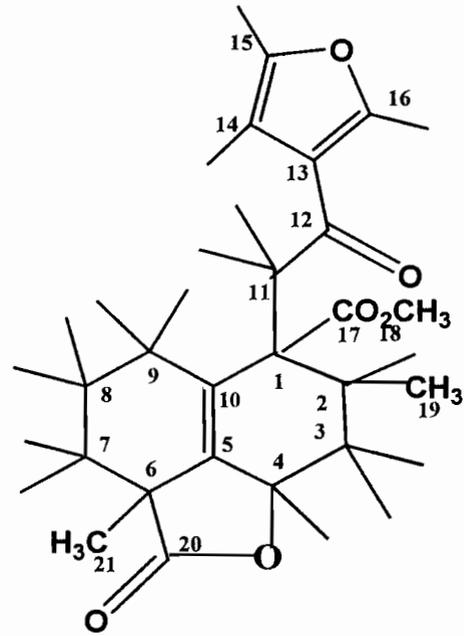
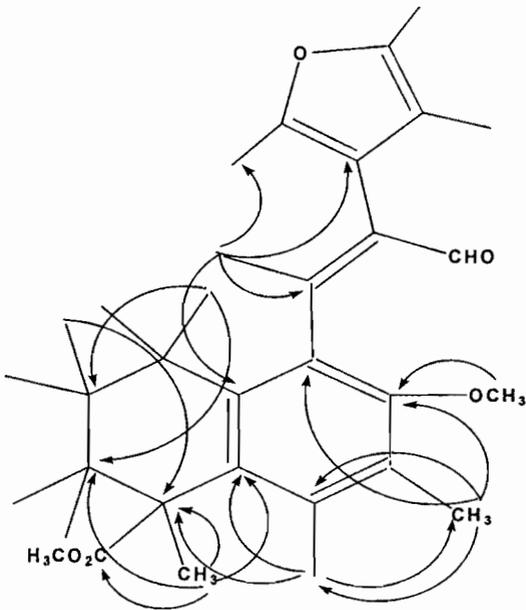


Fig2 : COSY ^1H - ^1H et HMBC.



Structure du composé2

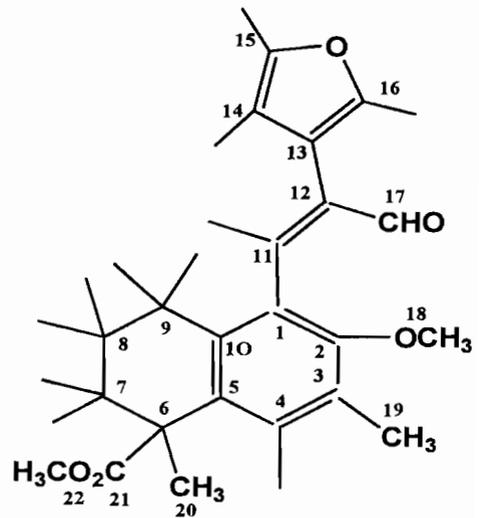


Fig3 : COSY 1H-1H et HMBC

Structure du composé3

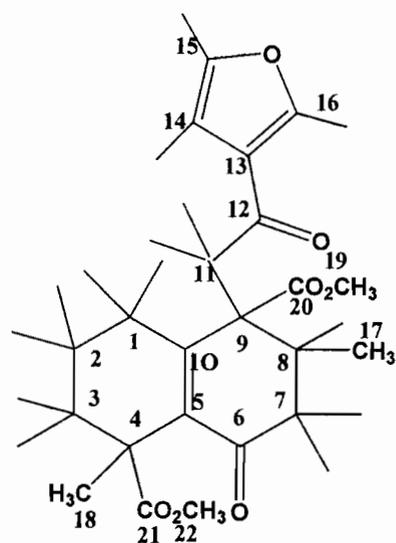
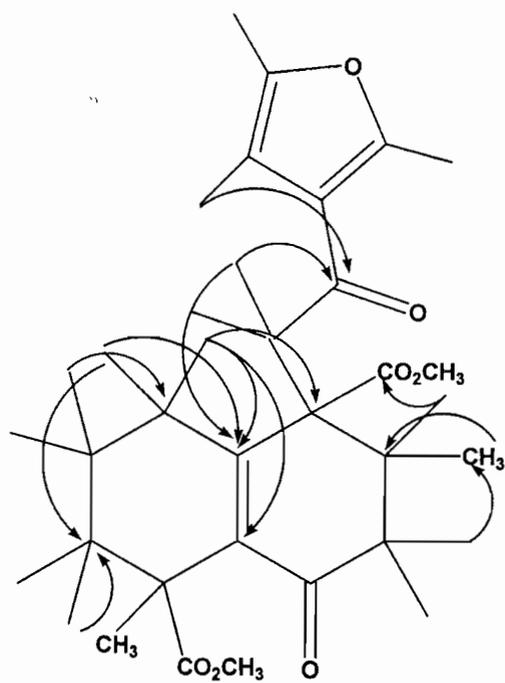


Table1. RMN ¹H et RMN¹³C du composé1

C	δ_c (ppm,100MHz, DMSO d6)	δ_H (ppm, 400MHz,CDCl ₃)
1	26.5	2.39; 2.44
2	18.4	1.70
3	28.9	1.32 ;1.78
4	41.6	
5	133.5	
6	73.8	4.99
7	31.4	1.68 ;2.18
8	36.8	2.28
9	50.8	
10	132.2	3.25
11	49.2	
12	191.4	
13	127.5	6.68
14	102.5	7.4
15	144.3	7.99
16	146.9	
17	170.3	0.93
18	21.4	1.31
19	15.7	
20	180.2	3.65
21	21.5	

Table2. RMN ¹H et RMN ¹³C du composé 2

C	¹³ CNMR δ (ppm) (100MHZ, DMSO d6)	¹ HNMR δ (ppm) (400 MHZ, CDCl ₃)
1	136.2	
2	153.0	
3	123.6	
4	114.8	6,49
5	124.4	
6	44.4	
7	36.0	1,77 ; 2.0
8	19.1	1,73 ; 1,80
9	28.0	2,59 ; 2,76
10	137.0	
11	114.5	6,31
12	141.1	
13	122.0	
14	107.6	6,57
15	143.8	7,40
16	139.6	7,52
17	191.0	10,93
18	55.1	3,56
19	19.9	2,17
20	23.5	1,53
21	180.0	
22	52.0	3,62

Table3. RMN¹H et RMN ¹³C du composé 3

C	¹³ C NMR δ (ppm) (100MHZ, DMSO d6)	¹ H NMR δ (ppm) (400 MHZ, CDCl ₃)
1	28,5	1,98 – 2,23
2	18,0	1,56 – 1,70
3	34,3	1,68
4	43,3	
5	137,9	
6	196,2	
7	42,3	2,29 – 2,42
8	33,1	2,74
9	54,8	
10	153,6	
11	41,0	3,37 – 3,54
12	190,8	
13	128,0	
14	108,4	6,72
15	144,3	7,40
16	147,1	8,07
17	17,0	0,91
18	21,3	1,31
19	52,4	3,68
20	172	
21	178,2	
22	51,9	3,61

Tableau 4. Schéma de fractionnement du brut.

