

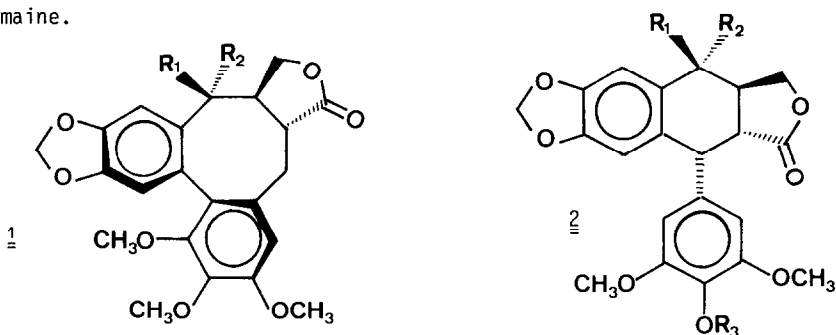
L'ARALIANGINE, NOUVEAU LIGNANE BISBENZOCYCLOOCTADIENOLACTONIQUE
 DE *Steganotaenia araliacea*, HOCHST.

par Mohammed TAAFROUT, Francis ROUESSAC et Jean-Pierre ROBIN*

Laboratoire de Synthèse Organique, E.R.A.-C.N.R.S. Faculté des Sciences,
 Route de Laval, B.P. 535, 72017 LE MANS, FRANCE.

Abstract : Isolation of a new lignan from antileukemic fraction of *Steganotaenia araliacea* Hochst. and structure elucidation using 400 MHz PMR to observe benzylic coupling.

En 1973, S.M. KUPCHAN et Coll. (1) isolent à partir de l'extrait à propriété anti-leucémique de *Steganotaenia araliacea* Hochst. la stéganacine 1a et trois autres lignanes (2) 1b, 1c et 1d de structure originale bisbenzocyclooctadiénolactonique. L'intérêt croissant de la littérature (3) pour ce type de composés résulte de son analogie avec la podophyllotoxine 2a (4) dont les dérivés 2b et 2c (5) sont exploités actuellement en chimiothérapie anticancéreuse humaine.



- 1a, R₁ = H, R₂ = OAc
1b, R₁ = H, R₂ = $\begin{matrix} \text{CH}_3(\alpha) & \text{H}(\beta) \\ & \diagdown \quad / \\ & \text{C}=\text{C} \\ & / \quad \diagdown \\ \text{O}_2\text{C} & \text{CH}_3(\beta) \end{matrix}$
1c, R₁, R₂ = 0
1d, R₁ = H, R₂ = OH
1e, R₁ = OAc, R₂ = H

- 2a, R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = CH₃
2b, R₁ = 0- (0,0-éthylidène)-4,6 β-D-glucopyrannosyl, R₂ = H, R₃ = H
2c, R₁ = 0- (0,0-thénylidène-2)-4,6 β-D-glucopyrannosyl, R₂ = H, R₃ = H

Dans le cadre de notre programme de criblage des activités cytotoxiques et (ou) antitumorales à partir d'extraits de végétaux supérieurs, nous décrivons ici l'étude chimique d'une fraction active d'un extrait éthanolique à propriété antileucémique (6) de la variété ouest-africaine de *S. araliacea* (7). On retrouve dans cette fraction (8) quatre lignanes déjà isolés dans la variété est-africaine (1) :

- La stéganacine 1a (9) : amorphe ; M⁺ 456,1421 (C₂₄H₂₄O₉) ; [α]_D²¹ = -110° (c= 0,71, CHCl₃) litt (1) -114° (c= 0,74, CHCl₃).
- La stéganangine 1b : F = 156,5-158°C (éther) litt (1,10) 142,5-143°C ; M⁺496,1725

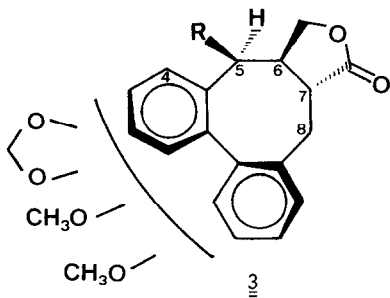
(C₂₇H₂₈O₉) [α]_D²¹ = -103° (c = 0,74, CHCl₃) litt. (1) -113° (c = 0,72, CHCl₃) ; IR (CHCl₃) 1775, 1720, 1660 cm⁻¹ ; RMN 250 MHz (CDCl₃) (δ ppm) : 6,96 (1H, s) H-4 ; 6,56 (1H, s) H-1 ; 6,42 (1H, s) H-9 ; 6,02 (2H, s) OCH₂O ; 5,98 (1H, m) H- β : angélate ; 5,96 (1H, d, J_{5 α -6} = 10 Hz) H-5 α ; 4,26 (1H, dd, J_{13 α -6} = 7 Hz, J_{13 α -13 β} = 10 Hz) H-13 α ; 4,00 (1H, dd, J_{13 β -6} = 10,2 Hz, J_{13 β -13 α} = 10 Hz) H-13 β ; 3,87 et 3,85 (6H, 2s) OCH₃-10, OCH₃-11 ; 3,71 (3H, s) OCH₃-12 ; 3,07 (1H, dd, J_{8 α -7} = 1,2 Hz, J_{8 α -8 β} = 13,5 Hz) H-8 α ; 2,57 (1H, m) H-8 β ; 2,55 (1H, m) H-7 ; 2,52 (1H, m) H-6 ; 1,71 (CH₃, Y₃ de AX₃Y₃, J_{CH₃ β -H} angélate = 7,5 Hz, J_{CH₃ β -CH₃ α} = 1,5 Hz) CH₃(β) ; 1,69 (3H, m) CH₃(α).

- La stéganone 1c (9) : M⁺ 412,1164 (C₂₂H₂₀O₈) ; [α]_D²² = -167° (c = 0,71, CHCl₃) litt. (1) -202° (c = 0,76, CHCl₃).

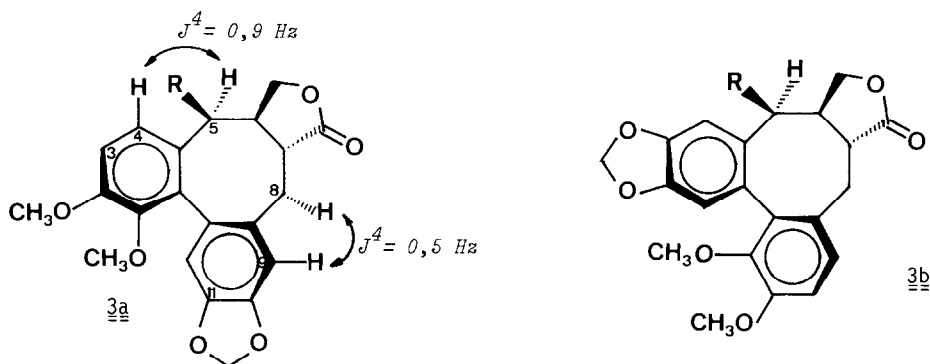
- Le stéganol 1d (9) : M⁺ 414,1351 (C₂₂H₂₂O₈).

L'étude en CCM des fractions actives montre un composé de polarité voisine de la stéganangine qui a été séparé des lipides végétaux et des chlorophylles par simple filtration sur silice greffée (silicagel 60 silanisé : 63-200 μ , MeOH/H₂O 6/4). Son étude spectroscopique préliminaire indique qu'il s'agit d'un nouveau lignane bisbenzocyclooctadiénolactonique de structure proche de la stéganangine 1b, que nous avons nommé araliangine 3a : M⁺ 466,1665 (C₂₆H₂₆O₈) [α]_D²² = -43° (c = 0,79, CHCl₃) ; IR(CHCl₃) 1775 (vC=O γ -lactone saturée), 1720 (vC=O ester α,β insaturé) et 1660 cm⁻¹ (vC=C) ; RMN 250 MHz (CDCl₃) (δ ppm) : 7,10 (1H, d, A de AB, J₄₋₃ = 8,5 Hz) H-4 ; 6,94 (1H, d, B de AB, J₃₋₄ = 8,50 Hz) H-3 ; 6,71 (1H, s) H-12 ; 6,60 (1H, s large) H-9 ; 6,18 (1H, m, J_{H β -CH₃ β} = 7,5 Hz, J_{H β -CH₃ α} = 1,2 Hz) H- β vinylique ; 6,10 (1H, d, A de AB, J_{AB} = 1,2 Hz) et 5,93 (1H, d, B de AB, J_{AB} = 1,2 Hz) OCH₂O ; 5,86 (1H, d, J_{5 α -6} = 8,2 Hz) H-5 α ; 4,22 (1H, dd, J_{13 α -13 β} = 9 Hz, J_{13 α -6} = 7,75 Hz) H-13 α ; 4,02 (1H, dd, J_{13 β -13 α} = 9 Hz, J_{13 β -6} = 12 Hz) H-13 β ; 3,92 (3H, s) OCH₃-2 ; 3,62 (3H, s) OCH₃-1 ; 3,27 (1H, dd, J_{8 α -8 β} = 15 Hz, J_{8 α -7} = 11 Hz) H-8 α ; 3,10 (1H, m) H-6 ; 2,69 (1H, dd, J_{8 β -8 α} = 15 Hz ; J_{8 β -7} = 7,2 Hz) H-8 β ; 2,34 (1H, m, J_{7-8 α} = 11 Hz, J_{7-8 β} = 7,2 Hz, J₇₋₆ = 13,5 Hz) H-7 ; 2,05 (3H, m, J_{CH₃ β -H β} = 7,5 Hz, J_{CH₃ β -CH₃ α} = 1,5 Hz) CH₃ β ; 1,96 (3H, m, J_{CH₃ α -CH₃ β} = 1,5 Hz) CH₃ α .

Sur la base de ces données spectroscopiques et par double irradiation en RMN ¹H, il devient possible de définir en partie 3a (R = angélate) à l'exclusion des positions des fonctions éther (voir 3). La présence simultanée en RMN ¹H (CDCl₃) d'un méthoxyle déplacé de 0,3 ppm vers les hauts champs (11) et d'un système aromatique ortho disubstitué (J_{AB} = 8,5 Hz CDCl₃/C₆D₆ : 1/1) nous a permis de retenir deux structures 3a et 3b plutôt que les deux dérivés diméthoxy 1,4 méthylène-dioxy 10,11 et méthylène-dioxy 2,3 diméthoxy 9,12 qui, de plus, sont biogénétiquement moins probables. Finalement, l'étude fine par double irradiation en RMN haute résolution (400 MHz) de ce composé nous a conduit à observer un couplage faible (0,9 Hz) entre l'hydrogène H-5 benzylique et l'un des hydrogènes du système ortho aromatique, ce qui nous a amené à retenir le squelette 3a.



3b qui présente pourtant une analogie structurale avec la série déjà décrite a été éliminé de par la non observation du couplage entre chacun des singulets aromatiques et H-5, ce couplage étant constaté avec l'un des hydrogènes H-8 aliphatiques (0,5 Hz), en accord avec 3a.



L'observation des constantes de couplage entre les différents protons aliphatiques des formes iso, picro et normale (12, 13) nous a permis en outre d'attribuer la stéréochimie des centres C_5 , C_6 , C_7 et du biaryle. Nous avons fixé la configuration du centre C_6 telle que l'hydrogène H-6 soit en α (6R) comme dans la série naturelle de référence, avec la configuration absolue que nous avons révisée par synthèse chirale (12).

- Stéréochimie relative des centres C_6 et C_7 : la constante de couplage entre les protons H-6 et H-7, élevée ($J_{6-7} = 13,5$ Hz) permet d'exclure une jonction cis pour laquelle les valeurs observées de J_{6-7} sont inférieures à 9 Hz dans cette série. Ainsi H-6 et H-7 sont en trans, (la configuration de C_6 étant fixée 6R) celle de C_7 est donc : 7R.

- Stéréochimie relative du biaryle : la constante du couplage J_{7-8} cis étant de 7,2 Hz ; la comparaison avec celle constatée pour la série iso (≈ 1 Hz) nous permet d'exclure la configuration iso pour l'araliangine 3a et d'attribuer au biaryle la configuration normale P-6R.

- Stéréochimie relative des centres C_6 et C_5 : l'observation du couplage entre les protons H-5 et H-6 ne permet pas de trancher entre les possibilités 5:6 cis (épi) et 5:6 trans (normale). Par contre la comparaison des constantes de couplage $J_{8\alpha-7}$ dans la stéganacine 1a et la 5 épi-stéganacine d'origine synthétique (14) nous permet de conclure sans ambiguïté à la stéréochimie relative du centre C_5 : épi = 5S (15, 16).

Nous proposons donc pour la (-)- araliangine 3a la configuration (P, 5S, 6R, 7R).

REFERENCES ET NOTES

- (1) S.M. KUPCHAN, R.W. BRITTON, M.F. ZIEGLER, C.J. GILMORE, R.J. RESTIVO and R.F. BRYAN, J. Amer. Chem. Soc., **95**, 1335 (1973).
- (2) Le groupe des lignanes bisbenzocyclooctadiénolactoniques répond seul à la définition au sens strict donnée par O.R. GOTTLIEB, Phytochemistry, **11**, 1537 (1972) et New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutic activity, H. WAGNER and P. WOLFF Springer Verlag, 227 (1977).
- (3) M. MERVIC, BEN-DAVID and E. GHERA, Tetrahedron Letters, 5091 (1981) et références citées.
- (4) J. JARDINE, Podophyllotoxins, Anticancer agents based on natural products, J.M. CASSADY and J.D. DOUROS, Medicinal Chemistry, Ac. Press (1980).

- (5) VP 16 et VM 26, marque déposée, SANDOZ ; C. KELLER-JUSLEN, M. KUHN, A. Von WARTBURG, J. Med. Chem., **14** (10), 936 (1971).
- (6) NSC B 847 587, T/C 3 PS = 132 % à la dose de 200 mg/Kg. Nous remercions M. SUFFNESS et le National Cancer Institute (Bethesda, Maryland, U.S.A.) pour les tests de criblage d'activité antileucémique *in vivo* ; Y. LETOURNEUX pour la surveillance de l'activité *in vitro* (9 LE) durant le fractionnement.
- (7) Variété ouest-africaine collectée en 1981 dans la région de Timbo, Fouta Djallon, République de Guinée. Nous remercions le regretté K. KOUROUMA, Institut Polytechnique de Conakry pour sa participation à la prospection botanique.
- (8) Fractions CH₂Cl₂, Hexane et CCl₄ issues de l'arbre de partage, purifiées par HPLC (Silica-gel Si 60, 63-200 μ ; CH₂Cl₂-MeOH, gradient ; toluène-ether 9/1 pour les cas particuliers des couples 1b-1c).
- (9) Les spectres RMN ¹H et IR en solution se sont révélés rigoureusement superposables à ceux d'un échantillon authentique, tandis que la comparaison en C.C.M. dans cinq systèmes de solvants a montré une parfaite identité.
- (10) Le solvant de recristallisation n'est pas indiqué dans la littérature.
- (11) A. BROSSI, J. O'BRIEN and S. TEITEL, Helv. Chim. Acta, **52**, 678 (1969).
- (12) L'un de nous (J.P.R.) a déjà proposé (J.P. ROBIN, O. GRINGORE et E. BROWN, Tetrahedron Letters, 2709 (1980) dans le cas de la configuration des biaryles pontés, de remplacer la nomenclature (R-S) par la nomenclature d'hélicité (P-M) (R.F. CAHN, C. INGOLD, PRELOG, Angew. Chem. Internat. Ed., **5**, 385 (1966). Pour la stéganacine, la configuration normale correspond à P-H(6 α) = P-6S pour la configuration absolue révisée, ou à M-6R pour la configuration absolue proposée par M. KUPCHAN (1).
- (13) M. KARPLUS, J. Chem. Phys., **30**, 11 (1959).
- (14) F. ZAVALA, D. GUENARD, J.P. ROBIN et E. BROWN, J. Med. Chem., **23**, 546 (1980).
- (15) L'observation des modèles Dreiding nous a conduit à constater la conformation du squelette bisbenzocyclooctadiène induite par la répulsion stérique du substituant en 5 selon la proximité du noyau aromatique opposé (ici, méthylène-dioxy phényl) $J_{8\alpha-7} = 11$ Hz (dans le cas de la forme épi), $J_{8\alpha-7} = 1,25$ Hz (dans le cas de la forme normale).
- (16) Les régions aliphatiques en RMN ¹H 250 MHz de l'épi-stéganacine 1e et de l'araliangine 3a se sont avérées rigoureusement superposables.

REMERCIEMENTS

Nous remercions la Ligue Française contre le Cancer pour son support financier et l'Institut Universitaire de Technologie du Mans pour son support matériel.

(Received in France 29 September 1983)