

GRANDIFLOROSIDE ET METHYLGRANDIFLOROSIDE, GLUCOSIDES IRIDOIDES NOUVEAUX D'*ANTHOCLEISTA GRANDIFLORA*

JEAN-PAUL CHAPELLE

Laboratoire de Matière Médicale, Faculté de Médecine de l'Université de Liège,
Institut de Pharmacie, rue Fusch, 5, B-4000 Liège, Belgique

(Received 5 January 1976)

Key Word Index—*Anthocleista grandiflora*; Loganiaceae; iridoïd glucosides.

Abstract—From the bark of *Anthocleista grandiflora*, two new iridoïd glucosides were isolated, and their structures established.

INTRODUCTION

Les écorces de tronc d'*Anthocleista grandiflora* Gilg (= *A. zambesiaca* Baker) sont utilisées à travers l'Afrique occidentale comme fébrifuge et antimalarique [1]. Après un premier travail qui permettait d'isoler le swéroside et l'erythrocentaurine [2], l'étude s'est poursuivie par le fractionnement des constituants phénoliques. Cette publication décrit l'isolement et la détermination de structure de deux glucosides séco-iridoïdes phénoliques nouveaux.

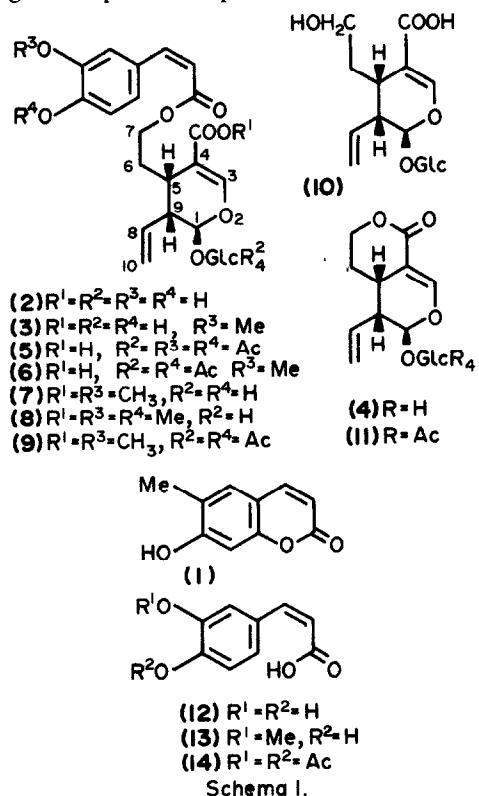
RESULTATS ET DISCUSSION

L'extrait méthanolique des écorces d'*A. grandiflora* est évaporé à sec et repris par H₂O. La solution aqueuse est extraite par EtOAc et, après évaporation, le résidu est fractionné par chromatographie. Il fournit, à côté de la scopolétine et du swéroside, deux nouveaux glucosides séco-iridoides, le grandifloroside et le méthylgrandifloroside. La scopolétine (1) est spectralement et chromatographiquement identique à un échantillon authentique. Le swéroside (4), déjà isolé précédemment, se retrouve dans cet extrait. Par acétylation, il fournit le tétraacétylswéroside (11) dont le spectre ¹H NMR montre, à $\delta = 7,55$ un doublet attribuable au proton H-3. Le spectre de ¹³C NMR visualise les atomes de carbone les plus caractéristiques, C-3, C-4, C-8, C-10, C-11, confirmant ainsi l'appartenance du noyau au groupe des séco-iridoides.

Le grandifloroside (2), $C_{25}H_{30}O_{13}$, et le méthyl-grandifloroside (3), $C_{26}H_{32}O_{13}$, sont des substances phénoliques donnant, en CCM, une réaction positive avec le réactif de Gibbs. Leur spectre UV, enregistré en milieu neutre, est très proche de celui de l'acide chlorogénique et subit, en milieu alcalin, un effet bathochrome similaire. La saponification de 2 libère effectivement l'acide 3,4-dihydroxycinnamique (12 = acide caféique), et celle de 3, l'acide 4-hydroxy-3-méthoxycinnamique (13 = acide férulique). Ces deux acides phénols sont isolés et identifiés par comparaison des données spectrales et du comportement chromatographique avec des échantillons authentiques.

Lorsque, après saponification, les solutions sont acidifiées nettement ($\text{pH } 2$), on retrouve, dans chacun des

résidus d'hydrolyse, un glucoside identique, le swéroside, identifié sous la forme de tétraacétylswéroside (11). Cependant, lorsque l'hydrolyse alcaline n'est pas suivie d'une acidification, le milieu étant amené à pH neutre, le swéroside est absent alors que les dérivés 12 et 13 sont à nouveau identifiés. Dans ce cas, la purification chromatographique de chacun des résidus conduit à l'isolement de l'acide swérosidique (10), responsable de la formation, en milieu acide, du swéroside. Acétylé par le mélange anhydride acétique-pyridine, 10 fournit directement 11, l'acide swérosidique tendant facilement à une configuration plus stable par lactonisation.



Scheme I.

Il apparaît donc que l'acide swérosidique, précurseur du swéroside, est la partie séco-iridoïde commune aux glucosides **2** et **3**. Un de ses groupements-OH y est engagé dans une liaison ester avec l'acide caféïque et l'acide férulique respectivement. Les 4 groupements-OH du glucose constitutif de **2** et **3** sont libres. En effet, **2** fournit par acétylation un dérivé hexaacétyle (**5**), $C_{36}H_{42}O_{19}$, pour lequel le spectre 1H NMR indique l'existence de 4 acétoxyles aliphatiques ($\delta = 2,14 - 1,96$) dont les signaux sont analogues à ceux du spectre du tétraacétylwéroside; 2 acétoxyles aromatiques se traduisent par un unique singulet (6H) à $\delta = 2,30$. L'acide 3,4-diacétoxycinnamique (**14**), obtenu par acétylation de l'acide caféïque, donne en spectrométrie 1H NMR, un signal identique à $\delta = 2,30$ (s, 6H, 2 \times Ar-OCOMe). D'autre part, le dérivé pentaacétyle (**6**), $C_{36}H_{42}O_{18}$, obtenu par acétylation de **3**, exhibe aussi 4 signaux d'acétoxyles aliphatiques entre 2,10 et 1,95 (12 H, 4 \times OCOMe) et un singulet correspondant à 1 seul acétoxyde aromatique à 2,30 (3 H, Ar-OCOMe).

La spectrométrie de masse montre pour chacun des dérivés (**5**) et (**6**) l'existence d'un important pic à $m/e = 331$, caractéristique de l'ion fragment tétraacétyl-glucooxonium. Les ions de m/e 271, 229, 211, 169, 127, 109 se rencontrent également dans les SM des glucosides tétraacétyles [3, 4].

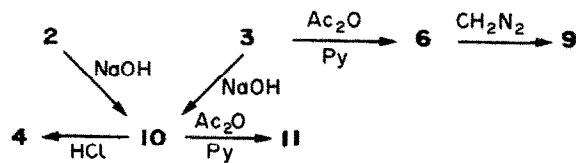
On peut conclure de ceci que seul le groupement-OH en 7 de l'acide swérosidique est susceptible de participer à la liaison ester, ce blocage empêchant toute possibilité de lactonisation avec le groupement -COOH situé en 4, d'où l'attribution au grandifloroside et au méthylgrandifloroside des structures **2** et **3**.

L'existence d'une fonction-COOH libre est montrée par la solubilisation dans une solution aqueuse saturée de $NaHCO_3$ des dérivés acétylés (**5**) et (**6**), insolubles dans H_2O . De plus, la méthylation de **3** par CH_2N_2 fournit 2 dérivés différents, le premier, diméthylé, ayant perdu ses propriétés phénoliques, le second, monométhylé, les conservant, ce qui prouve qu'il y a, outre le OH phénolique, une autre fonction méthylable dans ces conditions. Le spectre UV de ces dérivés laisse apparaître un maximum nettement marqué dans la région de 235 nm, témoignant de la transformation de $O-CH = C-COOH$ en $O-CH = C-COOOMe$. Enfin, la méthylation de **5** par CH_2N_2 donne un seul dérivé monométhylé (**9**) dont le spectre 1H NMR ne diffère de celui de **5** que par l'apparition d'un signal supplémentaire à $\delta = 3,70$ (s, 3H, COOMe); un tel signal se rencontre chez les iridoïdes substitués en 4 par un groupement carbométhoxyle.

Les signaux des spectres de 1H NMR et de SM de **5** et **6** montrent l'existence d'une partie aromatique et d'un noyau séco-iridoïde. Très superposable au spectre du tétraacétylwéroside en dessous de $\delta = 6,00$ (5,40–4,90 pour H-8 et H₂-10, 3,05–2,60 pour H-5 et H-9), le spectre 1H NMR des deux dérivés indique clairement la nature séco-iridoïde du noyau. Quant aux SM dont le pic moléculaire est absent, ils montrent à partir de $m/e = 525$, une fragmentation tout à fait identique à celle du tétraacétylwéroside, ce qui incite à penser qu'après rupture de la liaison ester, il y a formation de tétraacétylwéroside par cyclisation.

Les spectres 1H NMR présentent les éléments caractéristiques des acides phénols constitutifs. Aux acétoxyles aromatiques déjà mentionnés s'ajoutent les protons aromatiques ($\delta = 7,50 - 7,00$). Dans le spectre de **6**, le méthoxyde

de l'acide férulique apparaît à $\delta = 3,82$ (s, 3H, -OMe). Un système AB transcinnamique est mis en évidence à $\delta = 7,60$ et 6,34 ($J_{HH} = 16$ Hz) dans le spectre de **5** et de **6**. Les acides phénols constitutifs sont donc de type *trans*. D'autre part, la configuration absolue de la partie séco-iridoïde est déduite de sa conversion facile, après hydrolyse, en swéroside (schéma 2): **10** et **4** ont donc une configuration identique [5].



Schema 2.

PARTIE EXPERIMENTALE

Les P.F. ne sont pas corrigés. Les spectres UV ont été mesurés dans MeOH. Les spectres 1H NMR et ^{13}C NMR dans $CDCl_3$ avec le TMS comme référence interne sur les appareils Varian HA-100 et Bruker HFX-90 respectivement. (Nous remercions Mr A. Cornelis qui les a déterminés). Les SM sur spectromètre AEI-MS-902. Les chromatographies en couche mince préparative (CCMP) sont effectuées sur plaques de Kieselgel 60 PF₂₅₄ Merck, de 1 mm d'épaisseur. Le matériel végétal a été récolté au Rwanda (Forêt de Nyungwe) et identifié par Mr G. Troupin, Agrégé au Musée Royal de l'Afrique Centrale à Tervuren que nous remercions. Les spécimens d'herbier sont détenus par l'Université.

Processus d'extraction. La poudre d'écorces d'*A. grandiflora* est extraite avec MeOH. Les extraits méthanoliques réunis sont évaporés *in vacuo* et le résidu est repris par H_2O . Après filtration, la solution aqueuse est extraite avec $CHCl_3$ puis EtOAc. L'extrait EtOAc est évaporé à sec et le résidu est chromatographié sur Si gel. L'élution est réalisée avec $CHCl_3$ -MeOH (19:1) puis $CHCl_3$ -MeOH (9:1) et on obtient successivement la scopolétine (1: fr. 11–23), le swéroside (4: fr. 59–78), le méthylgrandifloroside (3: fr. 96–135) et le grandifloroside (2: fr. 161–192). **1** et **4** sont purifiés par CCMP dans $CHCl_3$ -MeOH (9:1), **2** et **3** dans EtOAc-MeOH-H₂O (100:17:13). **2** et **3** sont obtenus sous forme de poudre amorphe dont la pureté est prouvée par CCM, dans plusieurs systèmes de solvants. Les concentrations approximatives des produits isolés sont: 0,10% (**1**), 2,50% (**4**), 0,03% (**2**) et 0,07% (**3**).

Scopolétine (1). Cristaux aciculaires à partir de EtOH, F: 194–5°. UV: λ_{max}^{MeOH} nm (log ϵ): 229 (4,2) 254 (3,7) 299 (3,7) 346 (4,1). Identique spectralement à un échantillon authentique.

Swéroside (4). Poudre blanche amorphe. Trouvé: C, 51,24; H, 6,54. Calculé pour $C_{16}H_{22}O_9H_2O$: C, 51,06; H, 6,43. CCM ($CHCl_3$ -MeOH, 4:1): R_f 0,45. **4** est transformé par acétylation en tétraacétylwéroside (**11**): F: 164°. UV: λ_{max}^{MeOH} nm (log ϵ): 242 (4,2). IR: ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 1750, 1713, 1622, 990, 903. 1H NMR ($CDCl_3$): $\delta = 1,97, 2,01, 2,06, 2,10$ (chacun s, 4 OCOMe alcooliques) 4,92–5,48 (m, H-8 et H₂-10) 5,33 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-1), 7,55 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-3). ^{13}C NMR ($CDCl_3$): 96,08 et 96,48 (C-1 et C-1') 105,48 (C-4) 120,88 (C-10) 131,18 (C-8) 151,28 (C-3) 164,78 (C-11) 169,18, 169,28, 169,78, 170,68, (4 OCOMe alcooliques). SM: m/e (abondance %): 527 (0,6), 526 (M^+) (0,5), 484, 467, 453, 331 (81), 239 (43), 211, 197 (9), 179, 169 (100), 151 (18), 145, 139, 127 (53), 109.

Grandifloroside (2) et méthylgrandifloroside (3). Poudres jaune-pâle amorphes. CCM ($CHCl_3$ -MeOH, 4:1): R_f 0,12 (2) et 0,31 (3), spots donnant avec le réactif de Gibbs une coloration vert olive (2) ou violette (3). **2**: trouvé: C, 53,74; H, 5,66. Requis pour $C_{25}H_{30}O_{13} \cdot H_2O$: C, 53,95; H, 5,75. UV: λ_{max}^{MeOH} nm (log ϵ): 219 (4,2) 230 sh (4,1), 300 sh (4,0), 330 (4,1). λ_{max}^{MeONa} nm: 264 sh (3,8), 311 (3,6), 380 (4,2). **3**: trouvé: C, 53,10; H, 6,05. Requis pour $C_{26}H_{32}O_{13} \cdot H_2O$: C, 53,06; H, 6,12

UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 219 (4,2), 234 (4,1), 300 *sh* (3,9), 327 (4,1). $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeONa}}$ nm: 216 (4,2), 232 *sh* (4,0), 300 *sh* (3,6), 311 (3,6), 381 (4,2). IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3400, 2910, 1700, 1645, 1625, 1590, 1505, 1375, 1265, 1060, 1020.

Hexaacetylgrandifloroside (5). **2** (50 mg) est traité par Ac_2O -pyridine, 12 h à T° ordinaire. La purification du résidu d'acétylation par CCMP dans $\text{CHCl}_3\text{-Et}_2\text{O}$ (9:1) fournit 55 mg de **5**. F: 118–9°. Trouvé: C, 56,05; H, 5,19. Requis pour $\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{O}_{16}$: C, 56,20; H, 5,35. UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 218, 278 (4,0), 331 *sh* (3,6). $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeONa}}$ nm: 212, 234 *sh*, 264 *sh* (3,7), 311 (3,6), 373 (4,1). IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1750, 1710, 1635, 1370, 1225, 1040, 990, 905. ¹H NMR (CDCl_3): δ 1,99, 2,02, 2,08, 2,14 (chacun *s*, 4 OCOMe alcooliques), 2,30 (6 H, *s*, 2 OCOMe phénoliques) 4,90–5,42 (*m*, H-8 et H₂-10) 6,34 (*d*, *J* 16 Hz) 7,01–7,50 (*m*, 3 protons aromatiques) 7,59 (*d*, *J* 16 Hz). SM: *m/e* (abondance %): 527, 526 (0,2), 484, 467, 442, 382, 331 (95), 271, 239, 211, 197 (26), 180, 179, 178, 169, 151 (20), 127 (100), 109.

Pentaacetyl méthylgrandifloroside (6). L'acétylation de 50 mg de **3**, selon un mode opératoire identique, conduit à l'isolement de 48 mg de **6**: 89–90°. Trouvé: C, 56,37; H, 5,80. Requis pour $\text{C}_{36}\text{H}_{42}\text{O}_{18}$: C, 56,83; H, 5,65. UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 215, 223 *sh*, 280 (4,2), 316 *sh* (3,8). $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeONa}}$ nm: 227, 300 *sh* (3,5), 311 (3,6), 375 (4,3). IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1750, 1710, 1635, 1380, 1220, 1035, 990, 905. ¹H NMR (CDCl_3): δ 1,96–2,10 (12H, *m*, 4 OCOMe alcooliques), 2,30 (3H, *s*, OCOMe phénolique) 3,82 (3H, *s*, Ar-OMe) 4,85–5,40 (*m*, H-8 et H₂-10) 6,34 (*d*, *J* 16 Hz) 7,00–7,20 (*m*, 3 protons aromatiques) 7,38 (1 H, *d*, H-3) 7,60 (*d*, *J* 16 Hz). SM: *m/e* (abondance %): 527, 526, (0,3), 484, 467, 424, 331 (100), 271 (84), 239, 229, 211, 197, 194, 179 (98), 169, 151, 150, 127, 109.

Saponification de 2 et 3. **2** (50 mg) est traité par 4 ml de NaOH N, sous atmosphère d' N_2 , pendant 4 hr. La soln est acidifiée par HCl N, jusqu'à pH 2 et extraite par EtOAc. Cette soln fournit un dérivé phénolique **12**. La soln aqueuse, évaporée à sec, fournit après purification par CCMP un glucoside amorphe identique au swéroside, et transformé par acétylation en téraacetylswéroside (**11**). **3** traité dans les mêmes conditions, fournit un autre dérivé phénolique (**13**) et le swéroside (**4**). **2** (50 mg) est traité par la soln saturée de Ba(OH)₂ pendant une nuit. Après neutralisation par H_2SO_4 0,1 N, l'excès d'acide est éliminé par BaCO₃. La soln aqueuse filtrée est extraite par EtOAc qui fournit à nouveau **12**.

Evaporée à sec, la soln aqueuse (pH 6,5) fournit, après purification par CCMP, l'acide swérosidique (**10**). **3** traité dans les mêmes conditions, fournit **13** et **10**.

Acide 3,4-dihydroxycinnamique (**12**). F: 225°. Identique à un échantillon authentique d'acide caféïque.

Acide 4-hydroxy-3-méthoxycinnamique (**13**). F: 171°. Identique à un échantillon authentique d'acide férulique.

Acide 3,4-diacetyl cinnamique (**14**). **12** est traité par Ac_2O -pyridine pendant 12 hr. Le résidu d'acétylation, purifié par CCMP ($\text{CHCl}_3\text{-}n\text{-C}_6\text{H}_{14}$ 9:1) fournit **14**: F: 195°. UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$

nm (log ϵ): 216 (4,3), 272 (4,3). ¹H NMR (CDCl_3): δ 2,30 (6H, *s*, 2 OCOMe phénoliques) 6,40 (*d*, *J* 16 Hz) 7,20–7,50 (*m*, 3 protons aromatiques) 7,76 (*d*, *J* 16 Hz).

Acide swérosidique (**10**). Poudre amorphe. UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$: 230 nm. 10 (10 mg) est traité par 2 ml de HCl N, 30 min. au BM. Le contrôle chromatographique du mélange réactionnel indique la transformation complète de **10** en swéroside (**4**). 10 mg de **10** sont traités par Ac_2O -pyridine pendant 12 hr. La purification du résidu d'acétylation par CCMP ($\text{CHCl}_3\text{-Et}_2\text{O}$, 9:1) conduit à l'isolement et à l'identification du téraacetylswéroside (**11**).

Hydrolyse acide de 2 et 3. **2** (10 mg) est traité 1 hr au BM, par 5 ml de soln aqueuse de HCl 0,1 N. L'extraction par EtOAc de l'hydrolysat conduit à l'identification de l'acide caféïque (**12**), du swéroside et de la génine de celui-ci. Dans l'hydrolysat acide de **3**, l'acide férulique remplace **12**.

Hydrolyse enzymatique de 2 et 3. **2** et **3** (10 mg) sont traités par la β -glucosidase, 30 min. à 37° (tampon acétate 0,1 M, pH 4,9). La chromatographie sur papier permet de mettre en évidence la présence de glucose dans les 2 hydrolysats.

Méthylation de 3. **3** (10 mg) en soln éthanolique, est traité par la solution éthéro-éthanolique de CH_2N_2 , 30 min. à 0°. Le résidu d'évaporation, soumis à la CCMP ($\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$, 4:1) fournit 2 dérivés méthylés: (**7**): R_f 0,50 (coloration violette avec le réactif de Gibbs). UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 234, 297 *sh*, 325. $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeONa}}$ nm: 299 *sh*, 310, 378. (**8**): R_f = 0,65 (pas de coloration avec le réactif de Gibbs). UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 234, 296, 321. $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeONa}}$ nm: 234, 297 *sh*, 325.

Méthylation de 6. 25 mg de **6**, en soln éthéro-éthanolique, sont traités par la solution éthéro-éthanolique de CH_2N_2 , 30 min., à 0°. Le résidu d'évaporation est purifié par CCMP ($\text{CHCl}_3\text{-Et}_2\text{O}$, 9:1). On obtient 10 mg d'un dérivé méthylé (**9**) dont R_f 0,42 (dans cette phase, R_f de **6** = 0,14). UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 235, 280, 320 *sh*. $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeONa}}$ nm: 235, 300, 310, 378. ¹H NMR (CDCl_3): δ 1,92, 1,99, 2,02, 2,08 (chacun *s*, 4 OCOMe alcooliques) 2,31 (3H, *s*, OCOMe phénolique) 3,70 (3H, *s*, COOME) 3,85 (3H, *s*, Ar-OMe) 4,90–5,35 (*m*, H-8 et H₂-10) 6,40 (*d*, *J* 16 Hz) 6,96–7,25 (*m*, protons aromatiques) 7,36 (1 H, *d*, *J* 2 Hz, H-3) 7,63 (*d*, *J* 16 Hz).

REFERENCES

- Watt, J. M. et Breyer-Brandwijk, M. G. (1962) *The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa*, 2nd Edn, p. 727, Livingstone, Edinburgh.
- Chapelle, J. P. (1973) *Phytochemistry* **12**, 1191.
- Bentley, T. W., Johnstone, A. W. et Grimshaw, J. (1967) *J. Chem. Soc. (C)*, 2234.
- Weinges, K., Kloss, P. et Henkels, W. D. (1972) *Liebigs Ann. Chem.* **759**, 173.
- Inouye, H., Ueda, S. et Nakamura, Y. (1970) *Chem. Pharm. Bul.* **18**, (9) 1856.