

LES SESQUITERPENES DE *CUPRESSUS DUPREZIANA*

LOUIS PIOVETTI* et ANNE DIARA†

*Département de Technologie, Laboratoire de chimie, Institut National Agronomique, El-Harrach, Alger, Algérie;
†Département de chimie, Laboratoire de chimie de substances naturelles, Université d'Alger-Centre, 2 rue Didouche Mourad, Alger, Algérie

(Received 13 July 1976)

Key Word Index—*Cupressus dupreziana*; Cupressaceae; sesquiterpenes; chemotaxonomy; carvacrol methyl ether.

Abstract—Heartwood extractives of *C. dupreziana* were investigated. Carvacrol methyl ether, cedrol and α -cedrene are present, together with sesquiterpene hydrocarbons. A comparison is made with those found in *C. sempervirens* and other *Cupressus* species.

INTRODUCTION

Cupressus dupreziana A. Camus, découvert en 1924 est une espèce endémique du Tassili des Ajjers (Sahara central Algérien). Les quelques deux cents spécimens actuellement recensés sont les reliques d'une époque reculée: en raison de la désertification la germination de graines ne se fait plus in situ [1]. La systématique classique, d'après les caractères morphologiques et l'examen palynologique en fait une espèce distincte mais cependant voisine de *Cupressus sempervirens*, espèce très répandue en Algérie [1]. Il nous a paru intéressant d'étudier les

phytoconstituants de cette espèce très localisée et isolée: elle couvre une surface qui n'excède pas 250 km²: et d'effectuer une comparaison avec ceux de *C. sempervirens*, d'autant que *C. dupreziana* pourrait servir au reboisement des zones arides par l'intermédiaire des vergers à graines constitués en zones plus fertiles.

RESULTATS ET DISCUSSION

L'extraction à l'éther de pétrole du bois‡ de *Cupressus dupreziana* fournit 7-8% d'une huile odorante, extrait A, qui est fractionnée en neutre, acides et phénols. Le neutre B, constitue 80% de A. La séparation et l'identification des produits ont été effectuées par diverses méthodes chromatographiques: l'identification a été

‡Mission Henri Lhote et Centre de recherches algériens de préhistoire et d'éthnologie (C.R.A.P.E.).

Tableau 1. Temps de rétention en minutes et 1/00 min, % par rapport à l'extrait éthéropétrolique du bois et mode d'identification des composés isolés de *C. dupreziana*

Composes	R _i (C.20M)	R _i (SE.30)	% de A	Identification
Cédrol			24	Echantillon authentique
Ether méthylique du				
carvacrol	63,45	58,35	12,20	—d°—
α -Cédrène	59,30	80,40	3,20	—d°—
β -Cédrène	62,00	81,00	1,60	RMN d'un β -cédrène de synthèse*
β -Elémène	61,80	77,90	0,64	Echantillon authentique
α -Sélinène	72,60	88,90	0,20	Litt-[24], [31]
β -Sélinène	72,20	87,85	0,40	IR, RMN de référence*
α -Acoradiène	68,70	85,90	0,11	RMN de référence*
β -Acoradiène	69,05	85,60	0,14	IR, RMN de référence*
γ -Acoradiène	73,05	90,60	0,32	RMN de référence* et litt. [4], [32]
α -Curcumène	76,60	86,90	0,20	IR de référence et litt. [4]
Cuparène	79,70	89,15	0,07	RMN de référence* et litt. [24]
Prézaène	65,60	84,40	0,02	litt. [30]
Mélange contenant le calamenène	81,80	91,80	0,07	RMN de référence
Hydrocarbure (1)	66,30	86,80	0,12	non identifié
Hydrocarbure (2) (diepi- α -cédrène)	53,00	77,00	0,17	litt. [8], [9]
Hydrocarbure (3)	55,00	77,40	0,07	non identifié
Hydrocarbure (4) (diepi- β -cédrène)	59,60	81,20	0,12	échantillon authentique

*Collection Roure Bertrand Dupont, 06, Grasse, France.

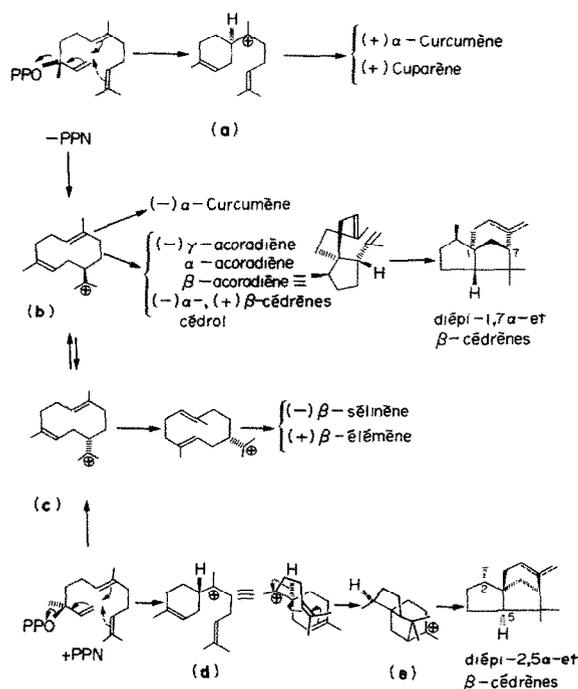
complétée par les méthodes physico-chimiques habituelles.

Deux constituants sont prépondérants dans *B*: le cédrol qui représente 24% de l'extrait *A* et l'éther méthylique du carvacrol, 12%; soit respectivement 1,8 et 0,9% par rapport au bois. Le neutre contient une trentaine d'hydrocarbures sesquiterpéniques, mis en évidence par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse; l'ensemble de ces hydrocarbures constitue environ 8% de *A* soit 0,6% par rapport au bois.

Seuls treize composés ont pu être isolés et purifiés en quantités suffisamment appréciables pour permettre leur identification. Ce sont:

les (-) α -cédrene, (+) β -cédrene, (+) β -élémente; ce dernier pouvant être un artefact provenant de l'isomérisation thermique du (-) germacrène-A; les méthodes utilisées pouvant permettre cette transformation [2]. Ces trois composés sont les plus abondants du mélange; ceux cités ci-dessous se trouvent en faible quantité (Tableau 1):

les α -sélénène et (-) β -sélénène. La rotation trouvée pour l' α -sélénène, -16° , en fait un (-) α -sélénène; cependant la faible concentration à laquelle a été effectuée la mesure et l'absence de courbe de dichroïsme circulaire, laisse un doute quant à la configuration du composé [3]. Le mode d'isolement du β -sélénène pouvait faire douter de son authenticité; il a été vérifié qu'il ne provient pas de l'isomérisation du β -élémente au cours du travail.



Les α -et β -acoradiènes ont été identifiés dans un mélange, ils se trouvent dans le rapport 44:56. Le (-) γ -acoradiène a été isolé.

Le (\pm) α -curcumène peut provenir de l'oxydation à l'air d'un γ -curcumène [4, 5].

*Nous remercions vivement le Prof. T. Norin pour l'envoi d'un échantillon authentique et des spectres IR et RMN de référence.

Le (+) cuparène qui pourrait provenir de l'oxydation d'un cuprène [6].

Le prézizaène et enfin le calaménène, non isolé, mais identifié dans un mélange.

À côté de ces composés, quatre hydrocarbures sesquiterpéniques ont été isolés, 1-4. Les hydrocarbures (1) et (3) ont pour formule $C_{15}H_{24}$, ils possèdent un groupement gem-diméthyle, un méthyle allylique fixé sur une double liaison trisubstituée. L'hydrocarbure (1) possède une deuxième double liaison méthylénique. leur identification est à l'étude. Les composés (2) et (4) ont été identifiés de la manière suivante: l'hydrocarbure (4) de formule $C_{15}H_{24}$, $M^+ 204$, constitue 0,12% de l'extrait *A*. Il est élué en même temps que le β -cédrene et le prézizaène par chromatographie sur colonne de gel de silice-nitrate d'argent. Les spectres IR, absorption à 875 cm^{-1} et RMN, résonance à $\delta 4,5$ (2H, $H_2C=$) confirment la présence d'une double liaison méthylénique. Les autres valeurs en IR et RMN sont celles du β -cédrene à l'exception des valeurs de δ pour le groupement gem-diméthyle: 0,86 et 1,07 pour le composé (4); 0,92 et 0,96 pour le β -cédrene. Les spectres de masse sont pratiquement identiques, seules changent les intensités relatives de quelques pics. L'ensemble de ces données correspond à celles du diépi-2,5 β -cédrene [7]*.

La rotation $[\alpha]_D -14^\circ$, 2, en ferait l'énantiomère du diépi-2,5 β -cédrene $[\alpha]_D +15^\circ$, soit le diépi-1,7 β -cédrene.

L'hydrocarbure (2) de formule $C_{15}H_{24}$, $M^+ 204$, $[\alpha]_D +107^\circ$ représente 0,17% de l'extrait *A*. Il est élué immédiatement après l' α -cédrene sur colonne de gel de silice-nitrate d'argent. Les spectres IR et RMN sont analogues à ceux de l' α -cédrene, à l'exception de la résonance du groupement gem-diméthyle; on remarque que là encore un des méthyles tertiaires, δ (0,84 et 1,05) est blindé par rapport à ce que l'on observe pour l' α -cédrene, δ (0,94 et 1,01). Un diastéréoisomère naturel de l' α -cédrene est connu, l' α -funèbrene [8, 9] pour lequel la structure d'un diépi α -cédrene a été établie. Toutes les caractéristiques physiques de (2) sont en accord avec celles de l' α -funèbrene; il s'agit donc du diépi-1,7 α -cédrene ou de l'énantiomère, diépi-2,5 α -cédrene. La configuration absolue de (2) reste à déterminer.

Bien que nos résultats soient incomplets, nous avons essayé d'établir une relation de fréquence de distribution des composés isolés de *Cupressus dupreziana*, dans *C. sempervirens* et par extension pour quelques genres et espèces les plus étudiées au point de vue chimique dans la famille des Cupressacées. Deux genres de la famille, très voisine, des Taxodiacees sont inclus dans la comparaison (Tableau 2). La classification adoptée est celle de L. Emberger [10].

L'éther méthylique du carvacrol, le cédrol, l' α -cédrene sont présents chez *C. sempervirens*; les deux premiers constituant la majeure partie du neutre comme dans *C. dupreziana*. Ces trois composés: carvacrol et/ou éther méthylique du carvacrol, cédrol, α -cédrene semblent être caractéristiques des Cupressacées. Le β -cédrene a été signalé plus rarement. Le diépi α -cédrene est présent dans *C. funebris* et le diépi-2,5 β -cédrene dans une Taxodiacee, *Sciadopitys verticillata*. Le (+) β -élémente et le (-) β -sélénène sont moins fréquemment isolés que leurs énantiomères. Jusqu'ici le (-) β -sélénène n'avait été isolé que de source animale [2].

La valeur chimiotaxonomique des hydrocarbures sesquiterpéniques autres que l' α -cédrene ne peut être discutée tant que la grille du Tableau 2 n'est pas remplie;

les genres et espèces cités contiennent parfois des hydrocarbures que l'on n'a pas retrouvé dans *C. dupreziana* [11], qu'ils en soient absents ou en trop petite quantité; enfin, certains hydrocarbures ne sont pas exclusifs et existent ailleurs que dans les conifères.

La biogénèse de ces sesquiterpènes peut s'envisager à partir du (-) pyrophosphate de nérolidyle, (-) PPN: le nérolidol a déjà été isolé des Cupressacées [4]; de plus la transformation du nérolidol en α -cédrene via le bisabolène a été réalisée [12]. Le (-) PPN, à travers l'ion bisabolène (a) conduirait au (+) α -curcumène et au (+) cuparène. Si l'on admet l'interconversion au niveau des ions (b et c) [13], alors la formation des (+) β -élémente, (-) β -sélénène, (-) α - et (+) β -cédrenes, cédrol, (-) γ -acoradiène et (-) α -curcumène en découle.

capillaires W.C.O.T., C.20 M et SE.30. Les mêmes phases stationnaires ont été utilisées pour la CPV préparative. Les temps de rétention R_t sont mesurés en minutes et 1/100 min. Les RMN ont été mesurés en solution dans CCl_4 ou CDCl_3 , à une fréquence de 100 MHz, avec le TMS comme référence interne: une microcellule a été utilisée pour les composés isolés en faible quantité. Les temps de rétention et le mode d'identification des composés sont résumés dans le Tableau 1.

Extraction. 2 kg de bois pulvérisé sont extraits 24 hr par l'éther éthylique à reflux. Après évaporation de l'éther, le résidu est repris par l'éther de pétrole (40–60°) et agité: après collection des extraits éthéropétroliques et évaporation on obtient 145 g de produit (fraction A). Après séparation classique en neutre, acides et phénols, on obtient le neutre (fraction B) qui représente 80% de A.

Isolement du cédrol. 19 g de neutre sont chromatographiés

Tableau 2. Distribution de l'éther méthylique de carvacrol, du cédrol et des hydrocarbures sesquiterpéniques de *C. dupreziana* chez les Cupressacées et les Taxodiacées

	Cédrol	α -cédrene	Ether méth. du carvacrol	Cuparène	β -cédrene	Calaménène	β -élémente	acoradiènes	α -curcumène	α -sélénène	β -sélénène	Prézaène	Diépi α -cédrene	Diépi β -cédrene	Références
<i>Cupressacées:</i>															
<i>Cupressus dupreziana</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	[14]
<i>C. sempervirens</i>	+	?	+												[15]
<i>C. macrocarpa</i>	+	?	+												[16]
<i>C. torulosa</i>	?	?	+	+											[17]
<i>C. funebris</i>	?	+	?	+	+								+		[8]
<i>C. arizonica</i>	+	+	?	+											[18]
<i>Juniperus semiglobosa</i>	+	+	-	+	+										[16], [19], [20]
<i>J. rigida</i>	+	+	-	+		+	+(a)	+							[21]
<i>J. communis</i>	+	+	+	(trace) +		+	+(b)								[16], [22], [23]
<i>Chamaecyparis</i>															
<i>taiwanensis</i>	+	+	-	+	(trace) +		+(c)			+(d)	+(d)				[24]
<i>C. nootkatensis</i>	?	?	+			+		+(e)	+(f)						[16], [4]
<i>C. thyoïdes</i>	+	+	+	+											[25]
<i>C. obtusa</i>	?	?				+									[26]
<i>Tetraclinis articulata</i>	+	+													[27]
<i>Thuja (biota) orientalis</i>	+	?		+											[28]
<i>Taxodiacées:</i>															
<i>Athrotaxis cupressoides</i>	?	+													[29]
<i>Sciadopitys verticillata</i>	+	+			+									+	[7]

Légende: + = présence du composé; - = absence du composé; ? = présence probable

Remarques: (a) (\pm) β -élémente; (b) (-) β -élémente; (c) identifié dans un mélange: α -cédrene + β -élémente; (d) identifié dans un mélange: α - + β -sélénènes; (e) γ -acoradiène; (f) (-) α -curcumène.

La formation du composé (4), diépi 1,7 β -cédrene s'expliquerait par la cyclisation du (+) β -acoradiène; il en serait de même pour le diépi 1,7 α -cédrene [9].

Actuellement il paraît difficile, si les configurations absolues des composés cités sont exactes, de ne pas faire intervenir le (+) PPN via les ions (d et e) pour rationaliser la formation des diépi 2,5 α - et β -cédrenes.

En ce qui concerne la comparaison immédiate des phytoconstituants de *C. cupreziana* et *sempervirens*, on peut préciser que l'étude, en cours, des diterpènes du neutre montre que des représentants des squelettes labdane, ferruginol, totarol, sont présents dans *C. dupreziana*, montrant jusqu'ici l'étroite parenté des deux espèces [14].

PARTIE EXPERIMENTALE

Analyses. Les CPV analytiques ont été effectuées sur colonnes

sur colonne Al_2O_3 II. L'éther de pétrole élue d'abord une huile incolore, 4,8 g (fraction C). Le cédrol est élué par le benzène. Recristallisé dans le méthanol, il est identifié au cédrol authentique.

CPV analytique de la fraction C sur colonne capillaire (WCOT). Colonne en inox 100 m \times 0,5 mm, C 20M; programmation de 80 à 180°, 2°/min He, 2,3 ml/min; vol. 0,2 μ l et colonne en verre 39 m \times 0,4 mm, SE.30; programmation de 80 à 180°, 1,5°/min; N_2 , 1,1 ml/min; vol., 0,2 μ l (Tableau 1).

Ether méthylique du carvacrol. La fraction C est chromatographiée sur colonne Al_2O_3 I. L'éther de pétrole élue d'abord les hydrocarbures sesquiterpéniques (fraction D); ensuite, toujours dans le même éluant, l'éther méthylique du carvacrol est recueilli et identifié par comparaison avec un échantillon authentique.

Hydrocarbures sesquiterpéniques—isolement des α -cédrene, β -cédrene, β -élémente, β -sélénène, α - et β -acoradiènes, α -curcumène,

cuparène, calaménène et des hydrocarbures (1)–(3). Ces composés sont isolés par CPV préparative de la fraction D. Une première CPV sur SE.30 18%, température 130°; He 300 ml/min; vol. 100 µl, sépare 4 séries de composés. Ces 4 fractions sont rechromatographiées sur une colonne de C.20 M 20%, 4 m × 6 mm en faisant varier la température et le débit: fraction 1: temp. 100°; He 110 ml/min; vol. 15 µl: β-élémène, hydrocarbures (2) et (3). Fraction 2: temp. 130°; He 100 ml/min; vol. 5 µl; α- et β-cédrenes. fraction 3: temp. 130°; He 110 ml/min; vol. 15 µl; hydrocarbure (1), β-sélinène, α-curcumène et mélange des α- et β-acoradiènes. fraction 4: mêmes conditions que pour la fraction 3; cuparène et un mélange contenant le calaménène.

Isolement des α-sélinène, γ-acoradiène, prézizaène et hydrocarbure (4). 1,5 g de fraction D sont chromatographiés sur colonne de gel de silice-AgNO₃ (9:1). On obtient 4 fractions éluées par les mélanges suivants: éther de pétrole-CH₂Cl₂ (19:1) et (4:1); CH₂Cl₂-Et₂O (9:1) et (4:1). La première fraction contient l'α-cédrene pur, la deuxième des hydrocarbures déjà isolés: cuparène, (2) et (3). La troisième contient le γ-acoradiène comme produit principal et des traces d'α-cédrene, β-cédrene, cuparène, (2) et (3). Le γ-acoradiène a été isolé de cette fraction par CPV micropréparative: colonne SE.30 5%, 4 m × 6 mm; temp. 130°; H₂ 50 ml/min; vol. 5 µl. La quatrième fraction contient l'α-sélinène, le prézizaène, (4), et un mélange de (1), β-acoradiène et α-curcumène. L'α-sélinène, le prézizaène et (4) ont été isolés de cette fraction par CPG micropréparative: colonne SE.30 5%, 4 m × 6 mm; temp. 130°; H₂ 50 ml/min; vol. 5 µl et colonne C.20 M 20%; 4 m × 6 mm; temp. 100°; He 110 ml/min; vol. 6 µl. *Hydrocarbure (1):* SM (M⁺ 204). IR, 3080, 3040, 3010, 1630, 1375 et 1355, 885, 795 cm⁻¹. RMN, CCl₄, δ 0,91 (s, 6H), 1,60 (s, 3H), 4,64 (m, 1H), 5,08 (m, 1H), 5,30 (m, 1H). *Hydrocarbure (2).* [α]_D²⁵ = +107° (c = 0,6; CHCl₃). SM (M⁺ 204), 161, 119 (100%), 105, 93, 69, 55, 41. IR, 3040, 1680, 1375 et 1362, 808 et 785 cm⁻¹. RMN, CCl₄, δ 0,84 (s, 3H), 1,05 (s, 3H), 0,86 (d, J 7 Hz, 3H), 1,62 (s, 3H), 5,08 (m, 1H). *Hydrocarbure (3):* SM (M⁺ 204). IR 3040, 1640, 1375 et 1365, 790 cm⁻¹. RMN, CCl₄, 0,78 (s, 3H), 0,87, (s, 3H) 0,92 (d, J 7 Hz, 3H), 1,78 (d, J 2 Hz, 3H) couplage allylique, singulet par irradiation à 5,83; 5,83 (m, 1H). *Hydrocarbure (4):* [α]_D²⁵ = -14,2° (c = 0,1; CCl₄) SM. (M⁺ 204), 161, 133, 120, 93, 69 (100%), 55, 41. IR, 3060, 1640, 1370 et 1360, 875 cm⁻¹. RMN, CCl₄, 0,86 (d, J 7 Hz, 3H), 0,86 (s, 3H), 1,07 (s, 3H), 4,50 (m, 2H).

Remerciements—Nos remerciements vont à Mr. P. Teisseire, Directeur du Centre de Recherche, Roure, Bertrand, Dupont, Grasse, 06, France, pour une partie du travail qu'il nous a permis d'effectuer dans ses laboratoires et à Mr. G. G. Guitonnet, professeur de botanique à l'Université d'Alger pour son aide sur l'aspect de systématique botanique de ce travail.

REFERENCES

- Barry, J. P., Belin, B., Celles, J. C., Dubost, P., Faurel, L. et Hethener, P. (1970) *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord* **61**, 95.
- Weinheimer, A. J., Youngblood, W. W., Washecheck, P. H., Karns, T. K. B. et Cierieszko, L. S. (1970) *Tetrahedron Letters* **497**.
- Andersen, N. H., Shunk, B. et Costin, C. R. (1973) *Experientia* **29**, 645.
- Andersen, N. H. et Syrdal, D. D. (1970) *Phytochemistry* **9**, 1325.
- Corbett, R. E., Jamieson, G. A. et Murray, J. (1963) *J. Sci. Food Agric.* **14**, 349.
- Nozoe, T. et Takeshita, H. (1960) *Tetrahedron Letters* **14**.
- Norin, T., Sundin, S., Karlson, B., Kierkegaard, P., Pilotti, A. M. et Wiehager, A. C. (1973) *Tetrahedron Letters* **17**.
- Motl, O. et Paknikar, S. K. (1968) *Coll. Czech. Chem. Commun.* **33**, 1939.
- Kirtany, J. K. et Paknikar, S. K. (1973) *Indian J. Chem.* **11**, 508.
- Chaufaud, M. et Emberger, L. (1960) *Traite de botanique Systematique; les Vegetaux Vasculaires*, tome II (fasc. 1) 393, Masson & Cie, Paris.
- Erdtman, H. et Norin, T. (1966) *Fortschr. Chem. Org. Naturst.* **24**, 206.
- Anderson, N. H. et Syrdal, D. D. (1972) *Tetrahedron Letters*.
- Anderson, H. H. (1970) *Phytochemistry* **9**, 145.
- Pioveti, L. (1975) Thèse de doctorat de 3e cycle, Orléans.
- Enzell, C. et Erdtman, H. (1957) *Acta Chem. Scand.* **11**, 902.
- Hegnauer, R. (1962) *Chemotaxonomie der Pflanzen*, vol. 1, 342. Birkhäuser-Verlag, Bâle.
- Barreto, H. S. et Enzell, C. (1961) *Acta Chem. Scand.* **15**, 1313.
- Enzell, C. et Krolikowska, M. (1961) *Arkiv Kemi* **20**, 157 et (1963) *Chem. Abstr.* **58**, 14002e.
- Ignatova, L. A., Tolstikov, G. A., Lishtvanova, L. N. et Goryaev, M. I. (1964) *Zh. Prikl. Khim.* **37**, 1389 et (1965) *Chem. Abstr.* 63427 c.
- Goryaev, M. I., Tolstikov, G. A., Ignatova, L. A. et Dembitskii, A. D. (1962) *Dokl. Akad. Nauk.* **146**, 1331 et (1963) *Chem. Abstr.* **58**, 9149 c.
- Tomita, B., Hayashi, M. et Hirose, Y. (1969) *Mokuzai Gakk.* **15**, 341.
- Bredenberg, J. B. (1961) *Acta Chem. Scand.* **15**, 961.
- Herout, V., Motl, O. et Sorm, F. (1954) *Coll. Czech. Chem. Commun.* **19**, 990.
- Yoshida, T., Endo, K., Ito, S. et Nozoe, T. (1967) *Yakugaku Zasshi* **87**, 434 et (1967) *Chem. Abstr.* **67**, 76199 a.
- Enzell, C. (1960) *Acta Chem. Scand.* **14**, 81.
- Hayashi, S., Yano, K. et Matsuura, T. (1964) *Bull. Chem. Soc. Japan* **37**, 474.
- Chow, Y. L. et Erdtman, H. (1962) *Acta Chem. Scand.* **16**, 1291.
- Tomita, B. et Hirose, Y. (1969) *Mokuzai Gakkaishi* **15**, 337.
- Erdtman, H. et Vorbrueggen, H. (1960) *Acta Chem. Scand.* **14**, 2161.
- Andersen, N. N. et Falcone, M. S. (1971) *Chem. Ind.* **62**.
- Getty, G. L., Rao, G. S. K., Dev, S. et Banerjee, D. K. (1966) *Tetrahedron*, **22**, 2311.
- Tomita, B., Isono, T. et Hirose, Y. (1970) *Tetrahedron Letters* **1371**.