

Annomontacine: Une Nouvelle Acétogénine #-Lactone-monotetrahydrofurannique Cytotoxique de l'*Annona montana*

Akino Jossang, Béatrice Dubaele, André
Cavé, Marie-Hélène Bartoli, and Hélène Bériel

J. Nat. Prod., **1991**, 54 (4), 967-971 • DOI:
10.1021/np50076a007 • Publication Date (Web): 01 July 2004

Downloaded from <http://pubs.acs.org> on April 4, 2009

More About This Article

The permalink <http://dx.doi.org/10.1021/np50076a007> provides access to:

- Links to articles and content related to this article
- Copyright permission to reproduce figures and/or text from this article



ACS Publications
High quality. High impact.

Journal of Natural Products is published by the American
Chemical Society, 1155 Sixteenth Street N.W., Washington,
DC 20036

ANNOMONTACINE: UNE NOUVELLE ACÉTOGÉNINE γ-LACTONE-MONOTETRAHYDROFURANNIQUE CYTOTOXIQUE DE L'ANNONA MONTANA

AKINO JOSSANG,*

Laboratoire de Chimie, URA 401 du CNRS, Muséum National d'Histoire Naturelle, 63 rue
Buffon, 75231 Paris Cedex 05, France

BÉATRICE DUBAELE, ANDRÉ CAVÉ,

Laboratoire de Pharmacognosie, URA 496 du CNRS, Faculté de Pharmacie de l'Université
de Paris-Sud, Rue J.B. Clément, 92296 Châtenay-Malabry Cedex, France

MARIE-HÉLÈNE BARTOLI, et HÉLÈNE BÉRIEL

Laboratoire de Physiologie-Pharmacologie I, Faculté de Pharmacie de Grenoble,
Domaine de la Merci, 38706 La Tronche Cedex, France

ABSTRACT.—The structure of annomontacin [**1**], a novel monotetrahydrofuran fatty acid γ-lactone (acetogenin) isolated from the seeds of *Annona montana*, was determined by spectral analysis. The cytotoxicities in vitro of annomontacin [**1**], annonacinone [**2**], and annonacin were measured against murine leukemia L1210, human breast adenocarcinoma MDA-MB231, and human breast carcinoma MCF7 cell lines and compared with adriamycin.

Des acétogénines γ-lactone-bistétrahydrofuranniques comportant deux longues chaînes aliphatiques, isolées des Annonacées, présentent une forte activité cytotoxique sur les cellules cancéreuses, et elles sont actuellement soumises à une évaluation en tant qu'agents antinéoplasiques potentiels (1-4).

Des graines de l'*Annona montana* Macf. (Annonacées) récoltées en Guyane, nous avons précédemment isolé deux nouvelles acétogénines, l'annomontacine et la montanacine (5), ainsi que deux acétogénines connues, l'annonacine (6) et la goniotalamicine (7). Elles appartiennent au groupe des acétogénines γ-lactone-monotetrahydrofuranniques connues depuis 1987 (4,6). Leur nombre s'élève à quatorze avec les acétogénines récemment publiées, l'annonacinine, l'isoannonacine, et l'isoannonacinone qui viennent d'être isolées de l'*Annona densicoma* (2), la squamone (8), l'annonacine A et l'annonastatin (9,10) de l'*Annona squamosa*, la murisoline de l'*Annona muricata* (11) et les uvariamicine I, II, et III de l'*Uvaria narum* (12).

Poursuivant une étude des graines de l'*A. montana*, une nouvelle acétogénine que nous avons nommée annomontacine [**1**], ainsi que l'annonacinone [**2**] citée ci-dessus (0,01 et 0,04%; poids sec) ont été isolées. Ces acétogénines possèdent, tout comme celles isolées précédemment (5), une activité cytotoxique sur les cellules de la leucémie murine L1210, d'un adénocarcinome mammaire humain MDA-MB231, et d'un carcinome mammaire humain MCF7.

L'annomontacine [**1**] est un solide blanc, F 34-36°, $[\alpha]^{20}_D +81^\circ$ (MeOH, $c = 1,0$). La formule brute $C_{37}H_{68}O_7$ a été déduite du pic pseudo-moléculaire $[MH]^+$ à m/z 625,5109 (calculé 625,5043) en smhr par fab. Sur le smic- CH_4 , $[MH]^+$ à m/z 625, 68%, les pics à m/z 607 (42%), 589 (42), 571 (53), et 553 (19), résultant de la perte successive de quatre molécules d'eau, indiquent la présence de quatre hydroxyyles. Le spectre de rmn du ^{13}C confirme la présence de quatre carbones hydroxylés, par les signaux à 69,85, 71,80, 74,09, et 74,32 ppm.

Sur les spectres de rmn ($CDCl_3$) du 1H , du ^{13}C (300 et 75 MHz respectivement, Tableau 1), du 1H - 1H et du 1H - ^{13}C 2D corrélés de l'annomontacine [**1**], l'enchaînement de la γ-lactone α,β-insaturée γ-méthylée et α-substituée (Figure 1) a été démontré par

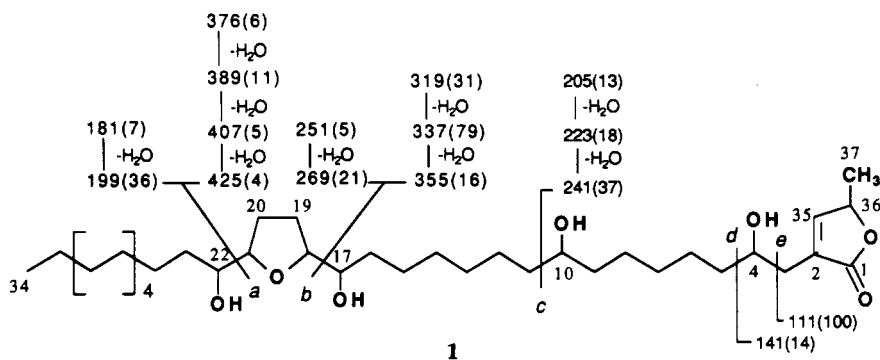
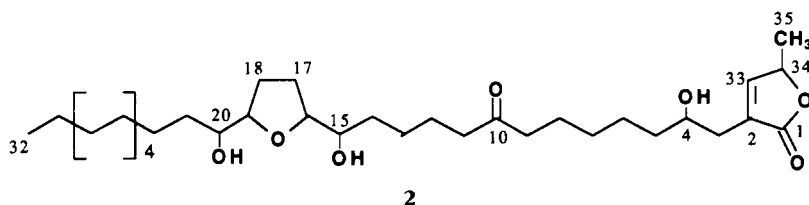
TABLEAU 1. Rmn du ^1H et du ^{13}C (CDCl_3 , 300 et 75 MHz).

Atomes	Composés			
	1			2
	^1H	^{13}C	Ac ^1H	^{13}C
1	C=O	174,40	C=O	174,40
2	—	131,10	—	131,10
3a	2,38 ddd, 14; 8; 1	33,31	2,51 m	33,37
3b	2,51 ddd, 14; 4; 2		2,54 m	
4	3,82 m	69,85	5,10 dq, 2; 6	69,75
5	1,48 m	37,36	1,55 m	37,08
6	1,25 m	25,48	1,23 m	25,54
7	"	29,23	"	28,72
8	"	25,48	"	23,62 ^a
9	1,35 m	37,22	1,55 m	42,61
10	3,60 m	71,80	4,85 quint., 6	211,39
11	1,35 m	37,22	1,55 m	42,61
12	1,25 m	25,48	1,23 m	23,75 ^a
13	"	29,33	"	22,65
14	"	29,33	"	33,12 ^b
15	"	25,48	"	73,76 ^c
16	1,35 m	33,31	1,55 m	82,55
17	3,40 m	74,09 ^a	4,85 dt, 12; 6	28,08 ^d
18	3,78 m	82,66	3,95 m	28,98 ^d
19	1,65 m 1,95 m	28,09 ^b	1,65 m 1,90 m	82,55
20	1,65 m 1,95 m	28,75 ^b	1,65 m 1,90 m	74,05 ^c
21	3,78 m	82,66	3,95 m	33,37 ^b
22	3,40 m	74,32 ^a	4,85 dt, 12; 6	25,21
23	1,35 m	33,31	1,55 m	29,30
24	1,25 m	25,48	1,23 m	29,63
25	"	29,33	"	"
26-29	"	29,63	"	"
30	"	"	"	31,89
31	"	"	"	22,65
32	"	31,89	"	14,10
33	"	22,66	"	151,90
34	0,86 t 7	14,09	0,87 t 7	77,98
35	7,19 d 1	151,88	7,07 d 1	19,07
36	5,07 dq 7; 1	78,02	5,00 dq 7; 1	—
37	1,39 d 7	19,07	1,40 d 7	—
Ac	—	—	2,02 2,04 2,08 (2)	—

^{a-d}Les valeurs sont interchangeables sur une même colonne.

les signaux suivants: 2,38 (H-3a) et 2,51 (H-3b) corrélés avec ceux à 3,82 (H-4), 7,19 (H-35), et 5,07 ppm (H-36), ce dernier couplé avec un méthyle à 1,39 ppm, $J_{36-37} = 7$ Hz. Le carbone asymétrique créé par l'hydroxyle en 4 entraîne des signaux distincts pour deux protons en 3 avec les constantes de couplage $J_{3a-4} = 8$ et $J_{3b-4} = 4$ Hz ainsi que $J_{3a-35} = 1$, $J_{3b-35} = 2$ et $J_{3a-3b} = 14$ Hz. Ces protons sont corrélés aux signaux à 33,31 (C-3) et à 69,85 (C-4) ppm sur le spectre de rmn ^1H - ^{13}C 2D.

Un enchaînement de 17 à 22 comportant un cycle tétrahydrofurannique et deux hydroxyles est mis en évidence par les signaux suivants: 2H en 17 et 22 à 3,40 ppm liés aux 2CH_2 en 16 et 23 à 1,35 ppm d'une part, et aux 2H en 18 et 21 à 3,78 ppm, d'autre part. Ces derniers sont corrélés avec 2 signaux à 1,65 ppm des 2H en 19 et 20 et à 1,95 ppm des deux autres protons en 19 et 20. Sur le spectre de rmn ^1H - ^{13}C 2D, les 2 car-

FIGURE 1. Fragmentation en smic-CH₄ de **1**.

bones hydroxylés en 17 et 22 résonnent à 74,09 et/ou 74,32 ppm et les C-18 et C-21 du cycle THF à 82,66 ppm. Deux chaînes aliphatiques ont été mises en évidence par un triplet d'un méthyle en 34 à 0,86 ppm et par des multiplets centrés à 1,25 et 1,35 ppm (CH₂ en α de OH). L'hydroxyle restant est isolé au milieu de la chaîne. En effet, le proton à 3,60 ppm est lié à deux méthylènes à 1,35 ppm sur la carte COSY et corrélé au carbone hydroxylé à 71,80 ppm.

Le spectre de rmn du ¹H du dérivé tétraacétylé de l'annomontacine [**1**] confirme la présence d'un cycle THF. Quatre protons géminés à fonction acétoxy sont déblindés à 4,85 ppm (3H en 10, en 17 et en 22) et 5,10 ppm (H en 4). Par contre, les 2H en 18 et 21 du cycle THF se détachent en se déplaçant légèrement à 3,95 ppm.

La position des hydroxyles et la longueur des chaînes de l'annomontacine [**1**] ont été déterminées par l'étude du smic-CH₄, dont le résultat est résumé Figure 1. Les fragmentations aux niveaux *a* et *b* produisent des pics à *m/z* 199, 425, et 269 et 355, respectivement. Par suite, les chaînes aliphatiques en 21 et 18 du cycle tétrahydrofurannique sont constituées de 13 carbones avec un hydroxyle d'une part et 15 carbones comportant trois hydroxyles et un cycle γ-lactonique α,β-insaturé et γ-méthylé, d'autre part. La coupure au niveau *c* donne naissance à des pics à *m/z* 241, 223 et 205, résultant de la perte de deux molécules d'eau, indiquant ainsi la position d'un hydroxyle en 10. Le smhr-ie confirme les positions des hydroxyles en 10 et en 17 par des fragments *m/z* 241, 1441 pour la formule brute C₁₃H₂₁O₄ (calculé 241,1440), *m/z* 355,2490 pour C₂₀H₃₅O₅ (calculé 355,2485), *m/z* 337,2373 pour C₂₀H₃₃O₄ (calculé 337,2379) et *m/z* 269,2484 pour C₁₇H₃₃O₂ (calculé 269,2481). La différence de 70 u.m.a. entre *m/z* 199 et *m/z* 269 représente bien un fragment tétrahydrofurannique. Le smic-CH₄ de l'annomontacine acétylée, [MH]⁺ à *m/z* 792 (0,5%), confirme la présence de quatre groupes acétoxyles par quatre pertes successives d'acide acétique (60 u.m.a.) à *m/z* 733 (100%), 673 (50), 613 (9) et 553 (3) et leurs positions en 4, 10, 17 et 22 par les fragmentations aux niveaux *a*, *b*, *c*, et *e* qui donnent des pics à *m/z* 551 (17%), 311 (3) et 481 (4), 325 (2) et 111 (6), respectivement.

Sur le spectre de rmn du ¹H de la tétraacétylannomontacine, les déplacements

chimiques du H en 18 et du H en 21 sont à 3,95 ppm, ce qui suggère une configuration trans de ces deux protons d'après la méthode de Hoyer et collègues (13, 14). De plus, nous avons précédemment observé une relation entre la configuration relative et les spectres de rmn (CDCl_3) du ^1H et du ^{13}C de la partie bistétrahydrofurannique des acétogénines (5) par l'analyse des données décrites (13–15). Les déplacements chimiques moyens de C-2 et C-5 du cycle THF sont de 83 et 81 ppm ($\Delta\delta$ ca. 2 ppm) pour l'isomère cis et 83 et 82 ppm ($\Delta\delta < 1,5$ ppm) pour l'isomère trans. Des méthines en α du THF, en rmn du ^1H et du ^{13}C , résonnent à 3,80 et 72 ppm pour les configurations relatives 2- α érythro et à 3,40 et 74 ppm pour 2- α thréo.

Les valeurs de l'annonontacine [1] correspondant à ces 4 positions 17, 18, 21, et 22: 3,40 et 74,09 (ou 74,32); 82,66; 82,66; 3,40 et 74,32 (ou 74,09) ppm, nous conduisent à proposer les stéréochimies relatives 17-18-21-22 thréo-trans-thréo (Figure 2).

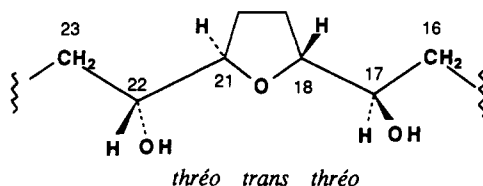


FIGURE 2. Configurations relatives de l'annonontacine [1] (un seul énantiomère est représenté).

L'annonacinone [2] posséderait les mêmes configurations relatives 15-16-19-20 thréo-trans-thréo d'après les déplacements chimiques correspondants suivants: 3,40 et 73,76 (ou 74,05); 82,55; 82,55; 3,40 et 74,05 (ou 73,76) et H-16 et H-19 de triacétate: 3.97 ppm [Tableau 1 et Xu *et al.* (2)]. La configuration des trois autres centres chiraux n'a pas été déterminée.

L'activité cytotoxique *in vitro* des acétogénines 1 et 2 a été examinée sur des lignées de cellules cancéreuses, l'adriamycine étant prise pour référence. Les résultats sont indiqués dans le Tableau 2. On observe que l'annonontacine [1] et l'annonacinone [2] possèdent une activité inhibitrice légèrement plus forte que celle de l'adriamycine sur les cellules leucémiques murines L 1210 et elles sont nettement moins toxiques que l'annonacine. La cytotoxicité des acétogénines 1, 2 et de l'annonacine sur les cellules de l'adénocarcinome mammaire humain MDA-MB231 est comparable à celle de l'adriamycine. L'annonontacine [1], l'annonacinone [2], et l'annonacine sont moins toxiques et inhibent moins la croissance des cellules d'un carcinome mammaire humain MCF7 que l'adriamycine.

Les acétogénines monotétrahydrofuranniques sont moins toxiques, excepté l'annonacine, que ne le sont les dérivés bistétrahydrofuranniques (3,4,16). Leurs dosages s'en trouvent facilités et leur utilisation en thérapeutique peut, dès lors, être envisagée.

TABLEAU 2. Activité Antitumorale des Acétogénines *in Vitro*.

Composés	Inhibition de Croissance: IC ₅₀ (μg/ml)		
	L1210	MDA-MB231	MCF7
Adriamycine	$2,38 \times 10^{-1}$	$5,48 \times 10^{-2}$	$4,47 \times 10^{-2}$
Annontacine [1]	$2,97 \times 10^{-2}$	$3,77 \times 10^{-2}$	$4,50 \times 10^{-1}$
Annonacinone [2]	$4,86 \times 10^{-2}$	$8,15 \times 10^{-2}$	$3,01 \times 10^{-1}$
Annonacine	$1,76 \times 10^{-6}$	$8,35 \times 10^{-2}$	$1,47 \times 10^{-1}$

PARTIE EXPERIMENTALE

GÉNÉRALITÉS.—Points de fusion déterminés sur microscope Reichert. Pouvoirs rotatoires mesurés sur polarimètre Schmidt-Haensch, type Polartronic I. Spectres enregistrés sur les appareils suivants: uv, Unicam SP 1800; ir, Perkin-Elmer 257; rmn, Bruker AC 300TF (^1H : 300 MHz, ^{13}C 75: MHz); sm, VG Micromass 70; smhr, V.G. Analytical MM ZAB-HF.

MATERIEL VEGETAL.—Les graines de l'*A. montana* ont été récoltées à Tonate, Guyane française, en juin 1980. Des échantillons d'herbier sont déposés sous la référence HJ 2258 au Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris.

EXTRACTION ET ISOLEMENT.—Les graines pulvérisées (2,65 kg) ont été extraites, au Soxhlet, par l'éther de pétrole puis par CH_2Cl_2 . L'extrait à l'éther de pétrole a été concentré; les précipités obtenus ont été essorés (20 g) et réunis au résidu de l'évaporation de l'extrait au CH_2Cl_2 (171 g). L'ensemble a été chromatographié plusieurs fois sur colonne de silice en éluant par un mélange CH_2Cl_2 -MeOH (95:5–90:10) ou CH_2Cl_2 -THF-MeOH (85:10:5). Les acétogénines ont été éluées d'une colonne dans l'ordre suivant: l'annonacinone [2], l'annonmontacine [1], l'annonacine, la goniotalamicine, l'annonomicine, et la montanacine. Elles ont été purifiées sur colonne ou ccm préparative de silice, en éluant par CH_2Cl_2 -THF-MeOH (85:10:5) et révélant par le réactif de Kedde ou la vanilline sulfurique. Nous avons obtenu 0,48, 0,16, 5,30, 0,44, 0,15 et 0,66 g, respectivement, des acétogénines pures.

Annomontacin [1].—Uv: λ max (MeOH) 224 nm (log ϵ 4,22); ir (KBr): 1640 et 1745 cm^{-1} .

ESSAI BIOLOGIQUE.—Les cytotoxicités ont été déterminées au Laboratoire de Physiologie-Pharmacologie de la Faculté de Pharmacie de Grenoble.

REMERCIEMENTS

Les auteurs expriment leur gratitude au Dr. J. Jacquemin (Centre O.R.S.T.O.M. de Guyane) pour la récolte et l'identification du matériel végétal ainsi qu'à Mme Itier (Service Central d'Analyse du CNRS, Lyon) pour les spectres de masse à haute résolution.

BIBLIOGRAPHIE

1. S.D. Jolad, J.J. Hoffmann, K.H. Schram, J.R. Cole, M.S. Tempesta, G.R. Kreik, et R.P. Bates, *J. Org. Chem.*, **47**, 3151 (1982).
2. L. Xu, C.J. Chang, J.G. Yu, et J.M. Cassady, *J. Org. Chem.*, **54**, 5418 (1989).
3. Y.H. Hui, J.K. Rupprecht, J.E. Anderson, Y.M. Liu, D.L. Smith, C.J. Chang, et J.L. McLaughlin, *Tetrahedron*, **45**, 6941 (1989).
4. J.K. Rupprecht, Y.H. Hui, et J.L. McLaughlin, *J. Nat. Prod.*, **53**, 237 (1990).
5. A. Jossang, B. Dubaele, A. Cavé, M.H. Bartoli, et H. Bériel, *Tetrahedron Lett.*, **31**, 1861 (1990).
6. T.G. McCloud, D.L. Smith, C.J. Chang, et J.M. Cassady, *Experientia*, **43**, 947 (1987).
7. A. Alkofahi, J.K. Rupprecht, D.L. Smith, C.J. Chang, et J.L. McLaughlin, *Experientia*, **44**, 83 (1988).
8. X.H. Li, Y.H. Hui, J.K. Rupprecht, Y.M. Liu, K.V. Wood, D.L. Smith, C.J. Chang, et J.L. McLaughlin, *J. Nat. Prod.*, **53**, 81 (1990).
9. F. Lieb, M. Nonfon, U. Wachendorff-Neumann, et D. Wendisch, *Planta Med.*, **56**, 317 (1990).
10. M. Nonfon, F. Lieb, H. Moeschler, et D. Wendisch, *Phytochemistry*, **29**, 1951 (1990).
11. S.H. Myint, A. Laurens, R. Hocquemiller, A. Cavé, D. Davoust, et D. Cortes, *Heterocycles*, **31**, 861 (1990).
12. A. Hisham, L.A.C. Pieters, M. Claeys, E. Esmans, R. Dommissie, et A.J. Vlietinck, *Tetrahedron Lett.*, **31**, 4649 (1990).
13. T.R. Hoye et J.C. Suhadolnik, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 4402 (1987).
14. T.R. Hoye et Z.P. Zhuang, *J. Org. Chem.*, **53**, 5578 (1988).
15. G.R. Pettit, G.M. Cragg, J. Polonsky, D.L. Herald, A. Goswami, C.R. Smith, C. Moretti, J.M. Schmidt, et D. Weisleder, *Can. J. Chem.*, **65**, 1433 (1987).
16. Y.H. Hui, J.K. Rupprecht, Y.M. Lin, J.E. Anderson, D.L. Smith, C.J. Chang, et J.L. McLaughlin, *J. Nat. Prod.*, **52**, 463 (1989).

Received 15 October 1990