

LES STEGANOLIDES B ET C, NOUVEAUX LIGNANES ANALOGUES DE L'EPISTEGANACINE,¹
 ISOLES A PARTIR DE STEGANOATAENIA ARALIACEA HOCHST.
 - CORRELATION ¹³C - ¹H DE LA STEGANACINE, EN RMN BIDIMENSIONNELLE -

J.P. Robin*, D. Davoust[§] et M. Taafrout

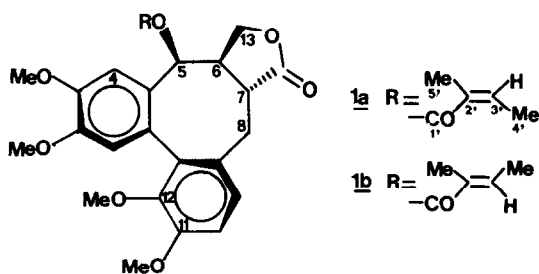
Groupe Phytochimie et Cancer, Département Chimie, Institut Universitaire de Technologie,
 Université du Maine, route de Laval, 72017 Le Mans, France.

[§]Laboratoire de Chimie Organique Structurale, associé au CNRS
 Université P. et M. Curie, 4, place Jussieu, Bat F, 75230 Paris cedex 05, France.

Abstract: Isolation from Steganoataenia araliacea Hochst. (Apiaceae) and structure determination of Steganolides B and C -two new bisbenzocyclooctadiene lignan lactones having the same skeleton and bearing angeloyl and tigloyl benzylic substituents respectively- were performed with the help of high resolution ¹H NMR at 500 MHz. An unambiguous ¹³C assignment of the aliphatic carbones of the available steganacin congener was carried out in using 2D ¹H-¹³C correlation and, skeleton conformation induced by the C₅ benzylic substitution in connection with ¹³C chemical shift and ¹H vicinal coupling was established.

Dix lignanes, répartis en deux types originaux,²⁻⁴ ont été isolés à partir de Steganoataenia araliacea Hochst. (Apiacées): des bisbenzocyclooctadiènes, uniques dans la nature par leur cycle lactonique,⁵ et des dibenzylbutanolides, uniques dans le règne végétal,⁶ par leur(s) substituant(s) isovanillyle(s).⁷ Après Kupchan,² nous avons entrepris de nouvelles investigations phytochimiques sur un extrait à propriété antileucémique d'un échantillon de S. araliacea originaire d'Afrique de l'Ouest.³ Le présent travail décrit l'isolement et l'élucidation structurale de deux nouveaux lignanes bisbenzocyclooctadiénolactoniques 1a et 1b, en liaison avec l'étude de la stéganacine 2a par RMN bidimensionnelle corrélée ¹³C-¹H.

Par chromatographie liquide à haute performance préparative (Hibar RP8, 7 μ, Merck, MeOH-H₂O, 250 x 25 mm, 12,5 ml/mn, 13 injections successives), d'une fraction issue de nos précédents travaux,^{3,4} nous avons séparé deux nouveaux composés minoritaires présentant des temps de rétention voisins, compris entre leurs congénères connus, la stéganacine 2a et la stéganacine 2b. Le premier, le stéganolide B 1a, a été isolé à l'état amorphe, M⁺ 482,19550 (C₂₇H₃₀O₈); [α]_D²⁰ = -92° (C = 2,26; CHCl₃); IR (CHCl₃): 1775, 1719, 1647 et 1602 cm⁻¹; RMN ¹H, 500 MHz (CDCl₃,



	(δ, ppm)			couplages (Hz)		
	H _{3'}	H _{4'}	H _{5'}	J _{3'-4'}	J _{3'-5'}	J _{4'-5'}
<u>1a</u>	6,21	1,99	1,98	7,2	1,4	1,5
<u>1b</u>	6,94	1,86	1,90	7,0	1,5	2,5
<u>1c</u>	6,18	2,05	1,96	7,5	1,3	1,5

TABLE 1: Données de RMN ¹H à 500 MHz (CDCl₃), des angélates 1a (stéganolide B), 1c (aralian-gine) et du tiglate 1b (stéganolide C).

ppm): 6,94(1H, J₉₋₁₀ = 8,5 Hz) H-9, 6,87(1H, d, J₁₀₋₉ = 8,5 Hz) H-10; 6,84(1H, s) H-1; 6,82(1H, s) H-4; 6,21(1H, m) H-3', (voir table 1); 6,07(1H, d, J_{5 α -6} = 7,9 Hz) H-5; 4,26(1H, dd, J_{13 α -13 β} = 8,8 Hz, J_{13 α -6} = 7,6 Hz) H-13 α ; 4,04(1H, dd, J_{13 β -13 α} = 8,8 Hz, J_{13 β -6} = 11,2 Hz) H-13 β ; 3,90(3H, s), 3,88(3H, s) et 3,87(3H, s) OCH₃ x 3; 3,48(3H, s) OCH₃-12; 3,20(1H, dd, J_{8 β -8 α} = 15,8 Hz, J_{8 β -7} = 7,2 Hz) H-8 β ; 3,08(1H, m) H-6; 2,88(1H, dd, J_{8 α -8 β} = 15,8 Hz, J_{8 α -7} = 10,0 Hz) H-8 α ; 2,40(1H, ddd, J₇₋₆ = 13,2 Hz, J_{7-8 α} = 10,0 Hz, J_{7-8 β} = 7,2 Hz) H-7; 1,99(3H, m) H-4' et 1,98(3H, m) H-5' (voir table 1). Le second, le stéganolide C **1b**, également amorphe, [α]_D²⁰ = -150° (C = 0,07; CHCl₃), présente en **SM** un pic moléculaire à M⁺ 482,19551, correspondant à une formule brute C₂₇H₃₀O₈, identique au composé précédent; **IR** (CHCl₃) 1775, 1715, 1649 et 1603 cm⁻¹ **RMN** ¹H 500 MHz (CDCl₃, δ ppm) 6,94 H-3' (table 1); 6,93(1H, m, d, A de AB, J₉₋₁₀ = 8,5 Hz) H-9; 6,89(1H, d, B de AB, J₁₀₋₉ = 8,5 Hz) H-10; 6,82(1H, s) H-1; 6,80(1H, s) H-4; 6,02(1H, d, J_{5 α -6} = 7,5 Hz) H-5; 4,27(1H, dd, J_{13 α -6} = 7,5 Hz, J_{13 β -13 α} = 8,75 Hz) H-13 α ; 4,04(1H, dd, J_{13 β -6} = 10 Hz, J_{13 β -13 α} = 8,75 Hz) H-13 β ; 3,92(3H, s), 3,89(3H, s) et 3,87(3H, s) OCH₃ x 3; 3,47(3H, s) OCH₃-12; 3,17(1H, dd, J_{8 β -7} = 7,5 Hz, J_{8 β -8 α} = 15,0 Hz) H-8 β ; 3,03(1H, m) H-6; 2,80(1H, dd, J_{8 α -7} = 10 Hz, J_{8 α -8 β} = 15 Hz) H-8 α ; 2,42(1H, ddd, J_{7-8 α} = 10 Hz, J_{7-8 β} = 7,5 Hz, J₇₋₆ = 13,1 Hz) H-7; 1,86(3H, m) H-4' et 1,90(3H, m) H-5' (voir table 1).

1a et **1b** présentent des fragmentations identiques en spectrométrie de masse et des vibrations de squelette très voisines en infra-rouge, en solution. D'autre part, ils montrent, en **RMN** du proton de nombreux points communs entre eux et avec l'araliangine **1c**. On peut en conclure d'emblée que **1a** et **1b** possèdent des squelettes bisbenzocyclooctadiénolactoniques identiques différant uniquement par la nature du substituant en C₅. En effet, la région des hydrogènes aromatiques des deux composés comporte deux singulets et un système AB correspondant à des hydrogènes *ortho*, tandis que l'on relève la présence de quatre méthoxyles. En conséquence, nous avons retenu une seule substitution biarylique parmi les quatre possibles grâce à la démarche suivante (identique pour les deux composés): les élargissements notables des deux raies de l'un des doublets du système AB aromatique, d'une part et de l'un des singulets aromatiques, d'autre part,⁸ impliquent les positions 2, 3, 11 et 12 pour les quatre méthoxyles.⁹ Le dépouillement complet de la partie aliphatique des spectres des deux composés, indique une lactone à jonction *trans* et un biaryle "*normal*" (P*, 6R). La valeur du couplage H_{7-8 α} , permet de présumer un substituant en β (5S) sur C₅ (voir table 2).¹⁰ A ce stade, on note pour les deux composés la présence de protons de même nature, appartenant à un ester insaturé, soit: deux méthyles aliphatiques¹¹ et un proton éthylénique, correspondant aux positions typiques d'un angélate, pour **1a** et d'un tiglate pour **1b** (table 1).¹²

Confirmation directe de la stéréochimie en C₅ par RMN ¹³C:

Afin d'obtenir une attribution définitive de tous les carbones du pont aliphatique et de la lactone, nous avons préalablement effectué une étude de corrélation ¹³C - ¹H en **RMN** à haute résolution sur la stéganacine **2a** (voir figure), seul composé disponible en quantité suffisante.¹³ La partie ¹³C de la table 2 montre cette attribution ainsi que la comparaison des données de la stéganacine **2a**, de la stéganangine **2b**, de l'araliangine **1c** et du stéganolide B **1a**.¹⁴ Chaque groupe d'épimères, soit, 5R (**2a** + **2b**) d'une part et 5S (**1a** + **1c**) d'autre part, présente une grande homogénéité de déplacements chimiques pour les cinq carbones considérés. Par contre l'on constate une différence très sensible entre les deux groupes pour certains carbones, soit: 7 ppm pour les carbones C₅, 3 ppm pour les carbones C₈ et 5 ppm pour les méthylènes lactoniques C₁₃. Comme dans le cas de la **RMN** du proton, les perturbations induites sur un carbone éloigné du centre C₅, s'expliquent facilement à l'examen des modèles de Dreiding, puisque:

- le squelette présentant la jonction biarylique normale est flexible,¹⁵
- la présence d'un substituant stériquement encombrant en C₅, modifie considérablement la conformation et les angles de torsion du cyclooctadiène et de la liaison biarylique.

Il résulte de cette étude, que ces deux nouveaux lignanes bisbenzocyclooctadiénolactoniques sont le (P, 5S, 6R, 7R)-stéganolide B **1a** et le (P, 5S, 6R, 7R)-stéganolide C **1b**.

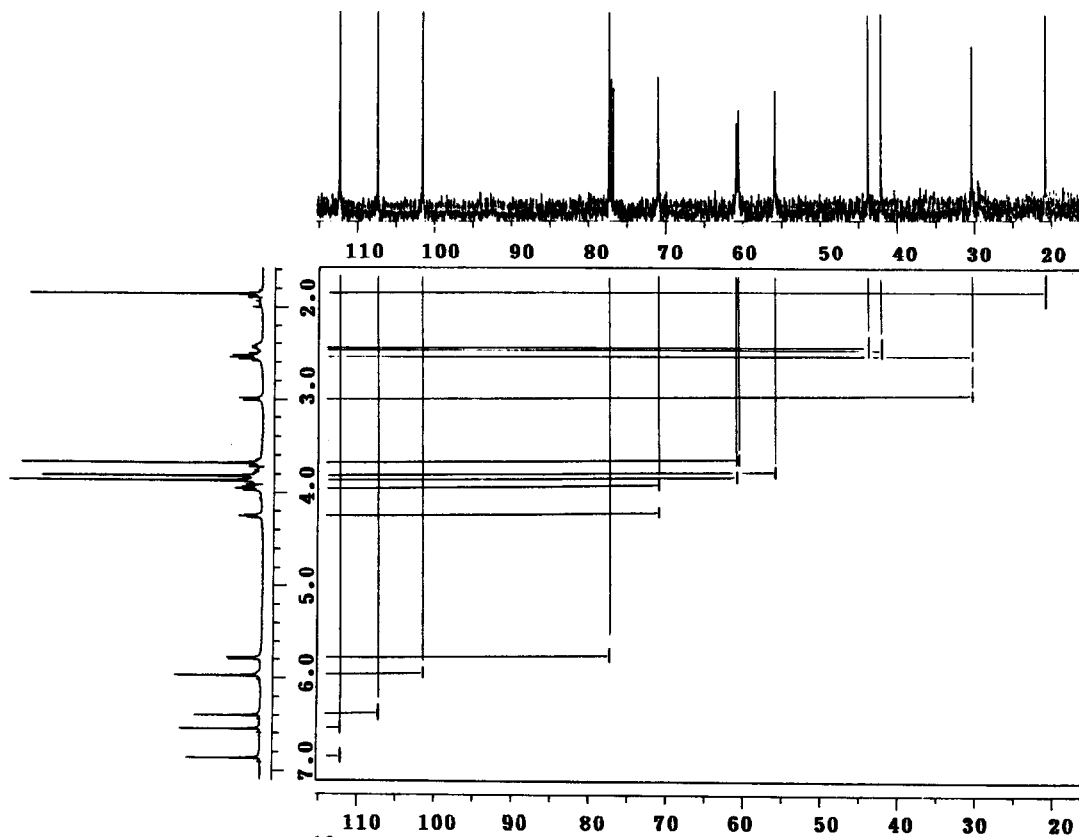
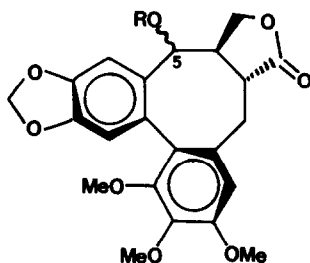
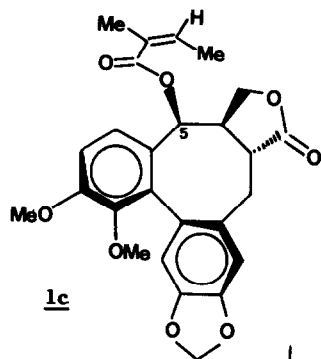


FIGURE: RMN 2D - corrélée ^{13}C - ^1H de la stéganacine **2a** (CDCl_3). Matrice de corrélation ^{13}C (125 MHz) ^1H (500 MHz) de taille 17800 Hz F_2 x 2800 Hz F_1 .



2a R = acétate, H-5 β (5R)
2b R = angélate, H-5 β (5R)
2c R = acétate, H-5 α (5S)

	^1H (δ , ppm)			^1H , ^2J (Hz)		^{13}C (δ , ppm)				
	H $_{\beta}$	H $_{\beta}$	H $_{\alpha}$	J $_{5-6}$	J $_{8\alpha-7}$	C $_5$	C $_6$	C $_7$	C $_8$	C $_{13}$
(5S)-STEGANOLIDE B 1a	3,08	3,20	2,88	7,9	11,0	70,5	43,0	44,8	32,9	66,0
(5S)-STEGANOLIDE C 1b	3,03	3,17	2,80	7,5	10,0	-	-	-	-	-
(5S)-ARALIANGINE 1c	3,10	3,27	2,69	8,2	10,0	70,6	43,4	45,0	33,7	65,5
(5S)-EPISTEGANACINE 2c^a	3,02	3,21	2,63	8,3	11,0	-	-	-	-	-
(5R)-STEGANACINE 2a	2,52	2,59	3,07	9,8	1,2	77,2	43,4	45,0	30,5	71,1
(5R)-STEGANANGINE 2b	2,52	2,57	3,07	10,0	1,3	77,6	42,5	44,8	30,5	71,1

TABLE 2: Comparaison des principales données de RMN ^1H à 500 MHz (CDCl_3) et ^{13}C à 125 MHz (CDCl_3), des séries 5S et 5R; Référence interne: tétraméthylsilane; ^a250 MHz.

Bibliographie et Notes

1. Epimère 5S de la stéganacine **2a**, connu seulement à l'état synthétique: a) A.S. Kende et L.S. Liebeskind, J. Am. Chem. Soc., **98**, 267 (1976); b) A.S. Kende, L.S. Liebeskind, C. Kubiak et R. Eisenberg, J. Am. Chem. Soc., **98**, 6389 (1978); c) F. Zavala, D. Guénard, J.-P. Robin et E. Brown, J. Med. Chem., **23**, 546 (1980).
2. S. M. Kupchan, R. W. Britton, M. F. Ziegler, C. J. Gilmore, R. J. Restivo et R. F. Bryan, J. Am. Chem. Soc., **95**, 335 (1973).
3. a) M. Taafrout, F. Rouessac et J.-P. Robin, Tetrahedron Letters, **24**, 2983 (1983); b) M. Taafrout, F. Rouessac, J.-P. Robin, R.P. Hicks, D.D. Shillaly et A.T. Sneden, J. Nat. Prod., **47**, 600 (1984) et références citées.
4. M. Taafrout, Y. Landais, J.-P. Robin et D. Davoust, Tetrahedron Letters, sous presse.
5. Rencontrés -quoique sans lactone- dans certaines schizandracées orientales; voir Y. Ikeya, H. Taguchi, I. Yosioka et H. Kobayashi, Chem. Pharm. Bull., **26**, 3257 (1978) et références citées.
6. Un bis(hydroxy-3 benzyl)-2,3 butanolide a été isolé à partir du règne animal sous le nom d'entérolactone ou HPMF. a) K.D.R. Setchell, S.P. Borriello, H. Gordon, A.M. Lawson, R. Harkness, D.M.L. Morgan, D.N. Kirk, H. Adlercreutz, L.C. Anderson et M. Axelson, Lancet, **ii**, 4 (1981); b) M. Axelson, J. Sjoval, B.E. Gustaffson, et K.D.R. Setchell, Nature, **298**, 659 (1982).
7. M. Taafrout, F. Rouessac, J.-P. Robin et D. Davoust, Tetrahedron Letters, **37**, 4127 (1984).
8. Qui disparaissent par irradiation de chacun des hydrogènes H₈ et H₅ (couplage benzylique ⁴J), indiquant la présence d'hydrogènes aromatiques en 9 et 4 respectivement.
9. La présence de l'un d'eux en C₁₂ est d'ailleurs confirmée par son déplacement vers les hauts champs; A. Brossi, J. O'Brien et S. Teitel, Helv. Chim. Acta., **52**, 678 (1969).
10. a) M. Taafrout, F. Rouessac et J.-P. Robin, Tetrahedron Letters, **24**, 197 (1983); b) N. Houlbert, E. Brown et J. P. Robin, J. Nat. Prod., **48**, 345 (1985).
11. La partie aliphatique présente un aspect inversé pour les deux composés.
12. a) R.R. Fraser, Can. J. Chem., **38**, 549 (1960). b) L.M. Jackman et R.H. Wiley, J. Chem. Soc., 2886 (1960).
13. 460 mg d'un échantillon de pureté analytique.
14. Quantité d'échantillon insuffisante pour **1b**.
15. Contrairement aux autres diastéréoisomères.^{1c,10}

Remerciements

Ce travail est le résultat d'un programme de criblage d'activité effectué sous les auspices du National Cancer Institute (NCI-NIH, Silver Spring, Md, USA) et de la Ligue Française contre le Cancer (Association d'Hygiène Sociale, Le Mans, France). Nous remercions Mathieu Suffness (NCI-NIH, Silver Spring, Md, USA) pour ses conseils et Valérie Lenain pour sa participation technique.

(Received in France 22 April 1986)