

Rioclarine et Membranacine, Deux Nouvelles Acetogenines Bis-tetrahydrofuraniques des Graines de *Rollinia membranacea*

Jairo Saez, Sevser Sahpaz, Lucinda Villaescusa,
Reynald Hocquemiller, André Cavé, and Diego Cortes

J. Nat. Prod., **1993**, 56 (3), 351-356 • DOI:
10.1021/np50093a007 • 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/np50093a007> 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

RIOCLARINE ET MEMBRANACINE, DEUX NOUVELLES ACETOGENINES BIS-TETRAHYDROFURANIQUES DES GRAINES DE *ROLLINIA MEMBRANACEA*¹

JAIRO SAEZ,

Departamento de Química, Universidad de Antioquia, AA 1226 Medellín, Colombia

SEVSEER SAHPAZ, LUCINDA VILLAESCUSA,² REYNALD HOCQUEMILLER, ANDRÉ CAVÉ,

Laboratoire de Pharmacognosie, Associé au CNRS, Faculté de Pharmacie, Université Paris XI,
92296 Châtenay-Malabry Cedex, France

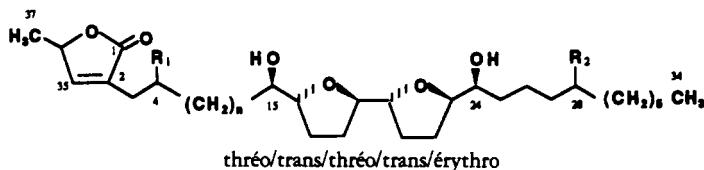
et DIEGO CORTES*

Laboratoire de Pharmacognosie, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université de Rouen,
76800 Saint Etienne de Rouvray, France

ABSTRACT.—The fractionation of the cytotoxic MeOH extract of the seeds of *Rollinia membranacea* (Annonaceae) led to the isolation of two new adjacent bis-tetrahydrofuran acetogenins, rioclarin [1] and membranacin [2], and two other known acetogenins, squamocin [3] and rolliniastatin 1 [4]. In addition to these bioactive acetogenins, a new furofuranic lignan (membrin [5]) and a known one (magnolin [6]), have been obtained. Rioclarin [1] is an original tetrahydroxylated bis-tetrahydrofuran acetogenin. Its structure was established on the basis of ms and 1D and 2D nmr experiments.

Parmi les espèces du genre *Rollinia* (Annonaceae), quatre contiennent des acétogénines γ -lactones tétrahydrofuraniques (THF): *Rollinia papilionella* (1–4), *Rollinia mucosa* (5,6), *Rollinia ullei* (7,8), et *Rollinia sylvatica* (9). La plupart des acétogénines isolées chez les *Rollinia* comportent un système bis-THF et montrent une importante cytotoxicité sur différentes lignées cellulaires (10). L'espèce que nous avons étudiée, *Rollinia membranacea* Tr. & Pl. n'a fait auparavant l'objet d'aucune étude chimique ou pharmacologique. Elle a été récoltée en Colombie, dans la région d'Antioquia, sur le cañon du "rio Claro."

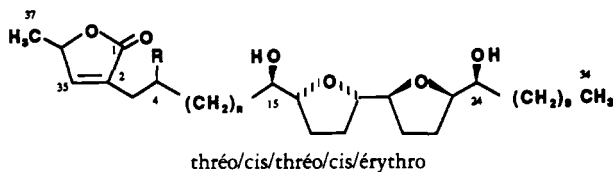
Dans le présent travail, nous décrivons l'isolement de quatre acétogénines bis-THF cytotoxiques, deux originales: la rioclarine [1] et la membranacine [2], et deux connues: la squamocine [3] et la rolliniastatine 1 [4]; de plus, deux lignanes furofuraniques, l'un nouveau, la membrine [5], et l'autre connu, la magnoline [6], ont aussi été isolés des graines de *R. membranacea*.



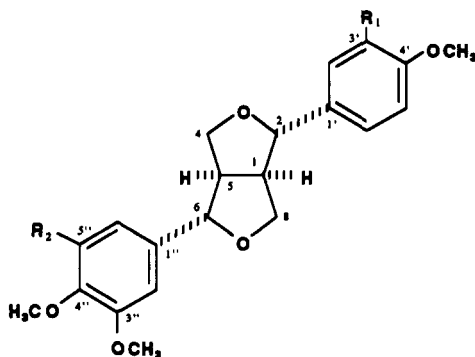
- 1 $R_1=R_2=OH$
3 $R_1=H, R_2=OH$

¹Partie 18 dans la série "Acétogénines des Annonacées." Pour la partie 17 voir: D. Cortes, S.H. Myint, J.C. Harmange, S. Sahpaz, et B. Figadère, *Tetrahedron Lett.*, **33**, 5225 (1992).

²Adresse permanente: Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Alcalá de Henares, 28871 Alcalá de Henares, Espagne.



- 2 R=H
4 R=OH



- 5 R₁=R₂=H
6 R₁=R₂=OMe

RÉSULTATS ET DISCUSSION

L'extrait méthanolique des graines de *R. membranacea* (A) présente une importante activité toxique envers les larves d'*Artemia salina* (11). Le fractionnement de l'extrait est effectué dans un premier temps par partage liquide/liquide entre l'extrait méthanolique (additionné de 5% d'eau) et l'hexane. La solution hydrométhanolique est réextraite ensuite par le CH₂Cl₂. La phase organique (B) conserve l'activité larvicide et cytotoxique de A. Par chromatographies successives de B sur colonne, on obtient quatre acétogénines 1–4 et deux lignanes furofuraniques 5 et 6.

La rioclarine [1] présente sur le smic (isobutane) un pic à m/z 639 [MH]⁺ correspondant à une formule moléculaire C₃₇H₆₇O₈; le smic (NH₃) présente un pic à m/z 656 [M + NH₄]⁺ et un autre à m/z 639 [MH]⁺. Les pertes successives de quatre molécules d'eau à partir du pic à m/z 639 laissent penser que 1 possède quatre OH. Ceci est confirmé par la préparation à partir de 1 (Ac₂O/pyridine) d'un dérivé tétraacétylé [1a].

Par analyse des spectres 1D-rmn (¹H rmn et ¹³C rmn SPIN ECHO) et 2D-rmn (¹H-¹H COSY 45 et ¹H-¹³C XH CORR) de la rioclarine [1], on observe d'abord les signaux caractéristiques d'une γ -lactone α,β -insaturée, à δ 7,17 (CH-35), δ 5,03 (CH-36), et δ 1,39 (CH₃-37), en rmn de ¹H, corrélés (XH CORR) avec les résonances des carbones à δ 151,80, δ 77,90, et δ 18,96, respectivement. Ensuite, un système ABX est mis en évidence sur le spectre ¹H-rmn, entre les signaux à δ 2,38 et δ 2,52 (CH₂-3) et à δ 3,81 (CH-4), corrélés (XH CORR) avec les carbones à δ 33,09 et δ 69,72 respectivement; ce système est toujours observé chez les acétogénines hydroxylées en position 4 (10,12) (voir Figure 1).

En ce qui concerne les autres résonances de méthine oxygéné détectées en ¹³C-rmn, quatre à δ 83,25, δ 82,72, δ 82,48, et δ 82,06 correspondent aux deux noyaux THF, et deux à δ 74,03 et δ 71,36 sont attribuables aux carbones hydroxylés adjacents aux cy-

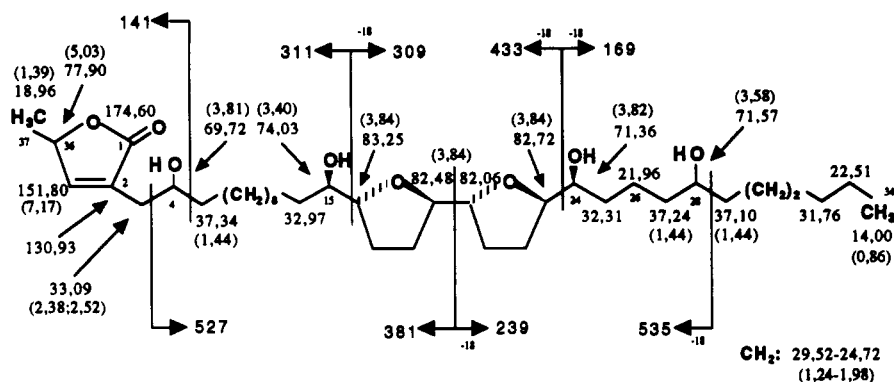


FIGURE 1. Corrélation hétéronucléaire ^1H - ^{13}C (^1H rmn entre parenthèses)^a de la rioclarine [**1**]^b; fragments importants en sm de **1**.

^aConstantes de couplage ^1H -rmn (200 MHz): $J_{3a-3b} = 16$ Hz; $J_{3a-4} = 3$ Hz; $J_{3b-4} = 8$ Hz; $J_{3a-35} < 1$ Hz; $J_{33-34} = 7$ Hz; $J_{35-36} = 1,4$ Hz; $J_{36-37} = 7$ Hz.

^bLes déplacements chimiques (^{13}C rmn) avec une différence $\Delta\delta < 1$ ppm, peuvent être inversés.

cles THF; elles sont corrélées (XH CORR) avec deux multiplets vers δ 3,8 (5H) et δ 3,4 (1H) en ^1H rmn (Figure 1). Ces données, ainsi que les valeurs de ^1H rmn de la tétracétylrioclarine [**1a**], sont en accord avec une structure de configuration relative thréo/trans/thréo/trans/érythro, du type uvaricine (13), configuration retrouvée récemment dans d'autres acétogénines bis-THF (14, 15). La position du système THF α, α' -dihydroxylé sur la chaîne hydrocarbonée est déduite des fragmentations de masse (smic et smie) entre C-15 et C-24 (Figure 1). Le dernier signal de méthine oxygénée à δ 71,57, corrélé avec un multiplet à δ 3,58 (1H), est caractéristique d'une fonction alcool isolée sur la chaîne alkyle de l'acétogénine, comme dans le cas de la squamocine [**3**] et de la squamostatine A (OH en position 28) (14, 16, 17) ou dans celui de l'annonacine et de la corrossoline (OH en position 10) (12, 18). La présence sur le spectre de ^{13}C rmn SPIN ECHO de **1** d'un signal de méthylène à δ 21,96, observé uniquement chez les acétogénines hydroxylées en position 28 (14, 16, 17) et attribuable au C-26 par un double effet β des deux OH en 24 et 28, permet d'envisager pour **1** la même substitution par un OH en position 28. Ceci est confirmé par la présence sur le smic de **1** de deux pics à m/z 535 et 517, correspondant à la coupure entre les carbones C-28 et C-29 (voir Figure 1).

La rioclarine [**1**] est la première acétogénine bis-THF adjacents hydroxylée à la fois en position 4 et en position 28. Elle possède, au niveau des centres chiraux du système bis-THF α, α' -dihydroxylé, une configuration relative identique à celle de la squamocine [**3**] (14), structure présente elle aussi dans les graines de *R. membranacea*.

La membranacine [**2**] présente un pic en smic (NH_3) à m/z 607 [$M + H$]⁺ correspondant à une formule moléculaire $\text{C}_{37}\text{H}_{67}\text{O}_6$. Les spectres de rmn et de masse sont compatibles avec la structure d'une acétogénine bis-THF possédant uniquement deux hydroxyles en α et α' des cycles THF. Le système bis-THF adjacent a le même emplacement que dans le cas de la rioclarine [**1**]: entre C-15 et C-24 (voir Figure 2). En ce qui concerne la configuration relative de la membranacine [**2**], les données de ^{13}C -rmn au niveau des centres chiraux du système bis-THF α, α' -dihydroxylé, sont identiques à ceux de la rolliniastatine 1 [**4**] dont la configuration relative (thréo/cis/thréo/cis/érythro) avait été déduite précédemment (5, 13); de plus, les données de ^1H -rmn des dérivés acétylés [**2a**] et [**4a**] sont en accord avec une configuration de type rolliniastatine 1 [**4**]

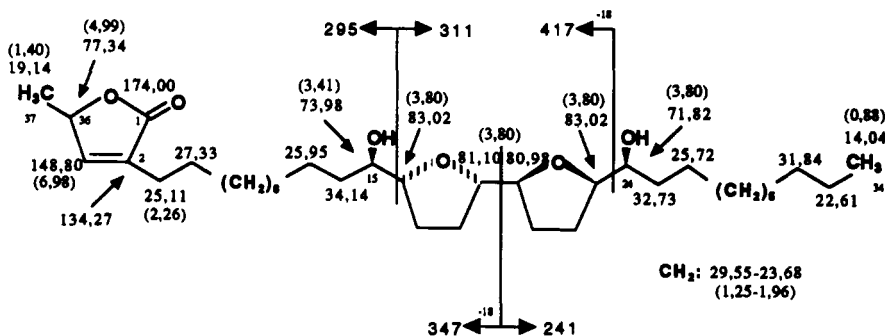


FIGURE 2. ^{13}C rmn et ^1H rmn (entre parenthèses)^a de la membranacine [2]^b; fragments importants en sm de 2.

^aConstantes de couplage ^1H -rmn (200 MHz): $J_{3-4} = 8$ Hz; $J_{3-35} < 1$ Hz; $J_{33-34} = 7$ Hz; $J_{35-36} = 1,5$ Hz; $J_{36-37} = 7,5$ Hz.

^bLes déplacements chimiques (^{13}C rmn) avec une différence $\Delta\delta < 1$ ppm, peuvent être inversés.

(13) pour la membranacine [2]. La membranacine [2] est une nouvelle acétogénine, diastéréoisomère de la desacetylvaricine (19) et de l'isodesacetylvaricine (20); quant à la rolliniastatine 1 [4], isolée pour la première fois des graines de *R. mucosa* (5), elle constitue le produit majoritaire des graines de *R. membranacea*.

La membrine [5] ($[\text{M}]^+$ à m/z 356) et la magnoline [6] ($[\text{M}]^+$ à m/z 416) appartiennent au groupe des lignanes furofuraniques, peu fréquents chez les Annonacées, mais trouvés récemment chez *R. mucosa* (21) et *Asimina triloba* (22). La membrine [5] est un produit nouveau, caractérisé par la présence de trois méthoxyles sur les noyaux aromatiques; sa configuration, identique à celle de la magnoline, a été déduite de son pouvoir rotatoire et des ses données de ^{13}C rmn (voir partie expérimentale).

PARTIE EXPÉRIMENTALE

GÉNÉRALITÉS.—Pouvoirs rotatoires mesurés sur polarimètre Schmidt-Haensch, type Polartronic I. Les spectres ont été enregistrés sur les appareils suivants: ir, Perkin-Elmer 257; ^1H and ^{13}C rmn, Bruker AC-200, respectivement à 200 et à 50 MHz; sm, spectromètre Nermag-sidar et Kratos MS-80; les chromatographies sur colonne ont été réalisées sur gel de silice "flash" ou 60 H; les chromatographies en couche mince analytiques sur gel de silice 60 F 254.

MATÉRIEL VÉGÉTAL.—Les graines de *R. membranacea* ont été récoltées en Colombie, dans la région d'Antioquia à San Luis, sur le cañon du "rio Claro" à 330 m d'altitude. Un échantillon d'herbier est déposé sous la référence S.M. 1106 à l'Université d'Antioquia, à Medellin.

EXTRACTION ET ISOLEMENT.—Les graines séchées et pulvérisées (1900 g) ont été extraites par le MeOH dans un appareil de type Soxhlet. L'extrait méthanolique (A) présente une importante activité toxique envers les larves d'*Ar. salina* (11). Le fractionnement de l'extrait est effectué dans un premier temps par partage liquide/liquide entre l'extrait méthanolique (additionné de 5% d'eau) et l'hexane. La solution hydrométhanolique est partiellement évaporée sous vide et réextraite ensuite par le CH_2Cl_2 . La phase organique est séchée, filtrée, et évaporée sous vide; le résidu (B) ainsi obtenu conserve l'activité larvicide et cytotoxique de l'extrait méthanolique initial (A). Par chromatographie sur colonne "flash" [système: cyclohexane-AcOEt-MeOH (7:2:1)] suivie par chromatographies successives sur colonne de gel de silice 60H de B, on obtient quatre acétogénines 1-4 [système: CH_2Cl_2 -AcOEt-MeOH (5:4:1)] et deux lignanes furofuraniques 5 et 6 [système: cyclohexane-AcOEt (6,5:4,5)].

Rioclarine [1].— $\text{C}_{37}\text{H}_{66}\text{O}_8$; $[\alpha]_D^{20}$ ($c = 0,4$, MeOH); ir (film) ν cm^{-1} 3400, 2910, 2840, 1750, 1460, 1365, 1315, 1190, 1150, 945, 865; smic (isobutane) m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ 639, $[\text{MH} - \text{H}_2\text{O}]^+$ 621, $[\text{MH} - 2\text{H}_2\text{O}]^+$ 603, $[\text{MH} - 3\text{H}_2\text{O}]^+$ 585, $[\text{MH} - 4\text{H}_2\text{O}]^+$ 567, 537, 527, 517, 509, 491, 433, 415, 397, 381, 363, 345, 311, 309, 293, 291, 239, 169, 141; ^1H et ^{13}C rmn voir Figure 1.

Tétracyclrioclarine [1a].—Rioclarine [1] (10 mg) est dissous dans 0,2 ml de pyridine et traité par 0,4

ml d'Ac₂O. Après 12 h de contact, le produit de réaction est lavé, réextrait par CH₂Cl₂, et le solvant évaporé; la tétracétylrioclarine est obtenue quantitativement. Ir (film) ν cm⁻¹ 1750, 1730; smic (NH₃) *m/z* [M + H]⁺ 807, [MH - AcOH]⁺ 747, [MH - 2AcOH]⁺ 687, [MH - 3AcOH]⁺ 627, [MH - 4AcOH]⁺ 567, 535, 475, 465, 405, 345, 341; ¹H rnm (200 MHz, CDCl₃) δ 0,88 (t, J = 7 Hz, Me-34), 1,22-1,96 (m, CH₂), 1,40 (d, J = 7 Hz, Me-37), 2,04 (s, 4-OAc, 28-OAc), 2,06 (s, 24-OAc), 2,08 (s, 15-OAc), 2,55 (m, H-3), 3,84-3,96 (m, H-16, -19, -20, -23), 4,84 (m, H-15, -24, -28), 5,03 (dq, J = 7 Hz, J' = 1,4 Hz, H-36), 5,11 (m, H-4), 7,06 (d, J' = 1,4 Hz, H-35).

Membranacine [2].—C₃₇H₆₆O₆; [α]_D + 22,5 (c = 0,2, MeOH); ir (film) ν cm⁻¹ 3500, 2910, 2840, 1750, 1455, 1310, 1050, 1020; smic (NH₃) *m/z* [M + NH₄]⁺ 624, [M + H]⁺ 607, 417, 399, 347, 311, 295, 241; ¹H et ¹³C rnm voir Figure 2.

Diacétylmembranacine [2a].—Préparée à partir de **2** (Ac₂O/pyridine). Smic (NH₃) *m/z* [M + NH₄]⁺ 708; ¹H rnm (200 MHz, CDCl₃) δ 0,87 (t, J = 7 Hz, Me-34), 1,25-1,90 (m, CH₂), 1,40 (d, J = 7 Hz, Me-37), 2,04 (s, 24-OAc), 2,07 (s, 15-OAc), 2,25 (t, J = 8 Hz, H-3), 3,81-3,95 (m, H-16, -19, -20, -23), 4,86 (m, H-15, -24), 4,97 (dq, J = 7 Hz, J' = 1,5 Hz, H-36), 6,96 (d, J' = 1,4 Hz, H-35).

Triacétylsquamocine [3a].—Préparée à partir de **3** (Ac₂O/pyridine). Smic (NH₃) *m/z* [M + NH₄]⁺ 766; ¹H rnm (200 MHz, CDCl₃) δ 0,86 (t, J = 7 Hz, Me-34), 1,25-1,94 (m, CH₂), 1,42 (d, J = 7 Hz, Me-37), 2,02 (s, 28-OAc), 2,05 (s, 24-OAc), 2,07 (s, 15-OAc), 2,26 (t, J = 8 Hz, H-3), 3,85-3,96 (m, H-16, -19, -20, -23), 4,86 (m, H-15, -24, -28), 4,98 (dq, J = 7 Hz, J' = 1,2 Hz, H-36), 6,98 (d, J' = 1,4 Hz, H-35).

Triacétylrolliniastatine 1 [4a].—Préparée à partir de **4** (Ac₂O/pyridine). Smic (NH₃) *m/z* [M + NH₄]⁺ 766; ¹H rnm (200 MHz, CDCl₃) δ 0,87 (t, J = 7 Hz, Me-34), 1,25-1,95 (m, CH₂), 1,40 (d, J = 7 Hz, Me-37), 2,02 (s, 4-OAc), 2,05 (s, 24-OAc), 2,07 (s, 15-OAc), 2,54 (m, H-3), 3,82-3,95 (m, H-16, -19, -20, -23), 4,87 (m, H-15, -24), 5,00 (dq, J = 7 Hz, J' = 1,4 Hz, H-36), 5,08 (m, H-4), 7,06 (d, J' = 1,4 Hz, H-35).

Membrane [5].—C₂₁H₂₄O₅; [α]_D + 52,3 (c = 0,08; MeOH); ir (film) ν cm⁻¹ 1585, 1510, 1460, 1420, 1322, 1260, 1230, 1120; smie *m/z* (%) [M]⁺ 356 (60), 325 (9), 219 (7), [(CH₃)₂ - Ar - CH=CH - CH₂ - OH]⁺ 194 (4), 189 (19), 177 (27), [(CH₃)₂ - Ar - CO]⁺ 165 (66), [CH₃ - Ar - CH=CH - CH₂ - OH]⁺ 164 (13), [(CH₃)₂ - Ar - CH₂]⁺ 151 (28), 147 (46), [CH₃ - Ar - CO]⁺ 135 (100), [CH₃ - Ar - CH₂]⁺ 121 (44); ¹H rnm (200 MHz, CDCl₃) δ 3,05 (2H, m, H-1 et H-5), 3,80, 3,86 et 3,89 (9H, 3s, 4'-OCH₃, 3''-OCH₃, 4''-OCH₃), 3,90 et 4,22 (4H, 2m, H-4 et H-8), 4,73 (2H, m, H-2 et H-6), 6,90 et 7,30 (7H, 2m, H-2', -3', -5', -6', -2'', -5'', -6''); ¹³C rnm SPIN ECHO (50 MHz, CDCl₃) δ 159,06 (C-4'), 149,07 et 148,49 (C-3'' et C-4''), 133,48 et 132,96 (C-1 et C-1'), 127,19 (C-2' et C-6'), 118,15 (C-6''), 113,81 (C-3' et C-5'), 110,95 et 109,12 (C-2'' et C-5''), 85,70 et 85,46 (C-2 et C-6), 71,71 et 71,40 (C-4 et C-8), 55,80 et 55,15 (4'-OCH₃, 3''-OCH₃, 4''-OCH₃), 54,13 et 53,97 (C-1 et C-5).

REMERCIEMENTS

Le présent travail a été financé par la Direction de la Recherche et des Etudes Doctorales (DRED). L'un des auteurs (L. V.) remercie l'Université d'Alcalá de Henares (Espagne) pour l'attribution d'une bourse de recherche.

BIBLIOGRAPHIE

1. T.T. Dabrah et A.T. Sneden, *J. Nat. Prod.*, **47**, 652 (1984).
2. T.T. Dabrah et A.T. Sneden, *Phytochemistry*, **23**, 2013 (1984).
3. M.J. Abreo et A.T. Sneden, *J. Nat. Prod.*, **52**, 822 (1989).
4. M.J. Abreo et A.T. Sneden, *J. Nat. Prod.*, **53**, 983 (1990).
5. 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).
6. G.R. Pettit, R. Riensen, J.E. Leet, J. Polonsky, C.R. Smith, J.M. Schmidt, C. Dufresne, D. Schaufelberger, et C. Moretti, *Heterocycles*, **28**, 213 (1989).
7. O. Laprévotte, F. Roblot, R. Hocquemiller, et A. Cavé, *Tetrahedron Lett.*, **31**, 2283 (1990).
8. O. Laprévotte, F. Roblot, R. Hocquemiller, A. Cavé, B. Charles, et J.C. Tabet, *Phytochemistry*, **30**, 2721 (1991).
9. K.J. Mikolajczak, R.V. Madrigal, J.K. Rupprecht, Y.H. Hui, Y.M. Liu, D.L. Smith, et J.L. McLaughlin, *Experientia*, **46**, 324 (1990).
10. J.K. Rupprecht, Y.H. Hui, et J.L. McLaughlin, *J. Nat. Prod.*, **53**, 237 (1990).
11. B.N. Meyer, N.R. Ferrigni, J.E. Putnam, L.B. Jackobsen, D.E. Nichols, et J.L. McLaughlin, *Planta Med.*, **45**, 31 (1982).
12. D. Cortes, S.H. Myint, A. Laurens, R. Hocquemiller, M. Leboeuf, et A. Cavé, *Can. J. Chem.*, **69**, 8 (1991).

13. T.R. Hoye et Z.P. Zhuang, *J. Org. Chem.*, **53**, 5578 (1988).
14. D. Cortes, S.H. Myint, et R. Hocquemiller, *Tetrahedron*, **47**, 8195 (1991).
15. D. Cortes, S.H. Myint, M. Leboeuf, et A. Cavé, *Tetrahedron Lett.*, **32**, 6133 (1991).
16. Y. Fujimoto, T. Eguchi, K. Kakinuma, N. Ikekawa, M. Sahai, et Y.F. Gupta, *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 4802 (1988).
17. Y. Fujimoto, C. Murasaki, K. Kakinuma, T. Eguchi, N. Ikekawa, M. Furuya, K. Hirayama, T. Ikekawa, M. Sahai, Y.K. Gupta, et A.B. Ray, *Tetrahedron Lett.*, **31**, 535 (1990).
18. S.H. Myint, D. Cortes, A. Laurens, R. Hocquemiller, M. Leboeuf, A. Cavé, J. Corte, et A.M. Quéro, *Phytochemistry*, **30**, 3335 (1991).
19. S.D. Jolad, J.J. Hoffmann, J.R. Cole, C.E. Barry III, R.B. Bates, G.S. Linz, et W. König, *J. Nat. Prod.*, **48**, 644 (1985).
20. A. Hisham, L.A.C. Pieters, M. Claeys, H. Van den Henvel, E. Esmans, R. Dommissie, et A.J. Vlietinck, *Phytochemistry*, **30**, 2373 (1991).
21. M. de Queiroz Paulo, M.A.C. Kaplan, O. Laprèvote, F. Roblot, R. Hocquemiller, et A. Cavé, *Fitoterapia*, **62**, 150 (1991).
22. G. Zhao, Y. Hui, J.K. Rupprecht, J.L. McLaughlin, et K.V. Wood, *J. Nat. Prod.*, **55**, 347 (1992).

Received 6 July 1992