

CONTRIBUTION À L'ÉTUDE CHIMIQUE D'*HYPARRHENIA HIRTA* L.

H. BEN SALAH, M. BOUAZIZ, A. BAHRON, M. DAMAK *,
A. Mc KILLOP **, M. SIMMONDS ***

* *Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, Faculté des Sciences de Sfax, BP 763, 3038 Sfax, Tunisie*

** *School of Chemical Sciences, University of East Anglia, Norwich NR 4 7TJ, England*

*** *Jodrell Laboratory, Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, Surrey TW 9 3AB, England*

(Soumis en mai 1998, accepté en juin 1999)

ABSTRACT- Six products have been isolated for the first time from the leaves and flowers of *Hyparrhenia hirta* (L.) Stapf (*Andropogon hirtus*): tricosane; vanillin; 4-hydroxybenzaldehyde; 12,14-tritriacontandione; β -sitosterol and 3-O- β -D-glucoside sitosterol. Their structures were determined by spectroscopic methods.

Key Word Index-*Hyparrhenia hirta*; Gramineae; leaves; flowers; tricosane; 12,14-tritriacontandione; vanillin; 4-hydroxybenzaldehyde; β -sitosterol; 3-O- β -D-glucoside sitosterol.

RÉSUMÉ- Six produits ont été isolés pour la première fois des fleurs et des feuilles d'*Hyparrhenia hirta* (L.) Stapf (*Andropogon hirtus*): le tricosane; la vanilline; le 4-hydroxybenzaldéhyde; le 12,14-tritriacontandione, le β -sitostérol et le 3-O- β -D-glucoside sitostérol. Leurs structures ont été déterminées grâce aux différentes méthodes spectroscopiques.

I- INTRODUCTION:

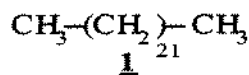
Le présent travail décrit les structures de six produits isolés des fleurs et des feuilles d'*Hyparrhenia hirta* de la famille des Graminées [1]. Cette plante, qui n'a donné lieu à aucun travail antérieur [3], est très répandue dans la région méditerranéenne et en Afrique tropicale [2]. Elle a été choisie pour ses propriétés diurétiques [4].

Les produits isolés ont été identifiés grâce aux différentes techniques spectroscopiques et notamment par UV, IR, SM, RMN du ^1H et du ^{13}C .

II- RÉSULTATS ET DISCUSSIONS:

L'application des différentes méthodes chromatographiques sur gel de silice nous a permis de séparer et purifier six composés identifiés à des produits connus.

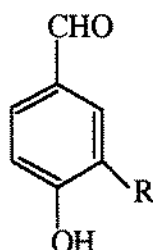
Composé 1: C'est un hydrocarbure isolé de l'extrait à l'éther de pétrole des feuilles. Il cristallise dans le dichlorométhane. L'étude structurale (UV, IR, SM, RMN ^1H et RMN ^{13}C) a montré qu'il s'agit du tricosane **1**.



* A qui toute correspondance peut être adressée.

Sa structure a été confirmée grâce à une comparaison entre les valeurs des déplacements chimiques des carbones enregistrées et calculées à partir de la relation de GRANT et PAUL[5], améliorée par LINDEMAN et ADAMS[6].

Composés 2 et 3: (Vanilline **2** et 4-hydroxybenzaldéhyde **3**) Ces deux produits sont présents en faibles quantités (0,1% environ) dans l'extrait des fleurs au chloroforme. Ils ont été identifiés par UV, IR, SM, RMN ^1H , ainsi que par comparaison avec des échantillons de référence (CCM et F).



2: R= OCH₃

3: R= H

Composé 4: Isolé des feuilles et des fleurs par l'éther de pétrole, sa formule brute C₃₃H₆₄O₂ a été établie grâce à ses spectres de masse, de RMN du ^1H et de RMN du ^{13}C .

Les spectres de RMN du ^1H et de RMN du ^{13}C montrent en particulier un OH énolique à 15,52 ppm et un C=O cétonique à 194,58 ppm, caractéristiques d'une β -dicétone [7], en équilibre avec sa forme céto-énolique:



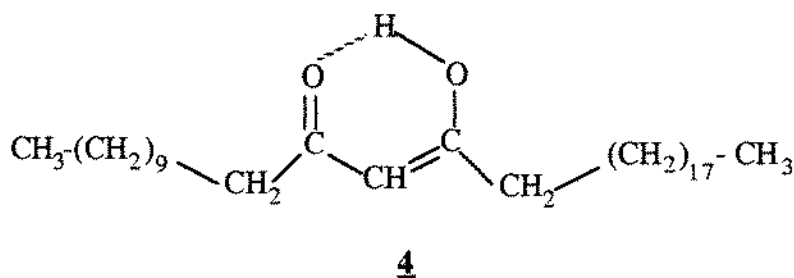
Cet équilibre céto-énolique est vérifié par les différents déplacements chimiques observés en RMN du ^1H et du ^{13}C et par référence aux données de la littérature [7]. En effet, le spectre de RMN du ^1H montre un triplet à 2,23 ppm attribué aux -CH₂- en α des C=O de la forme énolique et un autre triplet à 2,50 ppm d'intensité beaucoup plus faible attribué aux -CH₂- en α des C=O de la forme cétonique.

Les intensités relatives de ces deux triplets nous ont permis d'évaluer les proportions des deux formes en mélange. En effet, le pourcentage de la forme énolique est de 84 %, alors que celui de la forme cétonique est de 16 %.

Pour localiser les positions des groupements C=O et déterminer les structures de R et R', il a été tenu compte des données du spectre de masse. Celui-ci, présente des fragmentations caractéristiques de chaînes alkyles linéaires [8].

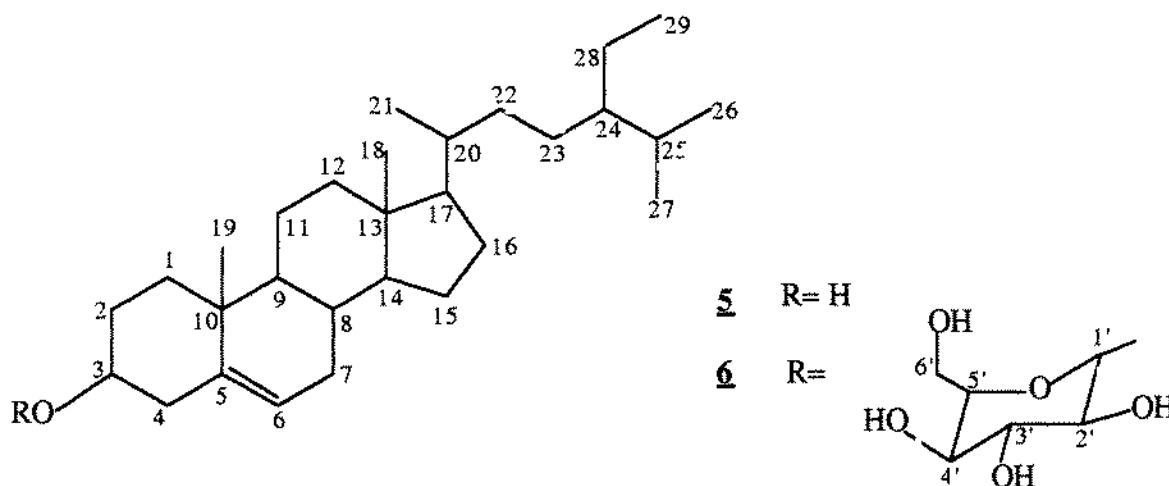
Les pics à $m/z(\%) = 183(37)$, $225(23)$, $337(14)$ et $295(10)$ sont respectivement relatifs aux fragments: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CO}^+$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COCH}_2\text{CO}^+$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COCH}_2\text{CO}^+$ et $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{CO}^+$. Le pic à $m/z(\%) = 100$ (100) est le résultat de deux réarrangements successifs de type Mc Lafferty.

Ainsi la structure finale du composé **4** est celle du 12,14-tritriacontandione sous sa forme céto-énolique.



Composé 5: Il est isolé de l'extrait des fleurs au chloroforme par chromatographie sur couche épaisse de silice, en utilisant comme éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-CH}_3\text{OH}$ (99,5 - 0,5 v/v, NH_3).

Son spectre de masse par I.E., montre entre autres, un pic moléculaire à $m/z = 414$ qui est le pic de base et deux fragments à $m/z = 273$ et 255 très souvent rencontrés dans les triterpènes tétracycliques hydroxylés en C-3[9]. Le spectre de RMN du ^{13}C montre deux pics à 140,75 et à 121,70 ppm caractéristiques d'une double liaison entre C-5 et C-6 d'un triterpène tétracyclique. La comparaison des déplacements chimiques des carbones du composé **5** avec ceux de la littérature[10] ont permis de l'identifier au β -sitostérol.



Composé 6: Il a été isolé par recristallisation dans le CH_3OH de l'extrait des fleurs au chloroforme. Son spectre de masse par I.E. ne montre pas de pic moléculaire, mais des pics à $m/z = 273$ et 255 caractéristiques d'un squelette triterpénique tétracyclique[9]. Son spectre de RMN du ^{13}C montre comme le β -sitostérol deux pics à 140,39 et à 122,31 ppm caractéristiques

d'une double liaison entre C-5 et C-6 et six autres pics résonnant à 101,22; 77,48; 76,49; 75,83; 70,27 et 62,04 ppm provenant d'un groupement monoglucoside.

Ce composé a été identifié au 3-O- β -D-glucoside sitostérol et ce grâce à une comparaison des déplacements chimiques en RMN de ^{13}C dans le même solvant avec ceux de la littérature[11].

III- ACTIVITÉS BIOLOGIQUES:

Les tests biologiques, effectués sur l'extrait des fleurs à l'éther de pétrole ainsi que sur les extraits des feuilles et des fleurs au chloroforme et au méthanol, ont montré une activité anti-inflammatoire marquée. De plus, quelques fractions issues de ces extraits, ont également montré des activités anti-inflammatoires et antioxydantes intenses.

IV- PARTIE EXPÉRIMENTALE:

Généralité:

Les spectres UV ont été enregistrés sur un appareil SHIMADZU type "UV-2100", en solution dans l'éthanol ou l'hexane.

Les spectres de masse par impact électronique(IE) ont été réalisés sur un spectromètre "Kratos model MS25 magnetic sector".

Les spectres de RMN du ^1H et du ^{13}C ont été enregistrés dans CDCl_3 avec le TMS comme référence interne ($\delta=0$) respectivement à 270 et 68 MHz sur appareil JEOL JNM-EX270.

Les points de fusion (F) ont été mesurés sur un banc Kofler "REICHERT HEIZBANK".

Les colonnes de fractionnement ont été préparées avec le gel de silice (Art 7754 Kieselgel 60 Korngröße 0,063-0,200mm, 70-230 Mesh ASTM, Merck). Les chromatographies sur couches épaisses et sur couches minces ont été réalisées sur du gel de silice 60PF₂₅₄ (0,2mm; Merck).

Extraction et Séparation:

Extraction et purification des produits des fleurs:

220 g de poudre ont été extraits à chaud pendant 36 heures par l'éther de pétrole. L'extrait obtenu a été concentré sous vide pour donner un résidu sec (6,5g).

Une chromatographie à moyenne pression, sur colonne de gel de silice, a été réalisée sur 3g de cet extrait et a permis de séparer le 12,14-tritriacontanedione **4**.

Le marc, obtenu après dégraissage par l'éther de pétrole, est alcalinisé par NH_4OH , puis extrait par le chloroforme. La solution chloroformique évaporée à sec a permis de récupérer un totum de masse 4,7g.

Une chromatographie à moyenne pression, sur colonne de gel de silice, a été réalisée sur 3,7g de l'extrait brut au chloroforme. Le traitement par CCE des différents lots obtenus, a permis d'isoler la vanilline **2**, le 4-hydroxybenzaldéhyde **3**, le β -sitostérol **5** et le 3-O- β -D-glucoside sitostérol **6**.

Extraction et purification des produits des feuilles:

300 g de poudre ont été extraits à l'éther de pétrole de la même façon que celle des fleurs.

Ils ont permis de récupérer un extrait brut de masse 7g. Une chromatographie sur colonne de gel de silice réalisée sur 3g de cet extrait, a permis d'isoler le tricosane **1** et le 12,14-tritriacontanedione **4**.

Tricosane **1** : $C_{23}H_{48}$; cristaux blanc ; (feuilles, Rdt= 4,2%); F= 62 °C dans CH_2Cl_2 ; Rf = 0,64 (hexane / $CHCl_3$: 8 / 2) ; UV (λ_{max} nm, hexane) : 228 ; SMIE [m/z (%)] : 324[M^+] (29), 183 (12), 169(14), 155(14), 141 (16), 127(18), 113(22), 99(29), 85(87), 71(99), 57(100), 55(34), 43 (43) ; RMN 1H ($CDCl_3$, δ ppm) : 1,25 (42H, m, 21 CH_2), 0,88 (6H, t, $^3J = 6,7$ Hz, 2 CH_3).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, δ ppm) :

Numéro du carbone	C_1 et C_{23}	C_2 et C_{22}	C_3 et C_{21}	C_4 et C_{20}	C_5 et C_{19}	C_6 jusqu'à C_{18}
Valeurs enregistrées	14,12	22,71	31,95	29,38	29,63	29,72
valeurs calculées	13 ,86	22,65	32,40	29,70	29,96	29,96

4-hydroxybenzaldéhyde **2** : $C_7H_6O_2$; (fleurs, Rdt= 0,11%); F=115°C dans $CHCl_3$; Rf = 0,84 (CH_2Cl_2 / CH_3OH : 97,5 / 2,5) ; UV (λ_{max} nm , éthanol) : 202, 221 et 284. Ce produit est identifié par comparaison à un produit de référence (F et CCM).

Vanilline **3** : $C_8H_8O_3$; (fleurs, Rdt= 0,16%); F= 80°C dans $CHCl_3$; UV (λ_{max} nm , éthanol) : 205, 231, 278 et 308. Il est identifié à la vanilline par comparaison à un produit de référence (F et CCM).

12,14-tritriacontanedione **4** : $C_{33}H_{64}O_2$; amorphe ; blanc; (feuilles, Rdt= 2,92%) et (fleurs, Rdt= 1,5%); Rf = 0,36 (hexane / chloroforme : 1 / 1) ; UV (λ_{max} nm, hexane) : 273 ; SMIE [m/z (%)] : 492 [M^+] (8), 474(16), 365(7), 352(6), 337(14), 334(19), 295(10), 276(14), 253(10), 241(11), 225(23), 183(37), 164(18), 138(16), 113(19), 100(100), 71(37), 57(54) ; RMN 1H ($CDCl_3$, δ ppm) : Forme énolique 15,52 (1H, s, OH-12 ou OH-14), 5,47 (1H, s, H-13), 2,23 (4H, t, H_2-11 et H_2-15), 1,60 (8H, m, $H_2-9,10,16,17$), 1,25 (44H, m, 22- CH_2 -), 0,88 (6H, t, 2 CH_3). Forme cétonique 3,54 (2H, s, H_2-13), 2,55(4H, t, H_2-11 et H_2-15), 1,60 (8H, m, $H_2-9,10,16,17$), 1,25 (44H, m, 22- CH_2 -), 0,88 (6H, t, 2 CH_3) ; RMN ^{13}C ($CDCl_3$, δ ppm) : 194,58 (C-12 et C-14), 99,05 (C-13), 38,43 (C-11et C-15), 31,93 (C-31et C-3), 29,71, 29,66, 29,62, 29,48, 29,37, 29,26 (C-5 jusqu'à C-9 et C-17 jusqu'à C-29), 29,04 (C-4 et C-30), 25,75 (C-10 et C-16), 22,69 (C-2 et C-32), 14,12 (C-1 et C-33).

β -sitostérol **5** : $C_{29}H_{50}O$; amorphe ; blanc ; (fleurs, Rdt= 0,29%); R f= 0,61 (CH_2Cl_2), UV (λ_{max} nm , éthanol) : 203 ; SMIE [m/z (%)] : 414[M^+] (100), 396 [M^+-H_2O](30), 314(48), 273[$M^+ -C_{10}H_{21}$](20), 271[$M^+ -2H-C_{10}H_{21}$](34), 255[$M^+ -C_{10}H_{21} -H_2O$](24), 145(24),

85(10), 71(10), 57(21), 43(41), 29(4) ; RMN ^1H (CDCl_3 , δppm) : 0,68(3H, s, H_3 -18), 0,81(6H, d, $^3\text{J}=6.6\text{Hz}$, H_3 -26 et H_3 -27), 1,00(3H, s, H_3 -19), 1,05(3H, d, $^3\text{J}=5.94\text{Hz}$, H_3 -21), 3,52(1H, m, OH), 5,35(1H, m, H-6) ; RMN ^{13}C (CDCl_3 , δppm) : 140,75(C-5), 121,70(C-6), 71,78(C-3), 56,74(C-14), 56,03(C-17), 50,11(C-9), 45,93 (C-24), 42,28(C-13 et C-4), 39,75(C-12), 37,23(C-1), 36,49(C-10), 35,74(C-20), 33,92 (C-22), 31,89(C-7 et C-8), 31,64(C-2), 29,13(C-25), 28,23(C-16), 26,04(C-23), 24,27(C-15), 23,03(C-28), 21,06(C-11), 19,80(C-27), 19,39(C-19), 19,01(C-26), 18,76(C-21), 11,97 (C-29), 11,84 (C-18).

3-O- β -D-glucoside sitostérol **6** : $\text{C}_{35}\text{H}_{60}\text{O}_6$; amorphe ; blanc ; (fleurs, Rdt= 0,11%); Rf = 0,54 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$: 85 / 15) ; SMIE [m/z (%)] : 414[$\text{M}^+-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_6$] (6), 396 [$\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}$] (5), 273[$\text{MH}^+-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_6-\text{C}_{10}\text{H}_{21}$] (1), 255[$\text{MH}^+-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_6-\text{C}_{10}\text{H}_{21}-\text{H}_2\text{O}$] (4), 85(21), 57(35), 43(70), 29(18); RMN ^1H (CDCl_3 , δppm) : 0,58(3H, s, H_3 -18), 0,73(6H, d, $^3\text{J}=6.6\text{Hz}$, H_3 -26 et H_3 -27), 0,82 (3H, d, $^3\text{J}=5.94\text{Hz}$, H_3 -21), 0,90(3H, s, H_3 -19), 4,31(1H, d, $^3\text{J}=7.7\text{Hz}$, H-1'), 5,30(1H, m, H-6) ; RMN ^{13}C (CDCl_3 , δppm) : 140,39(C-5), 122,31(C-6), 101,22(C-1'), 79,31(C-3), 77,48(C-3'), 76,49(C-5'), 75,83(C-2'), 70,27 (C-4'), 62,04(C-6'), 56,87(C-14), 56,17(C-17), 50,29(C-9), 45,98(C-24), 42,44(C-13), 39,87(C-12), 38,83(C-4), 37,37(C-1), 36,83(C-10), 36,26(C-20), 34,06(C-22), 32,03(C-7 et C-8), 29,73(C-2), 29,27(C-25), 28,35(C-16), 26,18(C-23), 24,40(C-15), 23,18(C-28), 21,16(C-11), 19,87(C-27), 19,40(C-19), 19,10(C-26), 18,85(C-21), 12,03(C-29), 11,93 (C-18).

V- BIBLIOGRAPHIE

- [1] A.Cuenod, "*Flore analytique et synoptique de la Tunisie*" Imprimerie S.E.F.A.N, Tunis, 1954, p56.
- [2] R. Maire, "*Flore de l'Afrique du Nord*". Jouve & Cie Imprimeurs, Paris, 1952, vol I, p289.
- [3] R.Jarraya, M.Chaïb et M.Damak, *Plantes médicinales et phytothérapie*, 1993, Tome 26, 177-189.
- [4] M.K.Boukef, "*Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne*". Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris, 1986, p30.
- [5] D.M.Grant et E.G.Paul, *J.Amer. Chem. Soc.*, 1964, 86, 2977-2984.
- [6] L.P.Lindeman et J.Q.Adams, *Anal. Chem.*, 1971, 43, 1245-1252.
- [7] A.P. Tulloch, *Phytochemistry*, 1985, 24 (1), 131-137.
- [8] M.M.Gupta, R.N.Lal and Y.N.Shukla, *Phytochemistry*, 1981, 20 (11), 2553-2555.
- [9] P.Goswami, J.Kotoky, Z.N.Chen and Y.Lu, *Phytochemistry*, 1996, 41 (1), 279-281.
- [10] F.Nicotra, F.Ronchetti, G.Russo, L.Toma and B.M.Ranzi, *Mag. Res. Chem.*, 1985, 23 (2), 134-136.
- [11] J.Sakakibara, T.Kaiya, H.Fukuda and T.Ohki, *Phytochemistry*, 1983, 22 (11), 2553-2555.