

ORSAY
n° d'ordre :

UNIVERSITE DE PARIS-SUD
CENTRE D'ORSAY

THESE

présentée

Pour obtenir

Le Titre de DOCTEUR en Science
de l'Université Paris XI - Orsay

Spécialité : Chimie

 par Christian MORETTI

SUJET : Contribution à l'étude de quatre Simaroubacées médicinales de
la Guyane.
Quassinoides de : Picrolemma pseudocoffea Ducke, Simaba cuspidata
Spruce, Simaba multiflora Juss., Simaba morettii C Feuillet.

soutenue le 30 Septembre 1986 devant la Commission d'examen

MM. A. GAUDEMER Président

Mme J. POLONSKY

MM. J. COZ

 G. MASSIOT

 J. POISSON

Ø76 PLATED
HOK



pas pimenté
h2 58083
FA J. Rex Bely
F 24.782

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE QUATRE SIMAROUBACEES
MEDICINALES DE LA GUYANE FRANCAISE :

Picrolemma pseudocoffea Ducke

Simaba cuspidata Spruce

Simaba multiflora Juss.

Simaba morettii C Feuillet

A Monsieur A. GAUDEMER, Professeur,

qui m'a fait l'honneur de présider le
jury de cette thèse,

A Messieurs J. POISSON, Professeur,
G. MASSIOT, Directeur de Recherche,

qui ont assumé la tâche de rapporteur,

A Madame J. POLONSKY, Directeur de Recherche au C.N.R.S.,
A Monsieur J. COZ, Directeur de Recherche à l'O.R.S.T.O.M.,

qui ont accepté de juger ce travail,

En témoignage de respectueuse gratitude.

Avant de présenter ce travail, je voudrais exprimer ma profonde reconnaissance à Madame J. POLONSKY, Directeur de Recherches à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles du C.N.R.S. qui m'a accueilli dans son laboratoire et m'a permis de profiter de sa compétence en m'apportant ses précieux encouragements.

Je remercie vivement Monsieur P. POTIER, co-Directeur de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles pour m'avoir accueilli de façon toujours chaleureuse lors de mes séjours dans l'Institut et pour s'être constamment préoccupé de l'évolution de mon travail.

Je tiens à remercier mes collègues du centre O.R.S.T.O.M. de Cayenne :

- l'équipe de botanistes et, tout particulièrement, C. FEUILLET pour le temps qu'il a bien voulu consacrer à l'identification de mes herbiers et pour les fructueuses discussions que nous avons eues ensemble, parfois dans des conditions difficiles, loin des bureaux climatisés ;

- mes collègues et amis P. et F. GRENAND, anthropologues et ethnolinguistes qui m'ont fait profiter de leur grande connaissance des amérindiens.

Mes remerciements vont également à :

- Monsieur ESCAUT,
responsable du laboratoire d'extraction,
 - Messieurs B.C. DAS et P. VARENNE
du Service de Spectrométrie de Masse,
 - Monsieur M. VUILHORGNE et l'équipe de la RMN de
l'I.C.S.N.,
 - Monsieur et Madame J.P. COSSON
pour la réalisation matérielle de ce mémoire,
 - Monsieur S. BHATNAGAR
pour l'entraide scientifique et amicale qu'il m'a apportée.
-
- Monsieur H. JACQUEMIN,
qui m'a initié aux techniques de prospection et pour son
soutien dans la réalisation de cette étude.
 - Monsieur S.J. BERGRAVE,
pour son aide dans la réalisation des tests chimiques.

A Louis NORINO, Indien Palikur de l'Oyapok,
qui a bien voulu me faire partager sa merveilleuse
connaissance de la forêt guyanaise.

TABLE DES MATIERES

	Page
<u>AVANT-PROPOS</u>	
<u>CHAPITRE 1 : ASPECTS BOTANIQUES ET ETHNOBOTANIQUES</u>	
I. CLASSIFICATION DES SIMAROUBACEES	3
II. INVENTAIRE DES SIMAROUBACEES GUYANAISES	7
III. ASPECTS ETHNOBOTANIQUES	10
1. Principes et méthodes	10
2. Présentation des données	11
3. Simaroubacées médicinales de la Guyane	12
IV. GLOSSAIRE BOTANIQUE	26
V. BIBLIOGRAPHIE BOTANIQUE	27
<u>CHAPITRE 2 : ETUDE DES QUASSINOIDES DE QUATRE SIMAROUBACEES GUYANAISES</u>	
<u>Picrolemma pseudocoffea</u> Ducke	
<u>Simaba cuspidata</u> Spruce	
<u>Simaba multiflora</u> Juss.	
<u>Simaba morettii</u> Feuillet (sp. <u>norvae</u>)	
INTRODUCTION	29
I. TESTS CHIMIQUES PRELIMINAIRES	30
II. GENERALITES	35
1. Les quassinoides, principes actifs des Simaroubacées	35
2. Biosynthèse des quassinoides	36
3. Etudes chimiques antérieures des Simaroubacées guyanaises	38

	Page
III. EXTRACTION DES QUASSINOIDES	39
IV. QUASSINOIDES DE <u>PICROLEMM</u> <u>A PSEUDOCOFFEA</u> Ducke	41
1. Extraction et isolement des quassinoïdes	41
2. Etude structurale	42
V. QUASSINOIDES DE <u>SIMABA CUSPIDATA</u> Spruce	53
1. Extraction des quassinoïdes	53
2. Etude structurale	53
VI. QUASSINOIDES DE <u>SIMABA MULTIFLORA</u> Juss.	58
1. Extraction des quassinoïdes	58
2. Etude structurale	59
VII. QUASSINOIDES DE <u>SIMABA MORETTII</u> Feuillet	70
1. Extraction des quassinoïdes	70
2. Etude structurale	70
VIII. PARTIE EXPERIMENTALE	77
<u>CHAPITRE 3 : ACTIVITES BIOLOGIQUES DES QUASSINOIDES ISOLES</u>	
I. INTRODUCTION	91
II. ACTIVITES ANTINEOPLASIQUES	92
1. Activité antinéoplasique des quassinoïdes	92
2. Activité antinéoplasique des quassinoïdes isolés	93
III. MESURE DE L'ACTIVITE ANTIPLASMODIALE <u>IN VITRO</u> ET <u>IN VIVO</u> DE 2 QUASSINOIDES : LE SERGEOLIDE ET L'ISOBRUCEINE B	95
1. Travaux antérieurs	95
2. Méthodes et techniques	96
3. Préparation des solutions	97
4. Mesure de la toxicité aiguë du sergéolide	97
5. Résultats	98
6. Discussion	100
IV. PROPRIETES INSECTICIDES ET INAPPETANTES	102
1. Revue bibliographique	102
2. Mesure de la toxicité des Simaroubacées guyanaises sur les larves de <u>Aedes aegyptii</u>	105

	Page
V. ACTIVITE ANTIVIRALE	107
VI. INHIBITION IN VITRO DE LA CROISSANCE DES PROMASTIGOTES DE <u>LEISHMANIA DONOVANI</u>	108
VII. AMERTUME DES QUASSINOIDES	109
<u>CONCLUSION GENERALE</u>	111
<u>BIBLIOGRAPHIE CHIMIQUE ET PHARMACOLOGIQUE</u>	115

A V A N T - P R O P O S

Les flores tropicales représentent une source considérable de nouvelles molécules. Cette richesse a motivé la mise en œuvre par l'ORSTOM de programmes destinés à inventorier les potentialités pharmacologiques des flores tropicales.

J'ai, pour ma part, participé, de 1974 à 1982, au programme d'Inventaire ethnobotanique et phytochimique de la flore guyanaise. Au cours de ces années de recherche sur le terrain, notre équipe, regroupant un anthropologue, une ethnolinguiste et les botanistes du centre ORSTOM de Cayenne, a relevé, par les enquêtes ethnobotaniques, les usages traditionnels des drogues. Nous avons aussi procédé à un criblage chimique et/ou biologique préliminaire des drogues retenues selon des critères chimiotauxonomiques ou ethnobotaniques.

Parmi les groupes taxonomiques ainsi examinés, les Simaroubaceae ont rapidement retenu notre attention. En effet, les espèces guyanaises de cette famille sont très employées en médecine locale et certaines d'entre elles ont acquis une grande réputation.

Les principes amers de Simaroubaceae, les quassinoides, ont de remarquables propriétés biologiques, mais c'est surtout l'activité anticancéreuse de ces substances qui a retenu l'attention. En 1975, KUPCHAN met en évidence les propriétés antinéoplasiques de la brucéantine, l'un des rares produits naturels passés au stade de l'étude clinique dans le cadre du programme du National Cancer Institute. Aussi, sous la direction de Madame POLONSKY, avons-nous

entrepris l'étude des quassinoïdes de quatre Simaroubaceae guyanaises. Leur étude chimique n'avait pas été abordée avant que nous n'entreprenions nos travaux sur ces espèces.

La thèse que je présente se compose de trois chapitres :

. Je tenterai, dans un premier chapitre, d'exposer l'état des connaissances sur la classification des Simaroubaceae guyanaises. J'indiquerai aussi les usages des drogues relevés au cours des enquêtes ethnobotaniques, ainsi que diverses informations tirées, pour la plupart, de notes personnelles et utiles à leur éventuelle valorisation.

. Dans le deuxième chapitre, le plus important, je décrirai les travaux qui ont conduit à l'isolement des quassinoïdes, et à l'élucidation de leur structure, la plupart de ces composés étant nouveaux.

. Dans le troisième chapitre, je passerai en revue les activités biologiques des quassinoïdes isolés. Guidé par les usages traditionnels convergents des Simaroubaceae étudiées, j'ai tenté d'approfondir les connaissances sur les propriétés antipaludiques et insecticides de ces composés.

CHAPITRE 1

Aspects botaniques et ethnobotaniques

I. CLASSIFICATION DES SIMAROUBACEES

Les Simaroubacées sont essentiellement des plantes ligneuses tropicales. Cette famille comprend de 23 à 32 genres suivant les classifications adoptées, représentant environ 200 espèces. Du point de vue morphologique, les Simaroubacées sont multiformes et se distinguent difficilement des autres familles de l'ordre des Rurales : Rutacées, Méliacées et Burséracées.

Il n'existe pas d'étude récente de systématique sur cette famille. La seule étude exhaustive demeure celle d'ENGLER, publiée dans la "Flora Brasiliensis" (1874). Dans cet ouvrage, l'auteur décrit la plupart des espèces sud-américaines. Ultérieurement, ENGLER proposa une classification plus élaborée (1) : s'appuyant sur des études anatomiques et biogéographiques, il divise les Simaroubacées en 6 sous-familles :

- . SURIANOIDEAE,
- . SIMARUBOIDEAE,
- . KIRKIOIDEAE,
- . PICRAMNIOIDEAE,
- . IRVINGIOIDEAE,
- . ALVARADOIDEAE.

Cette division est toujours admise par les botanistes modernes, à la différence que plusieurs sous-familles sont élevées au rang de famille (2).

Parmi les botanistes qui ont précédé ENGLER, nous nous devons de citer F. AUBLET qui, dans son "Histoire des Plantes de la Guyane Française" parue en 1775, établit le premier le genre Simaba, et décrivit de nombreuses espèces (3).

En 1846, J.E. PLANCHON présenta une première "Revue de la famille des Simaroubacées" dans laquelle figure la diagnose de Simaba cedron. Selon cet auteur, "La saveur amère est, sans nul doute, le caractère le plus général de la famille". (4)

Postérieurement au travail de ENGLER, quelques espèces furent décrites par différents botanistes. Il faut attendre le travail de CRONQUIST (1944) et de NOOTEBOOM (1962) pour disposer à nouveau d'une étude systématique importante (5,6). Ces 2 auteurs ont tous deux indiqué qu'ils avaient été handicapés par la pauvreté des collections sud-américaines.

CRONQUIST (5) propose, pour les Simaroubaceae américaines, la classification suivante :

- SURIANOIDEAE : carpelles soudés ou faiblement soudés, renfermant chacun deux ovules. Pétales deux fois plus nombreux que les étamines. Genres Suriana et Recchia.

- SIMAROUBOIDEAE : carpelles libres, réunis simplement par leur style, renfermant un seul ovule, fleur fréquemment unisexuée. Genre : Picrolemma, Picrasma, Castela, Holacantha, Ailanthus, Simarouba, Simaba, Quassia.

- PICRAMNIOIDEAE : carpelles fermement soudés, styles libres, même nombre d'étamines et de pétales. Genres : Picramnia, Alvaradoa et Diomma.

. Le genre Simaba

Le genre Simaba est le second genre de la famille, après le genre Picramnia, avec 25 espèces, exclusivement américaines (S. africana a été en effet remplacée par CRONQUIST dans le genre Quassia). La plupart des espèces ont été décrites par ENGLER (in Flora Brasiliensis, 1874). Ce dernier divise le genre Simaba en 3 sections :

- La section des TENUIFLORAE regroupe les espèces à petites fleurs, avec des pétales pubérulents.

- La section FLORIBONDEAE concerne les espèces à fleurs de tailles moyennes.

- Les espèces à grandes fleurs sont regroupées dans la section GRANDILORAE.

La section TENUIFLORAE se confine au Bassin Amazonien, et aux Guyanes. Les sections FLORIBONDAE et GRANDIFLORAE, à l'exception de S. paraense, S. cedron, et de la nouvelle espèce S. morettii, sont limitées aux régions plus sèches du Brésil et du Paraguay.

Comme le remarque CRONQUIST, cette division coïncide avec celle, basée sur des critères anatomiques, proposée par BOAS : les TENUIFLORAE ne possèdent pas de canaux sécréteurs, contrairement aux espèces des 2 autres sections. Dans l'ensemble, la séparation est mieux marquée entre TENUIFLORAE et FLORIBONDAE qu'entre cette dernière et la section GRANDIFLORAE.

Dans son étude du genre Simaba, CRONQUIST propose une clef des espèces qui demeure la seule clef exhaustive de ce genre. Elle a été l'outil de base pour l'identification de nos échantillons.

NOOTEBOOM (1962) réduit les genres Simaba et Simarouba à une section du genre QUASSIA. Cependant, cette classification n'est pas suivie par tous les botanistes.

Les principales difficultés, d'ordre botanique, que nous avons rencontrées, concernent le genre Simaba.

Signalons que ce n'est que tout récemment que nous avons pris connaissance de la monographie de ce genre, réalisée par CAVALCANTE et publiée au Brésil (14).

Aeschrion excelsa Kuntze (Cf Remarque 1)

Picraena excelsa Lindl

Picramnia tariri Dec.

Tariri guianensis Aubl.

Picrolemma pseudocoffea Ducke

Quassia amara L.

Simaba guianensis Engl.

Aruba g. Aubl. :

"Simaba multiflora Juss.

selon Sandwith" (Cf Remarque 2)

S. cuspidata (Aubl.) Engl.

signalée en Guyane Hollandaise

selon l'auteur

S. trichilioides St-Hil. (Cf Remarque 3)

S. cedron Planch.

Simarouba amara Aubl.

Suriana maritima L. (Cf Remarque 4)

REMARQUES .

(1) : Espèce des Antilles, absente des Guyanes et de l'Amérique tropicale continentale (8,10).

(2) : Contrairement à ce qu'écrit ici l'auteur, SANDTWITH (1929) rétablit les 2 espèces S. guianensis Aubl. et S. multiflora Juss. mises en synonymie par ENGLER.

(3) : Espèce du Minas gérais et du Matto Grosso, au Brésil, selon CRONQUIST, régions éloignées de la Guyane.

(4) : Genre monospécifique auquel la plupart des botanistes attribuent maintenant le rang de famille (8).

TABLEAU 1 : Espèces figurant dans la "Flore de la Guyane" de LEMEE (1954) et remarques.

II. INVENTAIRE DES SIMAROUBACEAE DE LA GUYANE FRANÇAISE

Ce travail a été réalisé en collaboration avec C. FEUILLET, Botaniste au Centre ORSTOM de Cayenne.

Une des difficultés rencontrées lors de l'identification de nos échantillons fut de délimiter les différents taxons : les genres, mais surtout les espèces, dont les descriptions dans les flores étaient souvent incomplètes, voire erronées.

Le seul travail disponible à ce jour de systématique consacré à la Guyane est la flore de LEMEE (7). Cette flore, si elle a le mérite d'exister, est fort incomplète et comporte un certain nombre d'erreurs (Cf Remarques ci-contre, Tableau 1).

Une autre flore utile pour l'identification des plantes de cette région est celle du Surinam, pays limitrophe de la Guyane, dont le chapitre consacré aux Simaroubaceae a paru alors que notre travail d'inventaire sur le terrain était en cours (9). L'auteur, J.M. JANSEN, suit la classification de NOOTEBOOM, et réduit donc les genres Simaba et Simarouba à une section du genre Quassia. Par ailleurs, la distinction entre Simaba cuspidata Spruce et S. multiflora Juss. est ici bien établie (pour la confusion entre les 2 espèces, voir ci-après), et on y trouve une clef d'identification des Picramnia, satisfaisante pour les espèces de Guyane actuellement recensées.

Les flores et les différentes études que nous venons de passer en revue ne permettaient pas l'identification correcte des échantillons récoltés.

Sur le plan plus fondamental, l'insuffisance de certaines diagnoses, la confusion qui régnait dans les collections d'herbiers,

la présence vraisemblable parmi celles-ci d'espèce(s) nouvelle(s) constituaient autant de raisons pour reprendre à la base la systématique des SIMAROUBACEAE. Nous avons eu le plaisir d'être écoutés par la Commission Scientifique de Botanique et de Biologie Végétale de l'ORSTOM, qui a confié à notre collègue systématicien C. FEUILLET l'étude de la classification des SIMAROUBACEAE guyanaises.

Mais, poussés par la nécessité de nommer ces plantes dont l'étude chimique progressait rapidement, il nous a paru indispensable, dans un premier temps, de dresser une liste des Simaroubacées nord amazoniennes et de cerner les caractères distinctifs de chaque espèce (Tableau 2).

Les problèmes majeurs que nous avons eus à résoudre furent :

- la confusion entre Simaba multiflora et S. cuspidata Spruce,
- la détermination de l'un de nos échantillons dénommé en créole "le simarouba mâle),
- la distinction entre S. cuspidata et S. guianensis Aubl. et le statut de cette dernière espèce.

Ces questions seront abordées plus loin en même temps que les espèces concernées.

NOTE

La révision des Simaroubaceae américaines est maintenant prise en charge, dans le cadre du programme "Flore des Guyanes" par W. TOMAS, botaniste au New York Botanical Garden. En ce qui concerne la dénomination des quatre espèces faisant l'objet de ce mémoire et dont l'étude chimique suit, ce chercheur a récemment proposé les modifications suivantes :

- Simaba multiflora J est mis en synonymie avec S. orinocensis, ce dernier nom prenant la priorité ;
- Simaba cuspidata Spruce est mis en synonymie avec S. equianensis Aubl., ce dernier nom prenant la priorité.

A noter que l'auteur maintient la nouvelle espèce S. moretti.

Nous avons adopté - pour le genre Simaba la classification de CRONQUIST - celle de NOOTEBOOM n'étant pas suivie par tous les botanistes (10,11) et pour le genre Picramnia celle proposée par JANSEN-JACOBS (9).

<u>Picrolemma pseudocoffea</u> Ducke	Arch. Jard. Rio IV : 197 et V : 1 44
<u>Quassia amara</u> L.	Sp. Pl. 2 : 553, 1762
<u>S. cuspidata</u> Spruce ex Engl. in Martius 1874 : 212	<u>Quassia cuspidata</u> (Spruce ex Engl.) Nootboom
<u>S. multiflora</u> A. Juss.	Mém. Mus. Par. 12 : tome 27, 1825 <u>Quassia multiflora</u> (A. Juss.) Nootboom <u>Simarouba guianensis</u> var. <u>Schomburgkiana</u> Engl.
<u>S. morettii</u> Feuillet	Candollea 38 : 750, 1983
<u>S. cedron</u> Planch	Lond. J. Bot. 5 : 566, 1846 <u>Quassia cedron</u> (Planch.) Baillon
<u>Simarouba amara</u> Aubl.	Hist. Pl. Guiane. I : 400, 1775 <u>Quassia S.</u> L.f. Suppl. 234, 1781
<u>Picramnia spruceana</u> Engl.	1.c. 238, 1874
<u>Picramnia guianensis</u> (Aubl.) Jansen-Jacobs	comb. nov. in Flora of Surinam Suppl. p. 319, 1979 <u>Tariri guianensis</u> Aubl. Hist. Pl. Gui. Suppl. 37, 1775 et 4 : t. 390, 1775
<u>Picramnia macrostachys</u> Klotzsch ex Engl.	1.c. 238, 1874

TABLEAU 2 : Liste des Simaroubaceae de la Guyane française

III. ASPECTS ETHNOBOTANIQUES

III.1. Principes et méthodes

Les données ethnobotaniques qui suivent concernent les Simaroubacées médicinales de Guyane. Elles sont extraites d'un travail plus vaste, mené durant neuf ans, dans le cadre du programme de l'ORSTOM : Inventaire ethnobotanique et phytochimique de la flore guyanaise.

Au cours de ces années de recherches interdisciplinaires, auxquelles ont participé nos collègues anthropologues et botanistes du Centre ORSTOM de Cayenne, ainsi qu'une ethnolinguiste du CNRS. Une méthodologie de travail sur le terrain a été élaborée et affinée, qui correspond grosso-modo aux normes de l'ethnobotanique moderne et dont nous rappellerons les principaux aspects :

- une étude ethnolinguistique préalable a permis de dégager les concepts de base utilisés par les populations, tant en ce qui touche le milieu naturel qu'en ce qui concerne la description des maladies ;

- face à une flore extrêmement riche et encore partiellement connue, ont été effectuées des collections d'herbiers en compagnie des tradipraticiens ;

- dans la mesure du possible, nous avons observé la préparation des remèdes par les tradipraticiens et leurs modes d'administration.

C'est en définitif plus de 400 plantes médicinales qui ont ainsi été recensées. Elles ont été regroupées dans un ouvrage de synthèse, où sont aussi détaillées les données ethno-géographiques, relatives à la Guyane, nécessaires à la compréhension du savoir et des pratiques traditionnelles relatées.*

 * P. GRENAND, C. MORETTI, H. JACQUEMIN, Pharmacopées traditionnelles en Guyane, créole, wayapi, palikur. A paraître aux éditions de l'ORSTOM, 400 p, 350 réf., 200 illustr.

III.2. Présentation des données

La présentation des données ethnobotaniques nous permettra de préciser certains autres aspects méthodologiques.

. Nom scientifique et description

Seules seront décrites, et de façon succincte, les quatre espèces dont l'étude chimique fait l'objet du chapitre suivant.

Nous avons fait suivre la description de la plante d'observations personnelles, morphologiques, écologiques et sur l'abondance relative de l'espèce en Guyane. Ces indications figurent rarement dans les flores.

. Collections de références

Les échantillons d'herbiers sont la base de référence de notre travail. Ces collections sont déposées soit à l'herbier de l'ORSTOM à Cayenne, soit à celui du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris.

Les échantillons ayant servi à l'étude chimique des quassinoides ont leur numéro suivi du signe *.

. Noms vernaculaires

Nous avons porté une grande attention au relevé exact des noms vernaculaires. Les noms de plantes des langues des populations tribales de Guyane, lesquelles sont toutes non écrites, ont été notés selon les normes de l'Alphabet Phonétique International.

. Etymologie

Elle fournit un matériau ethnolinguistique de première importance quant à la perception et à l'ordonnance du milieu par les sociétés étudiées, livrant de surcroît une foule d'indices qui pourront être utilisés à des fins comparatives par les spécialistes des



FIGURE 1 : Picrolemma pseudocoffea (Moretti 1153)

contacts inter-culturels. La rédaction de ces éléments d'étymologie est largement redevable à Fr. GRENAND, Ethnolinguiste au CNRS, spécialiste des langues wayapi et palikur.

. Emplois

Les données réunies ici sont la transcription du savoir contemporain que nous avons collecté chez les Créoles, les Wayapis et les Palikurs. Nous avons pris soin de les séparer des indications relevées dans la littérature et qui sont reportées dans les Notes bibliographiques.

III.3. Simaroubacées médicinales de la Guyane

. Picrolemma pseudocoffea Ducke

Arbuste non ramifié, haut de 1 à 2 m ; tiges plus ou moins largement creuses. Bractées toujours plus ou moins clavées. Fleurs saumons et parfumées. Les fleurs femelles comportent 10 staminodes dont 5 plus grandes et acuminiées.

Les feuilles sont d'une couleur vert-bouteille, brillantes et fines, les fruits sont rouges à maturité et groupés sur un réceptacle proéminent.

Arbuste abondant dans toute la Basse-Amazonie.

. En Guyane

Nous l'avons rencontré en abondance dans les sous-bois forestiers de la région du bas-Oyapok, sur sols bien drainés. Cette région semble être sa limite d'extension septentrionale. En effet, cette espèce semble absente des autres régions de la Guyane.

. Noms vernaculaires

Créole	: café lane (bas-Oyapok)
Wayapi	: -
Palikur	: tuukamwui
Portugais	: café rana, falsa quina.

. Collections de références

Moretti 1229* ; 1153 ;
Prévost-Grenand 2017.

. Emplois

Dans la région où il croît, cet arbuste est connu pour ses propriétés fébrifuges et antipaludiques. Pour les Créoles, comme pour les Palikur, l'écorce de tige, associée souvent à celle de Fagara rhoïfolia (Rutacées) est préparée en décoction. Le breuvage amer est consommé à raison d'une prise matinale par jour.

Selon les Créoles, trois copeaux macérés dans un peu de rhum constituent un breuvage qui, pris à raison d'un petit verre tous les matins pendant trois jours, est un puissant vermifuge et anti-dysentérique.

. Etymologie

Créole : altération du brésilien café rana, "faux café" en raison de la forme des fruits. Palikur : de tuu "Talisia spp." et Kamwi, "faux" par référence à l'aspect des fruits, Tuukamwi étant aussi employé pour désigner des Talisia et des Toulicia (Sapindacées) non comestibles ; les Palikur précisent parfois tuukamwi nahukeβey, "le tuukamwi remède (contre la) fièvre" pour la présente espèce.

. Notes bibliographiques

Cette espèce fournit les grosses racines ligneuses brun-jaune très amères que l'on vend au Para et jusqu'à Rio de Janeiro, sous le nom de "café-rana", et que l'on a attribuées à tort, jusqu'à ces derniers temps, à la gentianaceae Tachia guianensis Aubl. Cette Gentianacée ne rappelle en rien le caféier. C'est une plante assez rare pour laquelle on ne nous a nulle part indiqué de nom vulgaire (12).

Cette confusion entre P. pseudocoffea et Tachia guianensis se trouve dans plusieurs ouvrages (7,13). Nous avons aussi pu observer en Guyane cette Gentianaceae, rare en effet, sans nom vernaculaire et sans usage apparent, ce qui contraste avec la grande réputation dont jouit le "vrai" café-rana : P. pseudocoffea.

. Simaba cuspidata Spruce = S. cuspidata var. nigrescens Ducke

C'est un petit arbre avec des inflorescences pauciflores. Le gynophore est ici réduit à un disque ovarien (Fig. 2). Les folioles, généralement au nombre de cinq, sont souvent terminées par une pointe échancrée. Le fruit est une petite drupe coriace très amère.

CRONQUIST distingue deux variétés que nous avons d'ailleurs rencontrées en Guyane :

- S. cuspidata var. typica Cronquist avec des folioles longuement acuminiées : Hb : De Granville 2501, G. Cremers 6344, G. Cremers 6686, De Granville 3793 ;
- S. cuspidata var. nigriscens Ducke ex Cronquist avec des folioles obtues : Hb De Granville B 4520, C. Moretti 355*.

Arbrisseau ou arbuste du sous-bois de la forêt primaire, assez rare en Guyane.

. Distinction entre Simaba cuspidata et S. guianensis Aubl.

En nous en tenant à la clef du genre Simaba proposée par CRONQUIST (1944), aucun des échantillons examinés ne correspond à S. guianensis Aubl., les fleurs étant toutes inférieures à 5 mn. Ces deux espèces ne diffèrent que par quelques caractères mineurs. CRONQUIST, tout en remarquant qu'il n'y avait pas de réelles discontinuités entre elles, préféra les maintenir comme des espèces distinctes. Le parallélisme entre les formes variétales nous paraît cependant surprenant.

Dans un travail publié au Brésil, dont nous n'avons pris connaissance que tout récemment, l'auteur, P. CAVALCANTE (14), réunit les 2 espèces, selon le nombre et la forme des feuilles et distingue

trois variétés :

- S. guianensis Aubl. subesp. guianensis cronguist
= S. cuspidata var typica cronguist
- S. guianensis Aubl. subesp. ecaudata cronguist
= S. cuspidata var. nigrescens Ducke
- S. guianensis Aubl. subesp. polyphylla P. Cavalc.
folioles nombreuses (9 à 23) ; variété absente de
Guyane.

. Noms vernaculaires

Créole :
Wayapi : wasakusili
Palikur :
Portugais : cajurana - ce nom désigne dans toute la
Basse-Amazonie plusieurs espèces de
Simaba (14).

. Collections de références

Moretti 838, 1153* ;
Prévost-Grenand 957 ; Grenand 491.

. Emplois

Les Wayãpi considèrent cette plante comme un poison dangereux pour l'Homme et le regroupent avec Bonafousia muelleriana et B. morettii (Apocynacées).

. Etymologie

Wayãpi : de wasaku, "arbre Hura crepitans (Euphorbiacées)" également très toxique et sili "fin, petit".

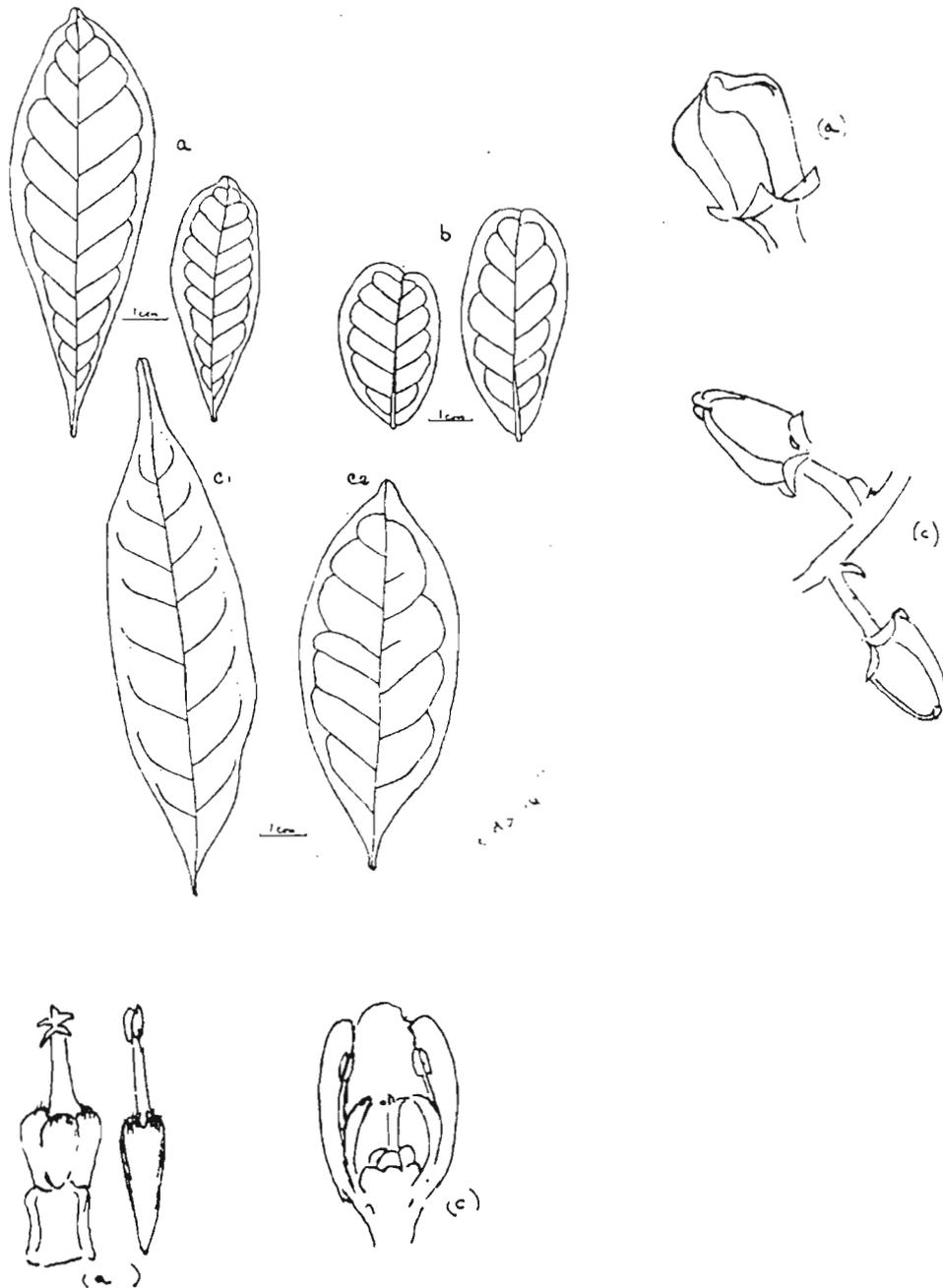


FIGURE 3 : Comparaison des folioles (1), des bourgeons floraux (2) et des gynophores (3) de :

- a : *Simaba multiflora* (Moretti 1027)
- b : *Simaba moretti* sp. nova (Moretti 1027)
- c : *Simaba cuspidata* (Moretti 355).

. Simaba multiflora A. Juss.

Le type de cette espèce est une figure publiée par Adr. JUSSIEU, représentant les différentes parties de la fleur, sans référence à un herbier et sans détails sur l'appareil végétatif.

C'est un arbre pouvant atteindre 15 m, les inflorescences sont amples et portent de nombreuses fleurs. Le gynophore est proéminent (Fig. 3), les boutons floraux globuleux. Le fruit est plus ou moins comprimé, charnu, rouge à maturité. Il est comestible et d'un goût acidulé, contrairement aux fruits des autres espèces de Simaba qui sont très amers. Les feuilles composées portent 5 à 7 folioles sub-opposées, obovales, oblancéolées. Cette espèce présente une assez grande variation dans les formes foliaires et une division en variétés a été envisagée par certains auteurs (5). Cependant, les exemplaires examinés récoltés en Guyane portent tous des folioles de 10 cm environ avec un sommet cuspidé et une base atténuée (Fig. 3). Ces caractères foliaires peuvent permettre de distinguer cette espèce de l'espèce affine S. orinocensis et du Simaba sp. novae. Cet arbre, typiquement ripicole, préfère les terres basses inondables.

Le matériel que nous avons trouvé sous ce nom, tant à Cayenne qu'au M.N.H.N. était très hétérogène, il était mélangé à deux autres espèces : Simaba cuspidata et/ou S. guianensis Aubl.

. Confusion entre S. guianensis et S. multiflora

La confusion entre ces 2 espèces est due à ENGLER qui, dans la Flora Brasiliense de MARTIUS les mit en synonymie. Cette erreur de ENGLER s'explique en partie par les carences des diagnoses des deux espèces. En dépit de la mise au point de SANDWICH (21) rétablissant les deux espèces, cette confusion persiste encore chez certains auteurs et, en conséquence, dans de nombreuses collections.

. Distribution géographique

Amazonie brésilienne, péruvienne, les Guyanes. La répartition de l'espèce est assez diffuse, bien qu'il ne s'agisse pas d'une espèce rare.

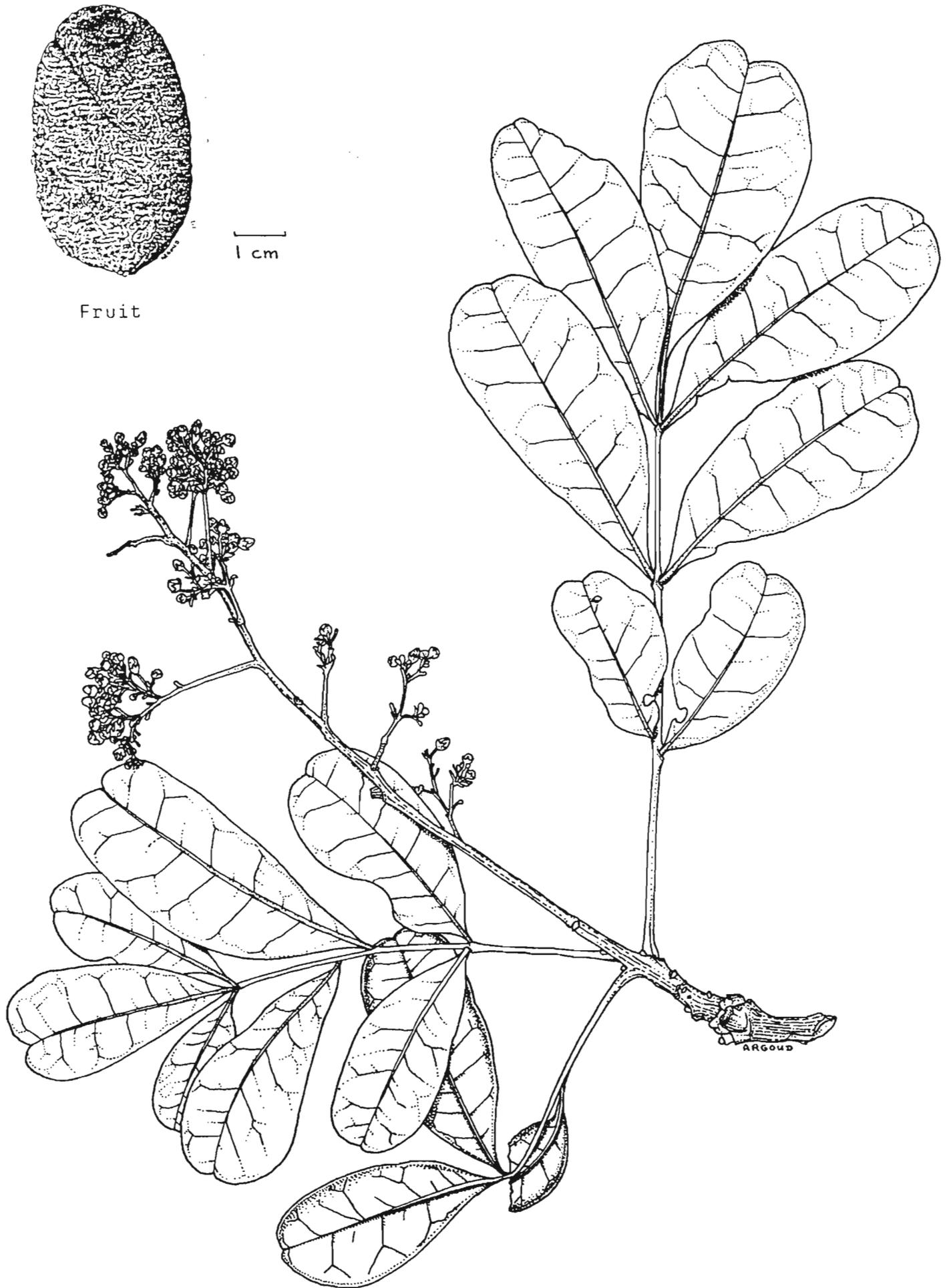


FIGURE 4 : *Simaba morettii*

En Guyane : Arbre moyen, commun le long des berges des cours d'eau, dans l'intérieur de la Guyane.

. Noms vernaculaires

Créole : kanambouli
 Wayapi : sokolo paku akayu
 Palikur : kwepan
 Protugais : cajurana - ce nom désigne dans toute la Basse-Amazone plusieurs espèces de Simaba (14).

. Collections de références

Moretti 1173* ; Grenand 703 ;
 Grenand 1191 ; Jacquemin 2328.

. Emplois

Chez les Wayapi, la décoction de l'écorce de tronc est utilisée en lavages externes contre les maux de tête. Le fruit acidulé est comestible ; les Amérindiens de Haute-Guyane et les Boni s'en servent fréquemment comme appât pour la pêche.

. Simaba morettii C. Feuillet sp. nova

Un grand arbre, à l'écorce très amère, qu'un guérisseur de la région de Sinnamary nous avait montré sous le nom de "Simarouba mâle", retint rapidement notre attention. Les premiers échantillons récoltés étaient stériles. Il fallut attendre trois années pour que fleurisse l'un des pieds que nous avions repéré et marqué, et qui se trouvait, par chance, dans une parcelle où se déroulait un programme d'Ecologie Forestière, sous une surveillance constante d'une équipe de botanistes. L'étude, tant botanique que chimique du matériel récolté montra qu'il s'agissait d'une espèce nouvelle pour la science. Cette espèce a été récemment décrite par notre collègue systématicien C. FEUILLET, qui la nomma S. morettii (15).

Le premier échantillon prélevé était un rejet (Moretti 302) et avait été identifié comme Simaba guianensis Aublet au vu des feuilles juvéniles. D'autres pieds ayant été localisés, des récoltes en bouton (Moretti 1027 et 1027a) présentaient des feuilles différentes et ont été nommées S. cf. orinocensis HBK. Une nouvelle récolte en bouton (Moretti 1275) était identifiée au New York Botanical Garden par D.C. Daly comme S. cf. paraensis Ducke. Cependant, l'étude des fleurs conservées en alcool permet de séparer cette espèce des autres Simaba.

Grand arbre de forêt primaire humide, sur pente, de 25-40 m de hauteur ; tronc droit, lisse, d'environ 1 m de diamètre, des taches de lichen lui donnent un aspect marbré ; écorce amère, granuleuse, intérieurement jaune, exsudant quelques heures après l'incision une résine brune, abondante et très amère. Feuilles alternes composées imparipennées, 15-20 cm de longueur ; folioles 7-11, subcoriaces, subsessiles, alternes ou opposées sur le même rameau, obovales, apex largement obtus ou émarginé, base cunée, 3,5 à 9 cm de longueur et 1,5 à 3,5 cm de largeur. Inflorescence tomenteuse en panicule terminal, jusqu'à 17 cm de longueur ; bractées et bractéoles oblongues tomenteuses. Fleurs complètes, blanchâtres, 4-5 mètres. Pétales tomenteux, longuement elliptiques, environ 12 mm de longueur et 3 mm de largeur. Etamines obdiplostémones ; filet 6,5 mm de longueur glabre ; écaille velue, étroite, pointue, 4,5 mm de longueur, soudée au filet sur la moitié de sa longueur ; anthères ovoïdes, dorsifixes, introrses, à déhiscence longitudinale. Disque 1-1,5 mm de hauteur, tomenteux, légèrement lobé, portant les carpelles. Gynécée tomenteux, subsphérique, légèrement 5-lobé, à carpelles cohérents, à peine soudés, attachés au disque par 5 sutures non jointives ; stigmate 5-lobé. Fruits : 1-5 drupes oranges, charnues, molles à subcoriaces, densément verruqueuses et densément couvertes de poils très courts comme par un velours, oblongues, environ 5 cm de longueur et 3 cm de largeur, renfermant une résine orange très collante et amère ; un noyau oblong, irrégulier, gris brun, environ 4 cm x 2 cm, dans un mésocarpe poisseux et fibreux, très odorant. Graine irrégulière, 2,5 cm de longueur, 1 cm de largeur.

Les dimensions de la fleur et la présence de canaux résinifères font de ce Simaba un membre de la section Floribundae Engl.

. Emplois

Les écorces très amères de ce grand arbre sont employées par les Créoles comme celles de Simarouba amara, c'est-à-dire comme vermifuge et antipaludique. La macération dans le rhum calmerait les douleurs dentaires.

. Etymologie

Créole : Simarouba mâle, de "Simarouba", autre arbre de la même famille (Cf Simarouba amara) et "mâle" en raison de son port altier et de sa grandeur exceptionnelle pour le genre.

. Simaba cedron Planch.

D'origine amazonienne, cette espèce est maintenant largement cultivée dans l'Amérique Tropicale.

En Guyane : Contrairement aux régions d'Amérique Centrale, où cette espèce semble largement cultivée, en Guyane, elle n'est pas très abondante et ne se rencontre qu'en forêt primaire. Cet arbre monocaule se reconnaît aisément à son tronc droit et à ses grandes feuilles composées, groupées à l'extrémité de l'axe principal.

. Noms vernaculaires

Créole

Palikur : timaaßain purubumnak

Boni : wan ede

Portugais : pau para tudo, serve para tudo.

. Collections de référence

Moretti 1120, Grenand 1911.

. Emplois

Certains Créoles emploient les racines de cet arbre aux mêmes fins que celles de Simarouba amara, c'est-à-dire comme vermifuge, antipaludique et tonique amer.

Noms vernaculaires	Pays	Organes	Usages
<u>Quassia amara</u> L.			
Folha de quina	Brésil Amazonie		abortif, fébrifuge (17)
Cuasia	Brésil	feuilles	tonique, antipaludique fébrifuge (18)
Cuasia	Colombie	bois de tiges	tonique, antipaludique (19)
Guabo amargo Guavita a. Guavito	Panama	bois de tiges	insecticide, morsures de serpents, fébrifuge (10)

<u>Simaba cedron</u> Pl.			
Pau para tudo	Brésil	graines	remède indigène contre rage, morsures de serpents, fièvre, diarrhée (20)
cedron	Amérique tropicale	graines	remède indigène contre rage, morsures de serpents, fièvre (22)
cedron	Colombie	fruits	antispasmodique, fièvre, paludisme (19)

TABEAU 3 : Autres usages signalés dans la littérature

Les Palikur préparent avec l'écorce une décoction utilisée en bains pour soigner des éruptions cutanées d'origines diverses. Pour favoriser l'accouchement, on place sous la moustiquaire de la parturiente une décoction fumante de la même écorce ; enfin, la même préparation réputée très amère est bue contre les fièvres palustres.

. Etymologie

Palikur : de timaabain, "support de la râpe à manioc", nom de l'arbre Simarouba amara et puribumak, "à grandes feuilles".

Créole : emprunt au boni wan ede (wan : "une" et ede : "tête", en raison du port de l'arbre).

. Notes bibliographiques

Il nous paraît intéressant de reproduire ici ce qu'écrivait LECOINTE (16) à propos de cette espèce :

"En Guyane Française, on dit merveilles de ses propriétés thérapeutiques. Contre les morsures de serpents, les amandes seraient d'un effet infailible ; on fait macérer, dans 4 cuillerées d'eau de vie, la pulpe de 5 à 6 amandes et l'on donne à boire au malade la moitié du liquide, tandis qu'avec le reste on maintient mouillé un linge appliqué sur la morsure. La convalescence est très rapide".

Selon ce même auteur, les amandes seraient andidysentériques. Ce serait un antipaludique "plus efficace que la quinine".

Nous avons résumé sous forme de tableau les autres usages relevés dans la littérature, en précisant les noms vernaculaires, le pays concerné et, éventuellement les parties de la plante utilisées (Tableau 3).

. Quassia amara L.

Espèce cultivée dans toute l'Amérique tropicale. Pour ce qui concerne l'origine de cette espèce, voir les notes bibliographiques.

En Guyane : Petit arbre des forêts secondaires du littoral, il est parfois cultivé dans les jardins.

. Collections de référence

Moretti 181 ; Jacquemin 2242 ; Grenand 2118.

. Noms vernaculaires

Créole : couachi ; quinquina de Cayenne

Wayãpi : -

Palikur : kwaʃan

Portugais : quina-de-caiena.

. Emplois

Cet arbuste est bien connu des Créoles qui lui attribuent des propriétés fébrifuges, toniques amères, vermifuges. Il nous a aussi été donné comme cholagogue. Cette drogue se prend en infusion. On absorbe aussi comme vermifuge la macération de l'écorce de tige dans le rhum. Les feuilles frottées ont la réputation d'être un répulsif contre les moustiques.

Les Palikur se servent de l'écorce et des feuilles pour préparer une décoction très amère utilisée en bains, non seulement pour éloigner divers parasites, mais aussi pour se débarrasser d'eux, en particulier les poux d'agoutis.

. Etymologie

Créole et Palikur : de couachi et kwa, "koati" (Nasua nasua) et ʃan, "plante". L'association de la plante à l'animal est sans doute due à la couleur rouge des fleurs de l'un et au pelage rouge roux de l'autre. Créole : Quinquina de Cayenne, appellation due à son amertume et à son emploi comme fébrifuge, tout comme le quinquina.

. Notes bibliographiques

Selon DESCOURTIZ (23), cet arbrisseau serait commun dans les forêts du Surinam, d'où il a été transporté aux Antilles. "On le regarde comme un puissant antiseptique" et efficace "contre les fièvres intermittentes qui ont résisté à l'emploi du quinquina" ; selon cet auteur, c'est aussi un excellent vermifuge.

Un autre témoignage intéressant est celui de M. de la BORDE, médecin à Cayenne, parti dans l'intérieur des terres de la Guyane à la recherche, par ordre du roi, de cet arbre (C.R. de l'Académie Royale de Médecine, 1772).

"L'Auteur ne put parvenir à découvrir dans son voyage le Quassia ; mais il nous apprend dans son Mémoire, qu'on a transporté dans l'île de Cayenne plusieurs jeunes plants de cet arbrisseau ; qu'ils y ont bien réussi ; que vers la fin 1772 ils avoient déjà fleuri & fructifié ;"

Même si l'on se réfère aux sources les plus anciennes, le Quassia paraît toujours cultivé ou entretenu, ce qui témoigne d'une domestication fort ancienne de cette espèce par les amérindiens. Les témoignages ci-dessus montrent aussi que cette espèce a été introduite en Guyane.

Serait considéré comme alexitère au Panama (10). Le bois infusé dans l'alcool serait utilisé comme fébrifuge dans ce même pays. Pour d'autres usages, se reporter au tableau 3.

. Simarouba amara Aubl.

NOOTEBOOM (1962) mit cette espèce en synonymie avec l'espèce plus nordique, S. glauca D.C., sous le nom de Quassia multiflora L.F. Mais FORSTER (10) et CRONQUIST (5) maintiennent ces deux espèces distinctes.

. Distribution géographique

Brésil, Bolivie, Amérique Centrale, Petites Antilles (10).

En Guyane : arbre moyen à grand, typique des vieilles forêts secondaires.

. Noms vernaculaires

Créole : simarouba
 Wayãpi : iwẽ?i
 Palikur : timaaßain
 Portugais : marupa.

. Collections de références

Grenand 535 ; Jacquemin 1428 ; Moretti 1340.

. Emplois

Cet arbre est bien connu des Créoles. La macération des écorces très amères, dans le rhum (tafia), est prise comme tonique amer, antipaludique et antidysentérique. Les Palikur en font le même usage mais lui préfèrent en décoction dans l'eau comme antipaludique, Simaba cedron.

. Etymologie

Créole : Simarouba, du galibi (karib) asumaipa, désignant la même espèce. Wayapi : de iwesc, "râpe à manioc", et i, "arbre" ; "arbre pour les rapés à manioc". Palikur : de timaa, "râpe à manioc", et aßain, "lieu de" ; "ce sur quoi on fait les rapés à manioc". Ces deux appellations font référence à l'excellence de ce bois pour y enchasser des éclats de roche ou des fragments métalliques afin de fabriquer des rapés à manioc.

. Notes bibliographiques

L'écorce de racine est tonique, amère et antidysentérique. "Pour l'obtenir, après avoir fait de larges incisions sur la racine, on bat cette écorce jusqu'à ce qu'elle se détache elle-même, en ayant soin d'éviter le suc laiteux, âcre et corrosif, qui jaillit de tous côtés pendant ce travail" (24).

Selon DESCOURTILZ (23), l'écorce de cet arbre fut, dès 1713, introduite en Europe, "envoyée par les habitants de Cayenne et de la Guiane qui l'employaient comme le spécifique des flux dysenté-

riques". Elle aurait été employée avec succès par Antoine de JUSSIEU dans la grande épidémie qui se déclara en 1718. Quoique l'écorce des racines soit généralement plus estimée, on se sert néanmoins de l'écorce de l'arbre et de son bois rapé, mais à double dose. L'auteur fournit aussi de nombreuses précisions sur les préparations de cette drogue.

IV. GLOSSAIRE BOTANIQUE

Acuminée	: Extrémité (*) étroite et allongée, terminée par une pointe
Clavée	: En forme de massue
Cuné	: Base rétrécie (*) en forme de coin
Disque	: Excroissance du réceptacle floral
Drupe	: Fruit charnu contenant une graine
Emarginée	: A sommet légèrement échancré
Foliole	: Élément d'une feuille composée
Gynophore	: Allongement du réceptacle entre l'androcée et l'ovaire
Imparipennée	: Feuilles composées pennées avec nombre impair de folioles
Introrse	: Anthères tournées vers le centre de la fleur
Obdiplostémone	: Etamines rangées sur deux verticilles, les plus externes opposés aux pétales
Oblancéolé	: Forme obovale étroite
Obovale	: En forme d'un œuf renversé, la partie large vers le haut
Pubérulent	: couvert de poils mous et courts
Staminode	: Etamine imparfaite, sans pollen fertile
Sub	: Préfixe signifiant quasi, presque
Tomenteux	: Couvert de poils nombreux
Verticille	: Disposé en cercle

(*) : de la feuille par exemple.

IV. BIBLIOGRAPHIE BOTANIQUE

- 1a. ENGLER A.,
Simaroubaceae in Martius Flora Brasiliensis. Munchen 12, 198-248, 1874.
- b. ENGLER A., PRANTL,
Simaroubaceae in Die Naturlichen Pflanzenfamillien 19 : 359-405, 1931.
2. WILLIS,
A Dictionary of the Flowering Plants and Ferns. 7th ed., Cambridge Univ. Press., Cambridge, 1973.
3. AUBLET F.,
Histoire des Plantes de la Guyane Française. 1775, reprint J. Cramer, Vaduz, 1977.
4. PLANCHON J.E.,
Revue de la Famille Simaroubacée in Hooker. Jour. Bot. 5 : 560-67, 1846.
5. CRONQUIST A.,
Studies in the Simaroubaceae. III The genus Simaba, Lloydia 7 : 81-62, 1944 :
Resume of the American genera. Brittonia 5 : 128-147, 1944.
5. CRONQUIST A.,
Additional notes on the Simaroubaceae. Brittonia 5 : 469-470, 1945.
6. NOOTEBOOM H.P.,
Generic delimitation in Simaroubaceae, tribus Simaroubaceae.
Blumea 11 : 511-28, 1962.
7. LEMEE A.,
Flore de la Guyane Française. Paul Le Chevallier édit., 1954.
8. FOURNET J.,
Flore illustrée de Guadeloupe et de Martinique. INRA édit. Paris, 1978.
9. JANSEN JACOBS J.M.,
In Flora of Surinam. Van Eedenfonds, Netherlands, 1979.
10. PORTER D.M.,
Flora of Panama. Ann. Missouri Bot. Gard., 60 : 23-39, 1973.
12. DUCKE A.,
Plantes nouvelles ou peu connues de la région amazonienne,
Arq. Jard. Bot. Rio de Janeiro, 4 : 195-198, 1925.

13. PENNA M.,
Dicionario brasileiro de plantas medicinais. 3 ed. Kosmos Rio de Janeiro, 1946.
14. CAVALCANTE P.B.,
Revisao taxonomica do genero Simaba Aubl. (Simaroubaceae) na America do Sul. Publicacoes Avulsas do Museu Goeldi, 1983.
15. FEUILLET C.,
Etudes sur les Simaroubaceae II. Un Simaba nouveau de Guyane française dans la section Floribondae Engl. : *S. morettii*, Candollea, 38 : 745, 1983.
16. LECOINTE P.,
L'Amazonie Brésilienne, T. I et II, Edit. A. Challamel Paris, 1922.
17. FURTADO G.F., de SOUZA R.C., VAN DEN BERG M.E.,
Notas sobre uso terapeutico de plantas pela populacao cabocla de Marapanim, Para,
Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi, 70 : 1-31, 1978.
18. VAN DEN BERG M.E.,
Plantas Mediciniais na Amazonia. Contribuicao au seu conhecimento sistematico. Museu Paraense Emilio Goeldi Belem, 1982.
19. GARCIA BARRIGA H.,
Flora Medicinal de Colombia. Imprenta Nacional, Bogota, 1974.
20. BALBACH A.,
A Flora National na medicina domestica 9e edit. : A. edificacao do lar Sao Paulo, 1973.
21. SANDWITH N.Y.,
Notes on Trinidad Plants Kew Bull., 79-81, 1929.
22. PERROT F.,
Matières Premières usuelles du Règne Végétal. Masson Edit., Paris, 2 Tomes 1943-1944.
23. DESCOURTILZ M.E.,
Flore pittoresque et Médicale des Antilles, Paris, 1827 ;
Fac-similé : Edit. Courtinard, Martinique, 1977.
24. JOUSSET,
Des plantes usuelles de la Guyane Française,
Thèse, Ecole de Pharmacie, Montpellier, 1870.
25. THOMAS W.W.,
Simaba orinocensis, an earlier name for *Simaba multiflora* (Simaroubaceae).
Brittonia, 37 : 190-191, 1985.
26. THOMAS W.W.,
A new species of *Simaba* (Simaroubaceae) from Para, Brasil with a key to the species north of the Amazon river,
Brittonia, 36 : 244-247, 1984.

CHAPITRE 2

Etude des quassinoïdes de quatre Simaroubacées guyanaises :

Picrolemma pseudocoffea Ducke

Simaba cuspidata Spruce

Simaba multiflora Juss.

Simaba morettii Feuillet (sp. nov.)

I N T R O D U C T I O N

Les observations ethnobotaniques que nous avons relevées en Guyane ont montré que les Simaroubaceae étaient largement utilisées dans la médecine locale. Nous avons alors cherché à approfondir l'étude des principes actifs de ces plantes.

Pour ce faire, nous avons commencé notre travail par la réalisation de tests chimiques préliminaires permettant de déceler la présence de divers types de substances naturelles.

Nous avons poursuivi par l'analyse de la composition en quassinoides - principes amers des Simaroubaceae - des différents organes de 4 espèces guyanaises non encore étudiées :

- . Picrolemma pseudocoffea Ducke : écorces de racines, écorces de tiges ; feuilles, fruits.
- . Simaba cuspidata Spruce : écorces de racines.
- . Simaba multiflora Jussieu : écorces de racines ; écorces de tiges ; fruits.
- . Simaba morettii Feuillet : écorces de racines, fruits.

La détermination de la structure des quassinoides isolés a été menée sous la conduite de Madame POLONSKY, essentiellement lors de deux séjours que nous avons passés dans son laboratoire.

I. TESTS CHIMIQUES PRELIMINAIRES

Les tests chimiques ont été réalisés en suivant le protocole qui est maintenant couramment utilisé au Laboratoire des Plantes Médicinales du centre ORSTOM de Cayenne (8).

Ils permettent de détecter la présence, dans les différents organes testés, d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de tanins, de quino- nes, d'iridoïdes, de stéroïdes et de saponines.

. Expression des résultats

Nous avons regroupé les résultats de nos tests chimiques dans l'ordre alphabétique des noms de plante (Tableau I.1).

La première colonne des tableaux renferme les numéros de références des herbiers qui ont été prélevés en même temps que les échantillons destinés aux tests chimiques.

La colonne qui suit celle des noms scientifiques désigne les organes des plantes qui ont été examinés. Le code des abréviations est le suivant :

B : bois,
 E : écorces,
 Frt : fruits,
 Gr : graines,
 Pér : péricarpe
 R : racines,
 T : tiges.

Les indications mentionnées dans les colonnes qui suivent indiquent l'importance des réactions obtenues pour chacun des groupes

de substances figurant en tête de tableau. La notation est la suivante :

- ± : réaction très faible ou douteuse, à la limite de la perception,
- + : réaction nette mais faible,
- ++ : réaction très franche,
- +++ : réaction intense.

Dans la colonne des quinones, les réactions positives surmontent parfois une seconde indication précédée des lettres BC. Il s'agit du résultat obtenu avec la réaction de Brissemoret et Combes.

Dans la colonne des pigments flavoniques, les lettres inscrites en dessous de certains résultats positifs sont des initiales des génines identifiées par chromatographie : kaempférol, myricétol ou quercétol.

La dernière colonne du tableau regroupe diverses observations ainsi que les rendements en alcaloïdes totaux (AT) lorsque ceux-ci ont été extraits.

. Résultats des tests chimiques

Les tests chimiques mettent en lumière plusieurs caractéristiques chimiotoxonomiques :

1. Les alcaloïdes sont présents dans les écorces de troncs et de racines des espèces des genres Simaba (exception S. cedron) et Picrolemma.

Les alcaloïdes totaux, extraits selon le protocole utilisé habituellement au laboratoire (8), sont obtenus avec de faibles rendements (0,03 à 0,04%). Les alcaloïdes réagissent avec les réactifs des alcaloïdes indoliques (para-diméthylaminobenzaldéhyde).

Les alcaloïdes isolés jusqu'à présent des Simaroubaceae sont tous du type canthine-one (6).

2. Les infusés préparés avec ces mêmes espèces sont amers, ce qui suggère la présence de quassinoïdes dont l'étude chimique fait l'objet des paragraphes suivants.

3. Le genre Picramnia se distingue des autres genres par l'absence d'alcaloïde, et d'amertume dans l'infusé, et donc probablement de quassinoïde (Cf § III). En revanche, les espèces testées renferment toutes des quinones.

Réf.	Nom de la plante	OP	Alcaloïdes		Quin.	Sap.	Stérols ou terpen.	Flavanes et tanins	Pig. flavoniq.	Observations
			Mayer	Drag.						
CM 1399	<i>Picramnia pentandra</i> ^a	ER	0	0	+++ BC±	+	0	0	0	amertume : 0
CM 1399	" "	Frt	0	0	+++ BC0	0	±	0	0	amertume +
Gr 2100	<i>Picramnia guianensis</i>	F	0	0	++ BC0	+	0	0	0	amertume : 0
Gr 2100	" "	T	0	0	++ BC0	+	0	0	0	
CM 1241	<i>Picramnia macrostachys</i>	F	0	0	++ BC0	+	0	0	0	
CM 1241	" "	ET	0	0	++ BC0	+++	0	++	0	tanins condensés amertume : 0
CM 1241	" "	ER	0	0	++ BC0	+++	0	++	0	tanins condensés amertume : 0
CM 1241	" "	Frt	±	±	++ BC++	0	0	0	0	
	<i>Picramnia spruceana</i>	F	0	0	++ BC0	+	0	++	0	tanins condensés amertume : 0
	" "	ER	0	0	++ BC±	++	0	0	+	

a : Cette espèce n'est pas de Guyane ; récoltée en Guadeloupe.

Réf.	Simarubacées	OP	Alcaloïdes		Quin.	Sap.	Stérols ou terpen.	Flavanes et tanins	Pig. flavoniq.	Observations
			Mayer	Drag.						
CM 1153	<i>Picrolemma pseudocoffea</i>	F	±	±	0	+	0	0	0	infusion amère
CM 1153	" "	ET	++	++	0	+	0	0	0	infusion amère
CM 1153	" "	ER	++	++	0	++	0	0	0	infusion amère
CM 1153	" "	Frt	+	+	0	+	0	0	0	infusion amère
CM 1120	<i>Simaba cedron</i>	F	0	0	0	+	0	0	+ K,Q	
CM 1120	" "	ET	±	±	0	0	0	0	0	infusion amère
CM 1120	" "	BT	±	±	0	0	0	0	0	infusion amère
CM 1120	" "	Frt	0	0	0	++	+	0	0	infusion amère
CM 838	<i>Simaba cuspidata</i>	F	0	0	0	+	0	0	0	
CM 838	" "	ET	+	+	0	+++	0	0	0	infusion amère
CM 838	" "	BT	+	+	0	0	0	0	0	
CM 838	" "	ER	++	++	0	++++	0	0	0	infusion amère

CM 1073	Simaba multiflora	F	0	0	0	+	0	0	++ K,Q	
CM 1073	" "	ET	++	++	0	++	0	0	0	
CM 1073	" "	ER	++	++	0	+++	0	0	0	
CM 1073	" "	Fr _t	0	0	0	+	0	0	0	
CM 1073	" "	BR	+	+	0	+	0	0	0	
CM 1027	Simaba morettii	F	±	±	0	0	0	+	++ K,Q	
CM 1027	" "	ET	++	++	0	0	0	0	0	infusion très amère
CM 1027	" "	ER	++	++	0	0	0	0	0	infus. très amère AT < 0,03%
CM 1027	" "	BT	+	+	0	0	0	0	0	
CM 1027	" "	Gr	±	±	0	0	0	0	0	infusion amère
CM 1027	" "	Per	++	++	0	+	0	0	0	coumarine ?

TABLEAU I.1 : Tests chimiques préliminaires

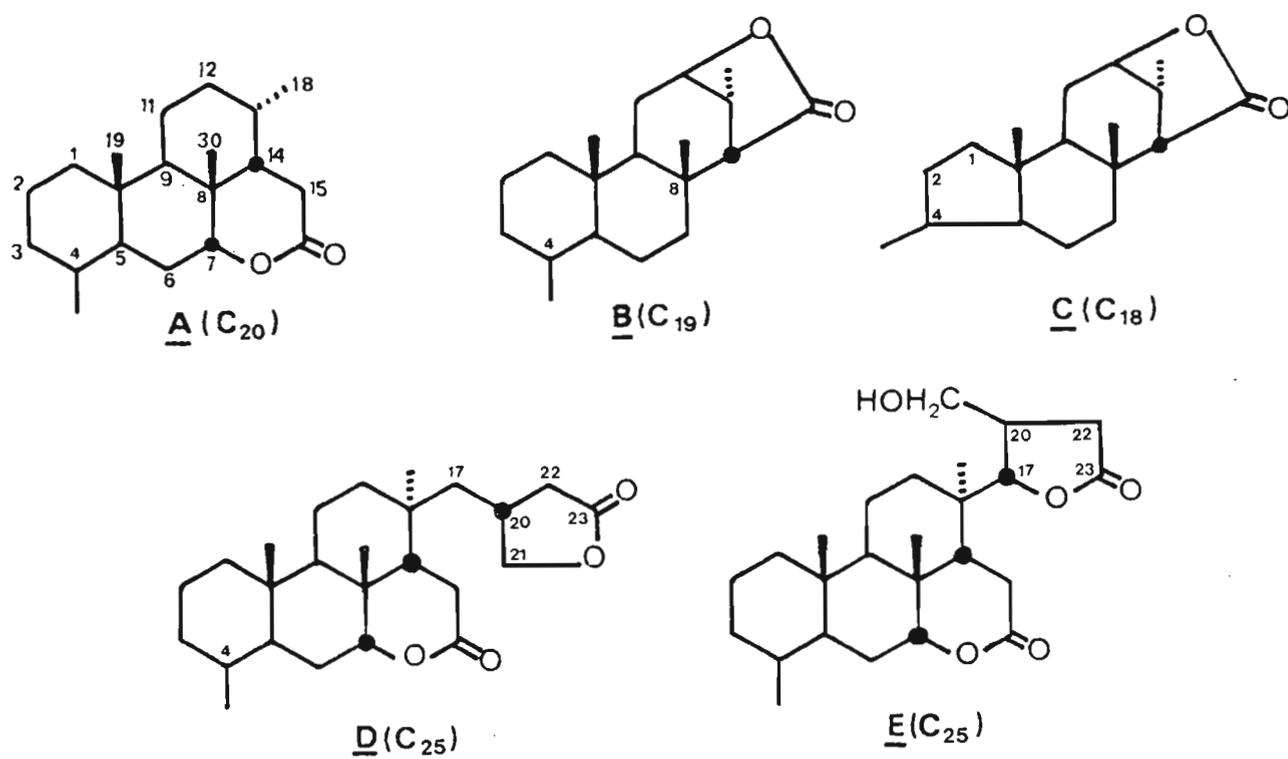


FIGURE II.1. : Squelette de base des quassinoïdes

II. GENERALITES

II.1. Les quassinoïdes. Principes actifs des Simaroubacées

Si plusieurs espèces de cette famille, par exemple, Quassia amara, Picraena excelsa sont connues depuis longtemps pour contenir des principes amers, ce n'est qu'en 1960-1962 que la structure du principal constituant de Quassia amara, la quassine a été déterminée. Par la suite, un grand nombre d'autres principes amers de Simaroubacées ont été isolés de diverses Simaroubacées et leurs structures élucidées. Ils forment une famille de composés naturels qu'on appelle, à cause de leur parenté avec la quassine, des quassinoïdes.

Les quassinoïdes peuvent être divisés en 5 groupes (1), suivant leur squelette de base, représentés dans la figure II.1. La grande majorité des quassinoïdes isolés à ce jour possède le squelette de base en C-20 (A), comme la quassine.

Les quassinoïdes sont des lactones oxygénées (δ -lactones pour les quassinoïdes en C-20 (A), γ -lactones pour ceux en C-18 (C) et C-19 (B), δ et γ -lactones pour les quassinoïdes en C-25 (D et E). Les composés peuvent porter de nombreux groupements oxygénés sur toutes les positions du squelette, à l'exception de C-5, C-9 et des méthyl-4 et méthyl-10.

Tous les quassinoïdes isolés à ce jour n'ont qu'un seul méthyle en position 4.

La détermination de la structure des quassinoïdes fait appel à de nombreuses techniques physicochimiques parmi lesquelles la spectrométrie de masse. La RMN-¹H et la RMN-¹³C occupent une place prépondérante.

Les nombreux substituants oxygénés influent sur les déplacements chimiques des protons en RMN-¹H. Ainsi, les résonances apparaissent-elles pour la plupart dans des régions différentes du spectre, ce qui fait de la RMN-¹H une technique de choix pour l'élucidation de la structure de ce type de composé.

Une revue détaillée, récemment mise à jour, des quassinoides a été réalisée par POLONSKY (1).

II.2. Biosynthèse des quassinoides

Du point de vue biogénétique, les quassinoides peuvent être considérés comme des triterpènes dégradés. L'origine triterpénique des quassinoides a été démontrée expérimentalement par incorporation de mévalonolactone marquée spécifiquement avec ^3H et ^{14}C , dans l'un des quassinoides : la glaucarubinone (2).

Le précurseur triterpénique des quassinoides pourrait être, comme pour les limonoïdes, le Δ^7 -euphol ou le Δ^7 -tirucallol A (Schéma II.1). Ce "prototriterpène" subirait un "apo" réarrangement, via le 7α -époxyde, au cours duquel le méthyle en C-14 migrerait en C-8, ce qui conduirait ainsi au 7α -hydroxyapoeuphol, ce dernier possédant une double liaison en C-14 - C-15 (B, Schéma II.1).

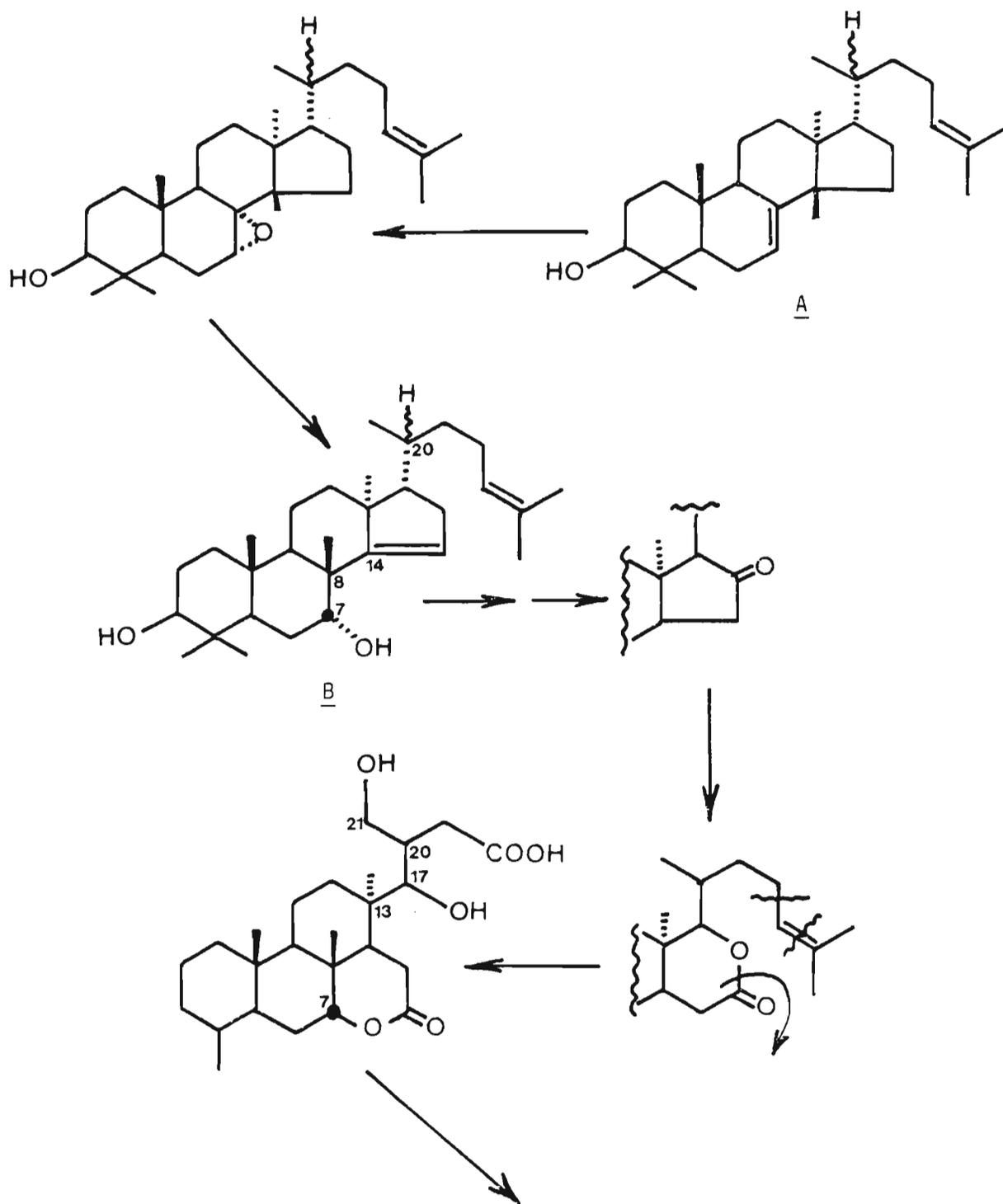
La formation de la δ -lactone du cycle D des quassinoides nécessite, comme dans le cas des limonoïdes des Rutacées, une oxydation du type Bayer-Villiger au niveau du carbonyle en C-16 du triterpène précurseur. Il y aurait ensuite ouverture de la lactone formée et relactonisation en position 7. Un des méthyles en C-4 est éliminé ainsi que 4 atomes de carbones de la chaîne latérale.

La formation de la γ -lactone sur la chaîne latérale des quassinoides en C-25 pourrait se faire de 2 façons :

- une lactonisation avec un groupement hydroxyle en 21 conduirait aux quassinoides en C-25 du type simarolide et picrasine A (Voie A, Schéma II.2) ;

- une lactonisation en C-17 mènerait aux quassinoides en C-25, du type soulaméolide (Voie B, Schéma II.2).

Les 5 quassinoides en C-25, connus à ce jour, ne possèdent pas de groupement hydroxyle en position 12. Ce fait permet de supposer que les quassinoides en C-20 se formeraient à partir d'un intermédiaire en C-25, possédant une fonction oxygénée en C-12 ; une réac-

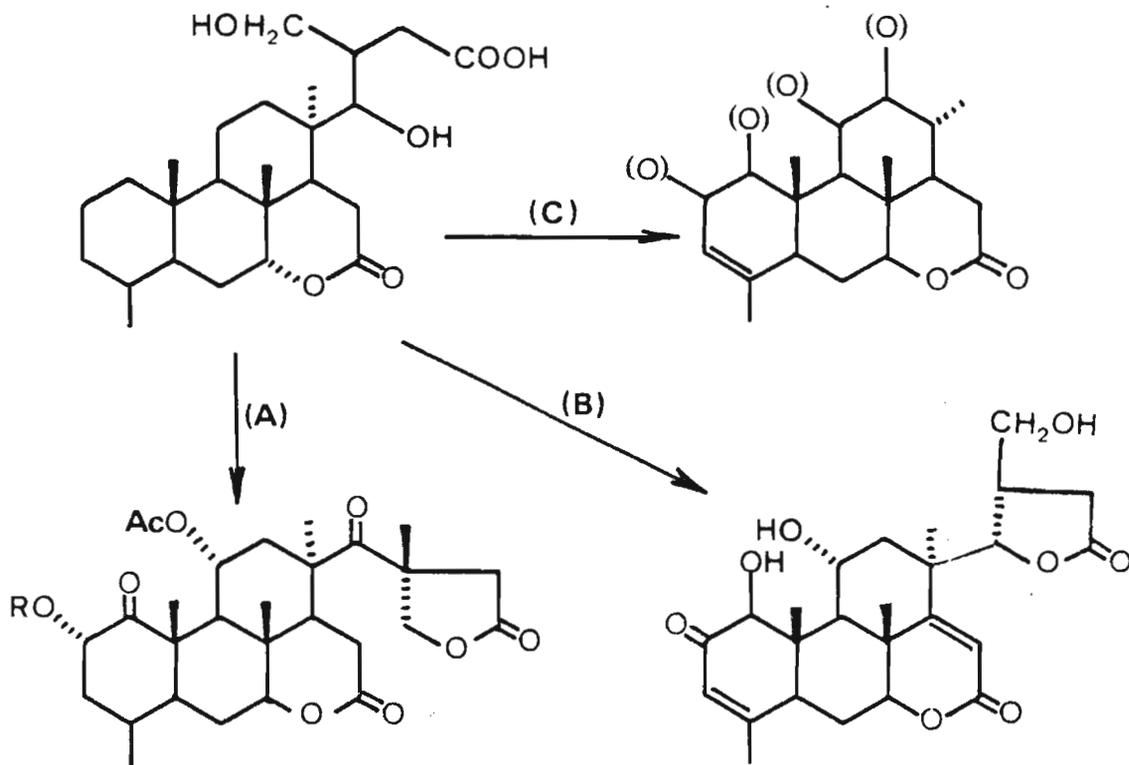


QUASSINOIDES (Schéma II.2)

A : Δ^7 -Euphol ou Δ^7 -Tirucallol
 B : α -Hydroxyapoeuphol

Biosynthèse des quassinoides
 SCHEMA II.1

tion du type rétroaldol conduirait à la rupture de la liaison C-13 - C-17.



Biosynthèse des quassinoïdes en C-25 (A et B), C-20, C-19, C-18

SCHEMA II.2

II.3. Etudes chimiques antérieures sur les Simaroubacées guyanaises

. Quassia amara

Les écorces de tronc renferment principalement deux quassinoides : quassine et néoquassine ainsi que d'autres quassinoides mineurs comme la quassimarine. Alors que ce dernier quassinotide montre une activité antileucémique significative (3), ce n'est pas le cas de la quassine qui possède en revanche d'intéressantes propriétés insecticides (Cf Chapitre III).

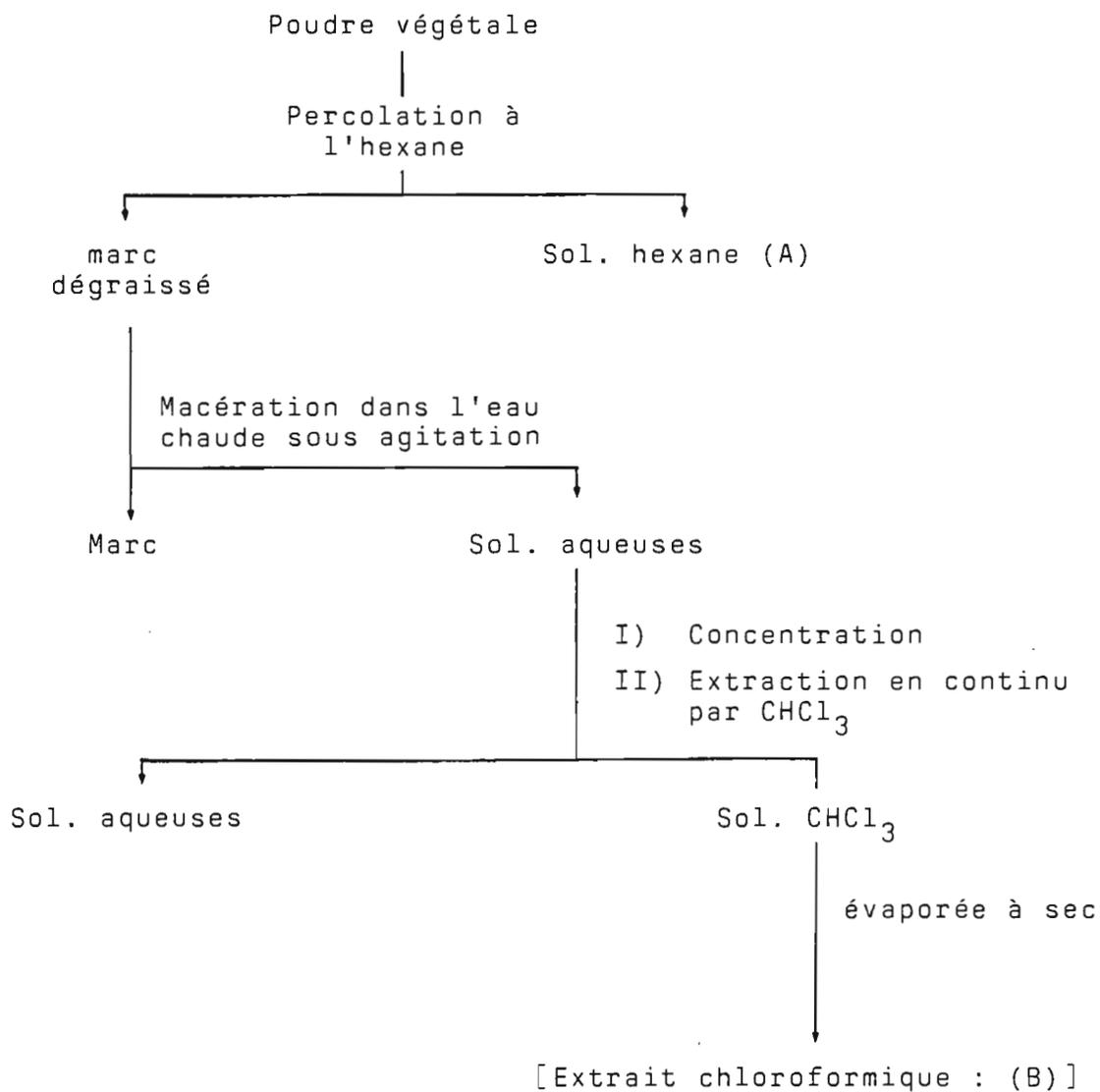
. Simarouba amara Aublet

Cette drogue est aussi inscrite à la Pharmacopée Française. Un quassinotide, le simarolide, a été isolé dès 1964 (1). Récemment, POLONSKY et JACQUEMIN ont repris l'étude de cette drogue et ont isolé deux nouveaux quassinoides : 2'-acétylglaucarubine et 13,18-déhydroglaucarubinone. Ce dernier inhibe de façon significative la leucémie murine lymphocitique P-388. Ont été aussi isolés 4 triterpènes : la mélianone, la 21,20-anhydromélianone, l'oxo-3-tirucalla-7,24-diène et le dioxo-3,21-tirucalla-7,24-diène (4,5).

Cette espèce renferme un nouvel alcaloïde, la 5-hydroxycanthine-6-one (6).

. Simaba cedron Planchon

Des fruits de cette espèce, fort réputés au Brésil comme alexitères, 2 quassinoides, la cédrone et la cédrone, ont été isolés par POLONSKY en 1962 (7).



Extraction des quassinoïdes

SCHEMA III.1

III. EXTRACTION DES QUASSINOÏDES

La partie de la plante, après avoir été broyée, est dégraissée à l'hexane, par percolation (extrait A, Schéma III.1). Le marc est ensuite mis à macérer dans l'eau chaude (60-70°) sous forte agitation ; cette extraction est renouvelée jusqu'à ce que la solution aqueuse ne soit plus amère. Les extraits aqueux réunis sont concentrés sous pression réduite, puis extraits en continu par du chloroforme. On obtient un extrait chloroformique brut (extrait B, Schéma III.1).

Dans le tableau III.1, nous indiquons les rendements des extraits chloroformiques obtenus pour chacune des espèces extraites.

Les écorces de racines sont les organes les plus riches en quassinoïdes. Cependant, compte tenu de la difficulté d'approvisionnement en racines de certaines espèces, il est intéressant de noter que d'autres organes plus accessibles et facilement récoltables renferment aussi des quassinoïdes. Aussi, nous nous sommes attachés à analyser la composition en quassinoïdes de ces différents organes.

On remarquera aussi dans le tableau III.1 le faible rendement obtenu en extrait chloroformique pour les espèces du genre Picramnia.

L'extraction, selon le procédé décrit précédemment, de Picramnia macrostachys et de P. pentandra ne nous a pas permis de mettre en évidence de quassinoïdes dans ces 2 espèces. Par contre, de l'extrait chloroformique obtenu à partir de ces 2 espèces nous avons isolé des anthraquinones, dérivées du chrysophanol, libres et sous forme d'hétérosides (leur étude est en cours).

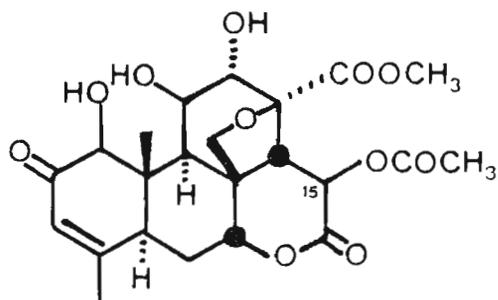
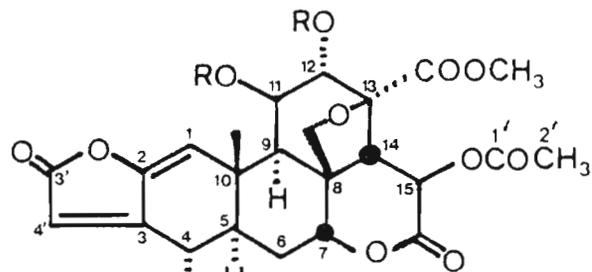
	Organe	Poids (g)	Extrait chloroformique (rendement)	
<i>Picrolemma pseudocoffea</i>	F	585	2,7 g	(0,46%)
	T	2100	6,5 g	(0,3%)
	ER	400	2 g	(0,5%)
	Per	95	0,42 g	(0,4%)
<i>Simaba cuspidata</i>	ET + ER	1400	3 g	(0,2%)
<i>Simaba morettii</i>	ER	1000	7 g	(0,7%)
" "	Per	725	6,4 g	(0,8%)
<i>Simaba multiflora</i>	ET	1000	1,4 g	(0,1%)
" "	ER	1600	2 g	(0,1%)
" "	Frt	1400	3,1 g	(0,2%)
<i>Picramnia spruceana</i>	R	120	0,153 g	(0,01%)
<i>Picramnia pentandra</i> ^a	R	1000	0,870 g	(0,08%)
<i>Picramnia macrostachys</i>	R			
	ET	1800	0,860 mg	(0,04%)

a : Cette espèce ne se trouve pas en Guyane. Elle a été récoltée en Guadeloupe

TABLEAU III.1 : Rendement en extraits chloroformiques pour les espèces étudiées

IV. QUASSINOÏDES DE PICROLEMMA PSEUDOCOFFEA DuckeIV.1. Extraction et isolement des quassinoïdes. Ecorces de racines

Les écorces de racines ont été extraites selon le procédé décrit par ailleurs (§ III, Schéma III). L'extrait chloroformique obtenu est chromatographié sur une colonne d'un mélange d'acide silicique et de célite (4/1), avec comme éluant du chlorure de méthyle contenant des quantités croissantes de méthanol. Cette première chromatographie permet d'isoler le quassinoïde 2a. Celui-ci est cristallisé dans l'acétate d'éthyle. La comparaison sur CCM avec plusieurs quassinoïdes connus montre qu'il s'agit probablement d'un quassinoïde nouveau. Les fractions plus polaires sont rechromatographiées à basse pression sur colonne de gel de silice H-60, puis sur plaques préparatives (gel de silice ; acétate d'éthyle-méthanol, 9/1). On sépare ainsi le sergéolide 2a et un autre quassinoïde, l'isobrucéine B 1. Les deux quassinoïdes sont obtenus à l'état pur par recristallisation, le quassinoïde 1 dans le mélange acétate d'éthyle-méthanol, le quassinoïde 2a dans l'acétone.

12a R=H2b R=Ac

. Feuilles

L'extrait chloroformique, obtenu de la même manière que pour les écorces de racines, à partir des feuilles (extrait B, Schéma III.1) est chromatographié sur une colonne d'un mélange d'acide silicique et de célite (3/1) avec comme éluant du chlorure de méthylène contenant des quantités croissantes de méthanol. Les premières fractions contiennent un mélange des quassinoides 1 et 2a ; on sépare ensuite par ordre de polarité croissante deux autres quassinoides, 3 et 4, qui sont recristallisés, le premier dans le mélange $\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$, le deuxième dans le mélange acétate d'éthyle-méthanol.

. Tiges

L'extrait chloroformique, obtenu selon le même procédé d'extraction que pour les autres organes, est chromatographié dans les mêmes conditions et on isole ainsi les quassinoides 1 et 2a déjà isolés des écorces de racines.

. Péricarpes

L'extrait chloroformique obtenu à partir des péricarpes était insuffisant pour mener à bien l'isolement de ses constituants. Cependant, sa composition semble identique à celle des écorces de racines et comporte en CCM 2 taches de même R_f que le sergéolide et l'isobrucéine B, dans les 2 systèmes de solvant utilisés ($\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$, 9/1) (acétate d'éthyle-MeOH, 9/1).

IV.2. Etude structurale

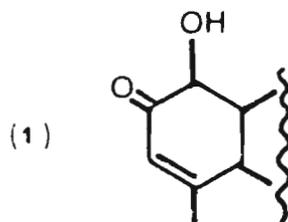
. Quassinolide 1 : Isobrucéine B

. PF : 255-258°C.

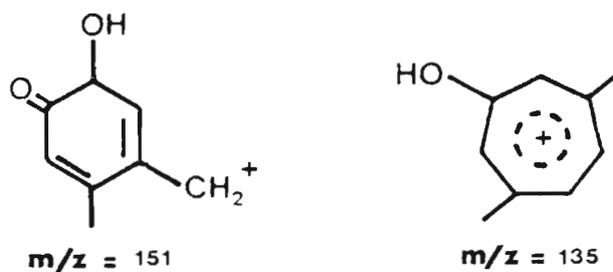
. $[\alpha]_D^{22} = +17^\circ$ (c=1 ; MeOH).

La formule brute de ce composé, $C_{23}H_{28}O_{11}$, a été établie par la spectrométrie de masse (M^+ à m/z 480). On note aussi des fragments importants à m/z 462 (M-18), 438 (M-42, cétène) et à 420 (M-60). Cette fragmentation indique la présence d'un groupement acétyle.

. Le spectre UV, avec un maximum d'absorption à 240 nm correspond à celui d'un groupement céto α,β -insaturé du type 1.



Les fragmentations en spectrométrie de masse à m/z 151 et 135 sont aussi caractéristiques d'un cycle A du type 1 (9).



d'après FOURREY et al. (1968)

. Le spectre IR (nujol) montre des bandes d'absorption à 1750, 1730 et 1660 cm^{-1} attribuables à des carbonyles.

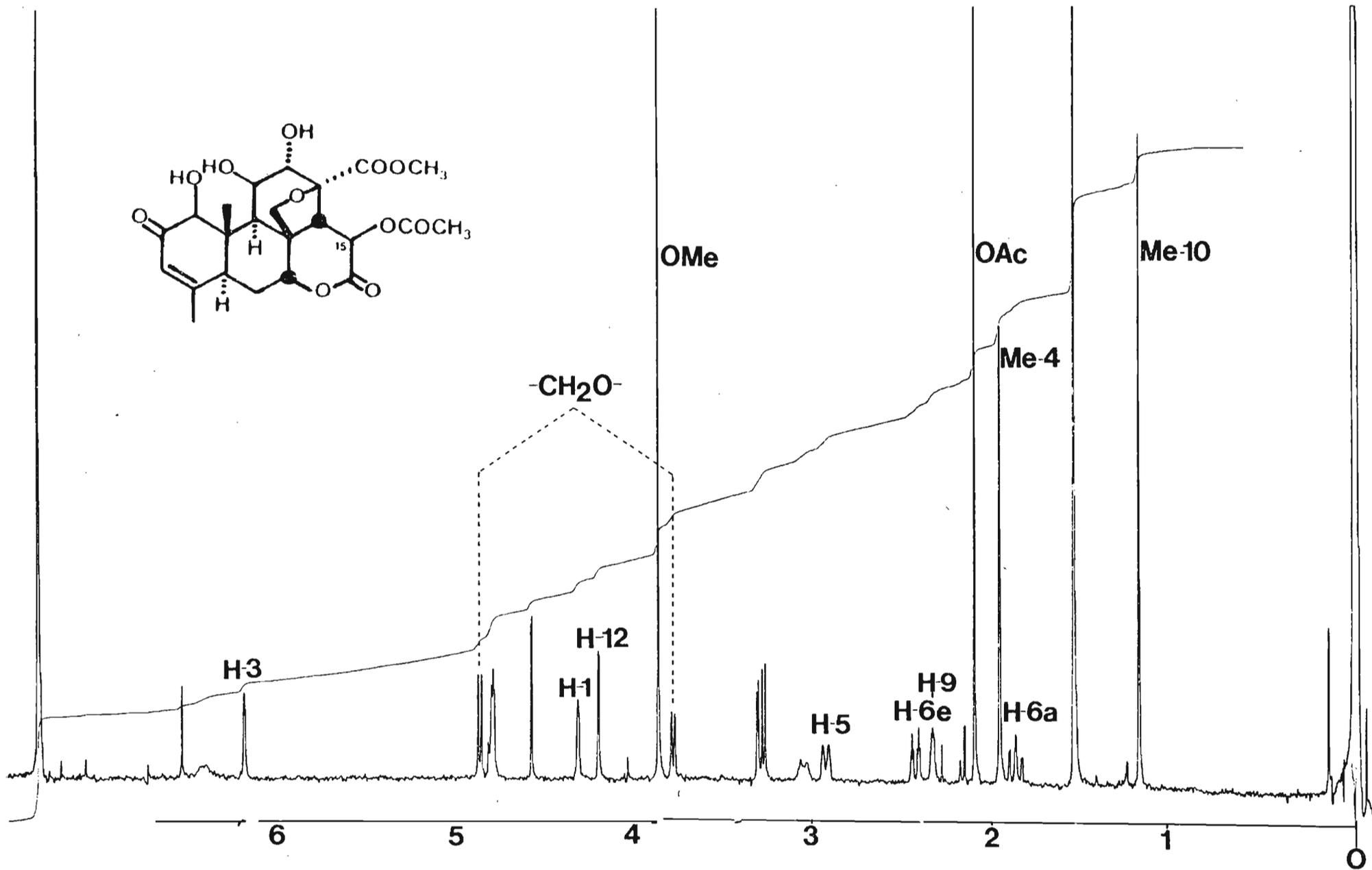


FIGURE IV.1 : Spectre RMN- ^1H de **1**

. RMN -¹H

Le spectre de RMN-¹H à 400 MHz (Fig. IV.1) fournit les indications suivantes :

- absence de méthyle secondaire,
- 2 signaux dus à des méthyles angulaires à 1,20 et 1,95 ppm,
- un système AB, caractéristique du groupement (-CH₂-O-), à 3,75 ppm (dd, J=8 et 1 Hz) et 4,81 ppm (d, J=8 Hz),
- un multiplet à 4,75 ppm, caractéristique du H-7 (1).

On remarque aussi 2 signaux de 3 protons chacun, l'un à 2,08 ppm, pouvant être attribué à (-O-Ac), l'autre vers les champs plus faibles à 3,82 ppm, pouvant être attribué à (O-Me).

L'ensemble de ces éléments structuraux coïncide avec ceux de l'isobrucéine B, isolée de Brucea antidysenterica, et décrite par KUPCHAN et al. (10).

L'ensemble des signaux en RMN-¹H (Tableau IV.1) et la comparaison du spectre RMN-¹³C (Fig. IV.2) avec les spectres des quassinoïdes publiés (11) permettent de conclure à l'identité du quassinoïde 1 et de l'isobrucéine B (Tableau IV.2).

Ne disposant pas d'échantillon témoin, la structure de ce composé a été finalement confirmée par la diffraction aux rayons X.

. Quassinoïde 2a : Sergéolide (pF : 202-206°C)

La formule brute de ce composé, C₂₅H₂₈O₁₁, a été établie par la spectrométrie de masse à haute résolution (M⁺ à 504,1656). Elle ne diffère de celle de l'isobrucéine B que par 2 atomes de carbone supplémentaires.

Le spectre de masse présente comme pour le quassinoïde précédent une fragmentation importante correspondant à la présence d'un groupement acétyle : pics à m/z 486 (M-18), 444 (M-60). On relève aussi les pics à m/z 462 (M-42, cétène) et 426 (M-60-18).

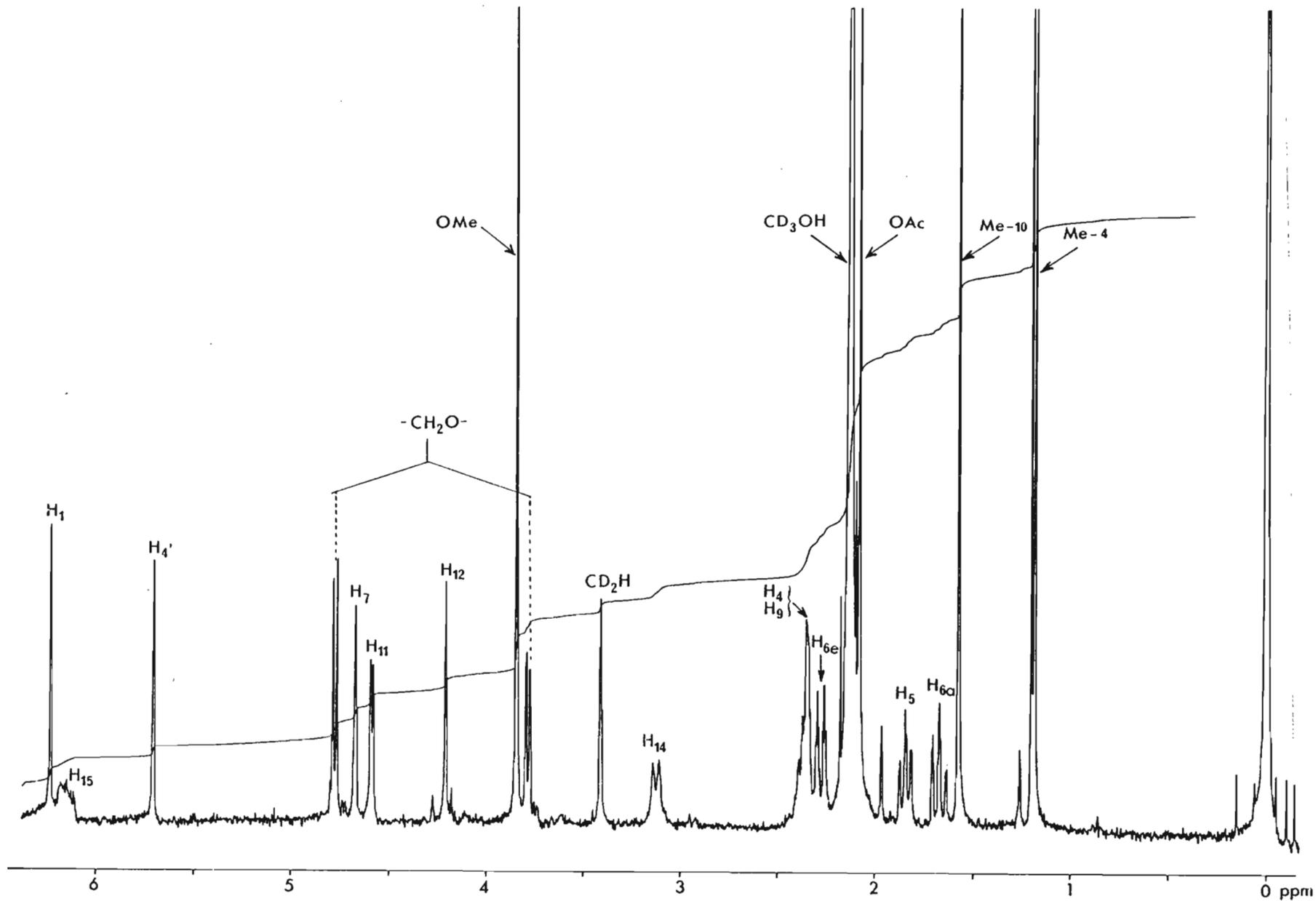


FIGURE IV.3. : Spectre RMN- ^1H à 400 MHz de **2a**

. Le spectre IR (nujol) montre une large bande d'absorption à 1710 cm^{-1} , une bande à 1750 cm^{-1} et une autre à 1770 cm^{-1} , mais on ne trouve pas de bande d'absorption caractéristique d'un système énone comme dans le composé précédent.

. Spectre UV : λ_{max} (éthanol) = 275 nm ($\epsilon = 20790$).

Cette absorption ne correspond pas non plus à un chromophore de type 1 présent dans le quassinoïde 1.

. RMN- ^1H à 400 MHz

Le spectre RMN- ^1H de 2a présente une grande similitude avec celui de l'isobrucéine B (Fig. IV.3). On note en effet la présence d'un système AB à 3,75 (dd) et 4,81 ppm (d), d'un signal correspondant à un groupement (-O-méthyle), à 3,83 ppm, et d'un autre singulet de 3 protons à 2,08 ppm, attribuable à (-OAc). Par contre, on ne retrouve pas dans ce spectre les signaux correspondant aux protons du cycle A de 1. Le spectre comporte aussi un signal à 1,23 ppm (d) (Me-4) et 2 signaux dans les champs faibles à 6,23 ppm (s) et 5,71 ppm (dd, 2,2 Hz) correspondant à des protons vinyliques.

Ces spectres, ainsi que le fait que ce quassinoïde ne diffère du quassinoïde 1 que par 2 atomes de carbone, conduisent à proposer la structure 2a pour ce nouveau quassinoïde, nommé sergéolide. L'analyse détaillée du spectre RMN- ^1H est en accord avec cette structure et de nombreuses expériences de découplage de spin permettent l'attribution de tous les signaux (Tableau IV.1).

La réalisation des spectres à des températures différentes permet de mieux interpréter certains signaux. Ainsi, H-15 apparaît sous forme d'un doublet bien distinct quand le spectre est réalisé à -70°C . De même, pour H-14 qui apparaît à cette température sous forme de 2 signaux à 3,10 ppm ($J=14\text{ Hz}$) et 3,53 ppm ($J=11\text{ Hz}$). Cette variation du spectre RMN- ^1H en fonction de la température montre l'existence de 2 conformations pour le cycle lactonique D (Fig. IV.3').

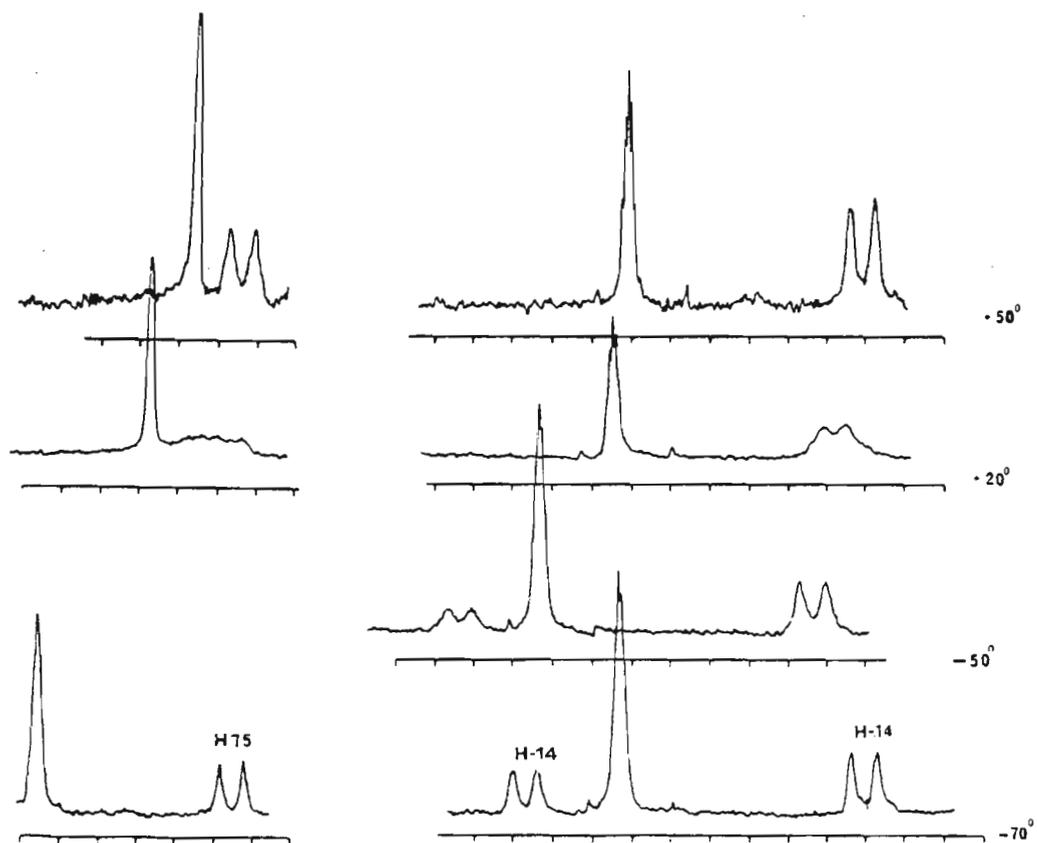


FIGURE IV.3' : Spectre RMN- ^1H de **2a**, réalisé à des températures différentes

	<u>1</u>	<u>2a</u>	<u>2b</u>	<u>3</u>
H-1	4,26 s	6,23 br.s	6,12 s	6,23 br.s
H-3	6,11 br.s			
H-4		2,40		2,38 m
H-4'		5,71 dd (2;2)	5,73 br.s	5,72
H-5	2,91 d (13)	1,85 ddd (13;2;9)		1,80 ddd (13;2;9)
H-6a	1,86 ddd (15;3;13)	1,68 ddd (15;3;2,5)		1,69 ddd (15;2,5;2,5)
H-6e	2,41 ddd (15;3;3)	2,28 ddd (15;2;2)		2,24 ddd (15;2;2)
H-7	4,75 m	4,65 br.s	4,74 br.s	4,63 br.s
H-9	2,38 br.d (5)	2,38 m	2,62 d (3)	2,28 d (5)
H-11	4,75 m	4,57 dd (5;2)	5,58 d (5)	4,54 (5)
H-12	4,12 br.s	4,20 br.s	5,44 br.s	4,17 br.s
H-14	3,03 d (13)	3,12 br.d (13)		2,81 dd (13;2)
H-15	6,30 d (13)	6,17 d (13)	6,05 d (13)	5,16 d (13)
	3,75 dd (8;1)	3,82 dd (8;1)	3,92 d (8)	3,76 dd (8)
-CH ₂ O-	4,81 d (8)	4,78 d (8)	4,81 d (8)	4,75 d (8)
OMe	3,83 s	3,85 s	3,78 s	3,83 s
Me-4	1,95 s	1,23 d (7)	1,23 d (7)	1,18 d (7)
Me-10	1,20 s	1,57 s	1,42 s	1,57 s
OAc	2,08 s	2,10 s	2,06;2,10 2,16	1,57 s

Solvants pour 1 : CDCl₃ ; 2a : CDCl₃-CD₃OD (5%) ; 2b : CDCl₃ ; 3 : CDCl₃+CD₃OD (30%)

TABLEAU IV.1 : RMN-¹H à 400 MHz de 1, 2a, 2b et 3

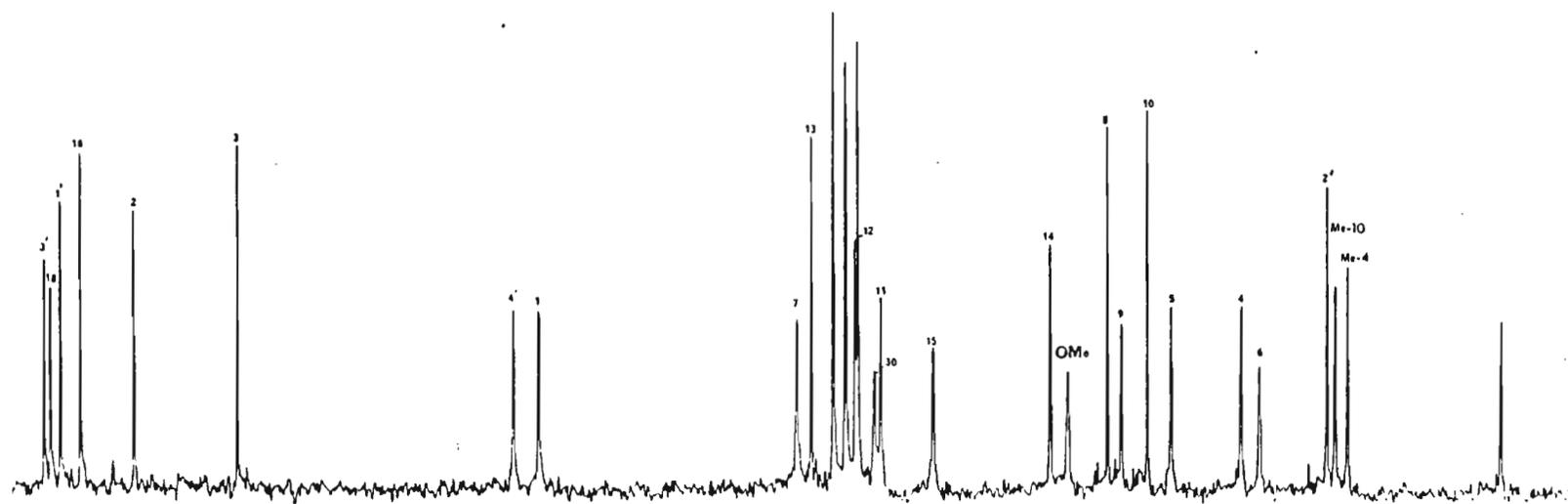
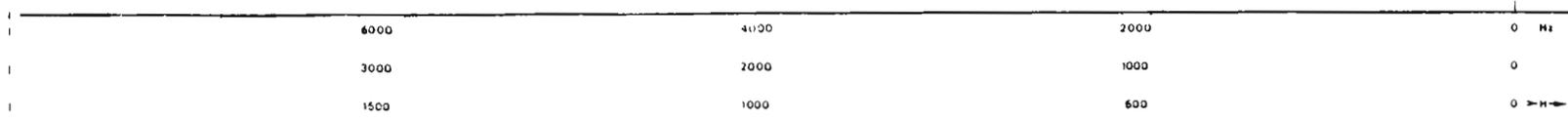


FIGURE IV.4 : RMN-¹³C de 2a

. RMN-¹³C

Le spectre RMN-¹³C confirme la structure 2a proposée. Il comporte 4 signaux dans la région des carbones sp² : 2 singulets à 160,8 et 148,4 ppm et 2 doublets à 113,2 et 161,1 ppm correspondant aux 2 doubles liaisons C-1 - C-2 et C-3 - C-4'. Ce spectre ne comporte pas de signal correspondant à une fonction cétone comme dans le quassinolide 1. On note par contre la présence de signaux attribuables à des lactones à 171,4 et 167,1 ppm, et de 2 autres signaux à 169,4 et 170,9 ppm correspondant aux groupements esters (Tableau IV.2).

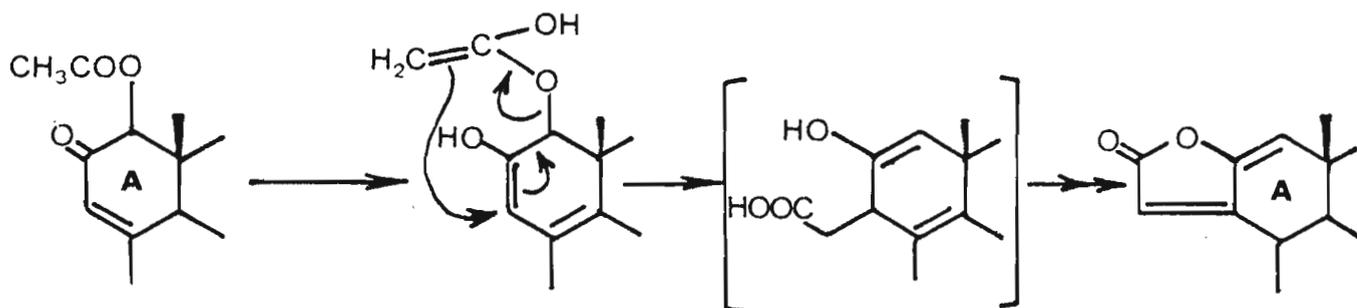
. Acétylation du quassinolide 2a

L'acétylation du quassinolide 2a (Ac₂O-pyr.) conduit au dérivé diacétylé 2b (pF : 210°C°) attendu dont la formule brute C₂₉H₃₂O₁₃ est établie par la spectrométrie de masse (M⁺ à m/z 588).

En RMN-¹H à 250 MHz, on observe, par rapport au spectre du sergéolide, un déplacement des protons H-11 et H-12 vers les champs faibles, avec des signaux à 5,58 (d) et 5,44 ppm (large singulet) (Tableau IV.1).

. Relations biogénétiques entre 1 et 2

La grande similitude structurale du sergéolide 2a avec l'isobrucéine B 1 suggère que le premier dérive du second par l'intermédiaire du dérivé 1-O-acétylé de 1 (a) ; celui-ci subirait un réarrangement du type Claisen, puis, après migration de la double liaison, une lactonisation conduirait au sergéolide.



	Déplacements chimiques de <u>1</u>		Déplacements chimiques de <u>2a</u>	
C-1	81,3	d	113,2	d
C-2	197,6	s	160,8	s
C-3	124,5	d	148,4	s
C-4	162,6	s	30,7	d
C-5	43,4	d	38,8	d
C-6	28,2	t	28,5	t
C-7	81,7	d	82,8	d
C-8	45,8	s	46,4	s
C-9	42,4	d	44,7	d
C-10	47,7	d	41,6	s
C-11	74,3	d	72,9	d
C-12	75,1	d	76,0	d
C-13	81,7	s	81,1	s
C-14	52,3	d	53,1	d
C-15	67,8	d	66,9	d
C-16	167,6	s	167,1	s
C-18	169,5	s	170,9	s
C-30	73,0	t	73,8	t
OMe	49,8	q	51,2	q
Me-4	22,4	q	18,0	q
Me-10	11,3	q	19,4	q
C-1'	170,7	s	169,4	s
C-2'	20,5	q	20,4	q
C-3'			171,4	s
C-4'			116,1	d

TABLEAU IV.2 : RMN-¹³C des quassinoides 1 et 2a (solvants : CDCl₃ et CDCl₃-5% pyridine-d₅) mesurée à 22,63 MHz

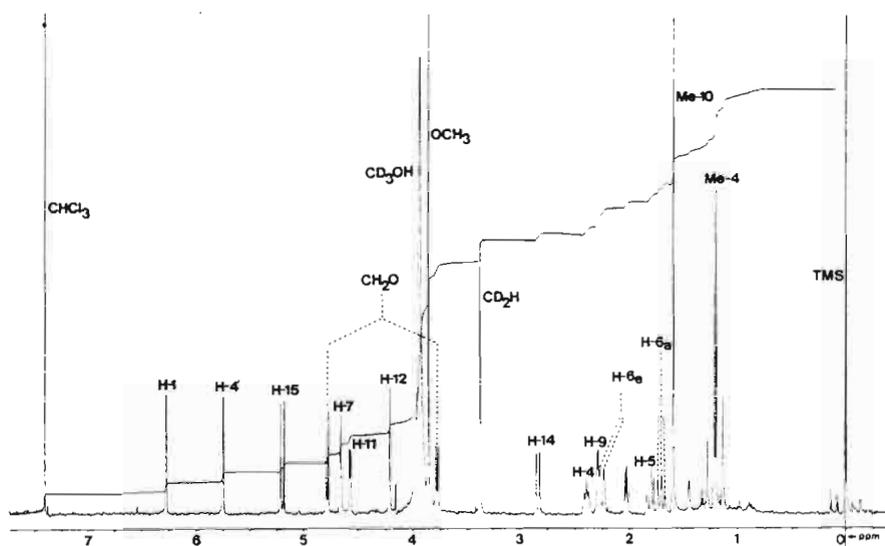
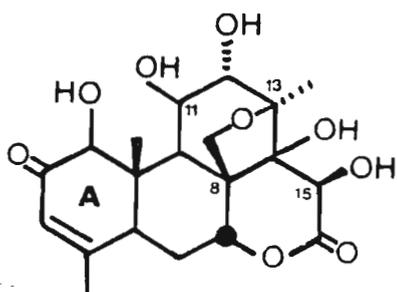
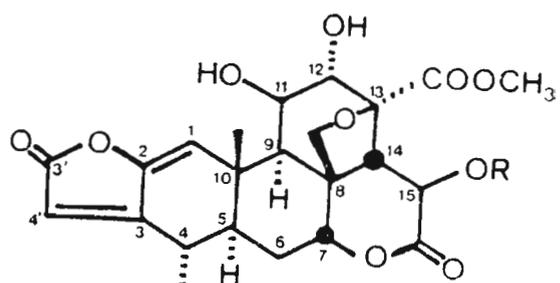


FIGURE IV.5 : RMN-¹H à 400 MHz de 3 (CDCl₃, méthanol-d₄ 30%)



4



2a R=Ac

3 R=H

- Quassinoidé 3 : 15-déacétylsergéolide

. pF : 295-300°C.

. $[\alpha]_D^{22} = -145^\circ$ (c=1 ; pyr.).

La formule brute de 3, $C_{23}H_{26}O_{10}$, est établie par la spectrométrie de masse à haute résolution avec un pic moléculaire à m/z 462,1522 (calculé : 462,1526).

Le poids moléculaire est donc inférieur de 42 u.m.a. à celui du sergéolide.

. Le spectre IR (nujol) montre une large bande à 1730 cm^{-1} (δ lactone), une bande d'absorption à 1758 cm^{-1} (ester) et une autre à 1782 cm^{-1} , ce qui suggère la présence d'un cycle buténolide comme dans le sergéolide.

. Spectre UV : λ_{max} (EtOH) = 278 nm ($\epsilon = 26514$).

Cette dernière absorption correspond au même chromophore que celui présent dans le sergéolide.

. RMN- ^1H

La RMN- ^1H à 400 MHz permet de déterminer la structure de ce composé (Fig. IV.5).

En effet, on note d'abord l'absence de signal due au groupement acétyle. Les déplacements chimiques des protons sont très proches de ceux du sergéolide, à l'exception des signaux correspondant à H-14 et H-15 ; le signal de ce dernier se situe vers les champs plus forts, où il apparaît sous forme d'un net doublet à 5,16 ppm ($J=13\text{ Hz}$), ce qui indique que ce quassinoidé ne possède pas de groupement ester en C-15 (Tableau IV.1). Ce composé est donc le 15-déacétylsergéolide.

L'acétylation du quassinoidé 3 mène avec un bon rendement au sergéolide (identité de pF, SM et RMN).

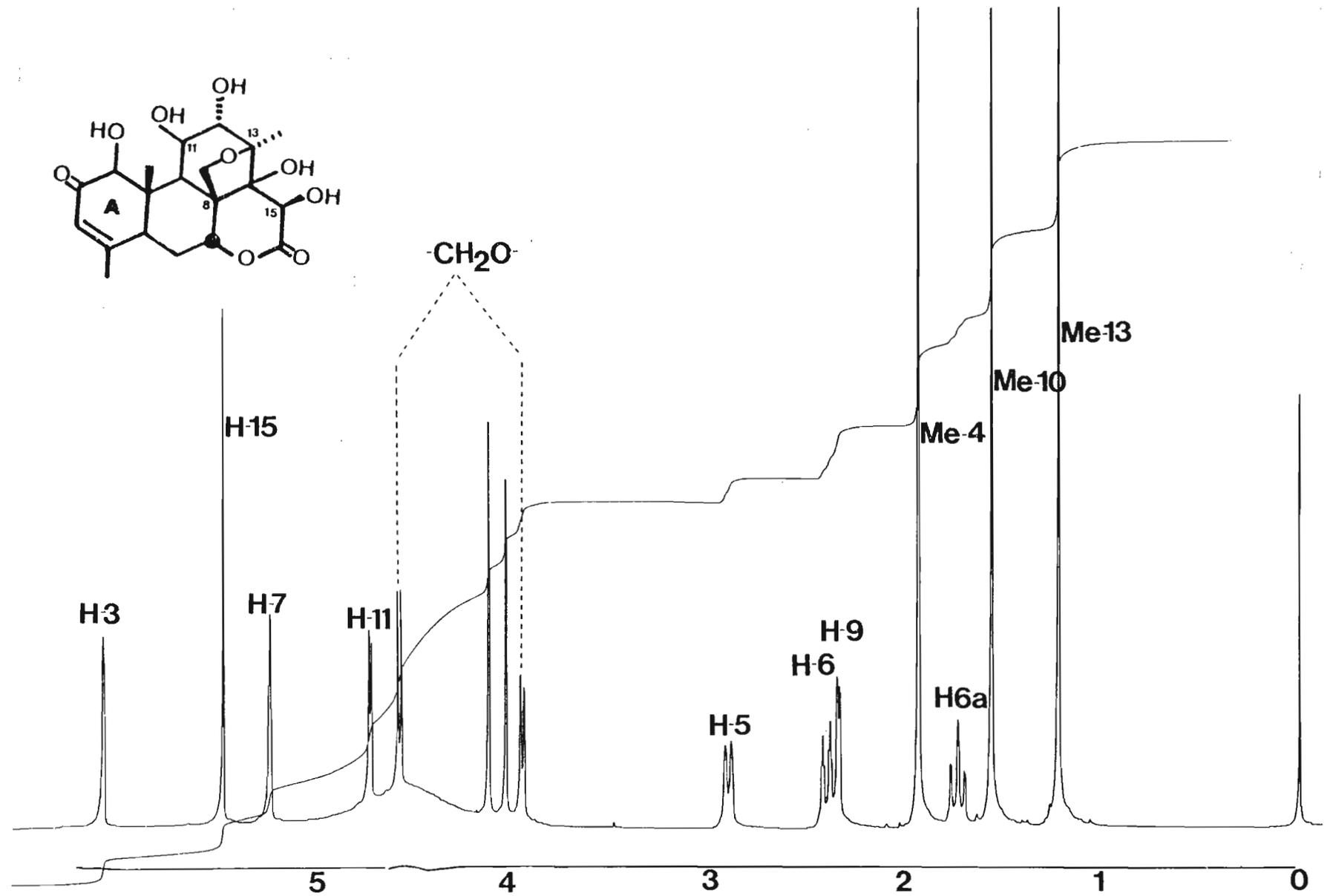


FIGURE IV.6 : Spectre RMN- ^1H de **4**

Le quassinoïde 3 ne semble pas être un artefact puisque le même procédé d'extraction appliqué aux tiges et aux racines ne fournit que les composés 1 et 2a.

- Quassinoïde 4 : brucéine D

. pF : 288-290°C.

La formule brute de ce composé, $C_{20}H_{26}O_9$, a été établie par la spectrométrie de masse (M^+ à m/z 410). On observe aussi des pics à 392 (M-18), 374 (M-18-18), 151, 135 ; ces 2 dernières fragmentations ont déjà été rencontrées dans l'isobrucéine B et sont caractéristiques d'un cycle A comme celui de l'isobrucéine B.

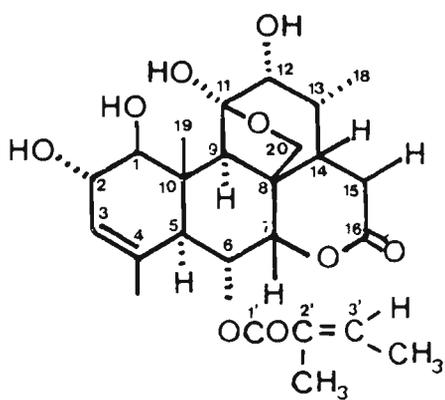
Les résultats obtenus (pF, SM, CCM, RMN- 1H à 400 MHz) sont identiques à ceux déjà publiés pour la brucéine D (12).

Dans le spectre de RMN- 1H (Fig. IV.6), le signal de H-15 est déblindé ; il apparaît à 5,3 ppm sous la forme d'un net singulet (Tableau IV.3).

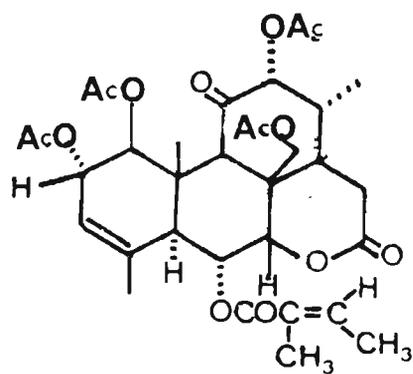
La brucéine D a été isolée pour la première fois de Brucea amerissima par POLONSKY et al. (12). Elle a été depuis isolée de nombreuses autres espèces de Simaroubacées (13).

	δ ppm		J (Hz)
H-1	4,11		
H-3	6,09	m	
H-5	2,90	d	12
H-6a	1,73	ddd	
H-6e	2,35	dd	
H-7	5,2	t	2
H-9	2,35	dd	2,5
H-11	4,57	dd	1,5
H-12	4,20	d	1
H-15	5,13	s	
Me-4	1,93	m	
Me-10	1,56	s	
Me-13	1,21	s	

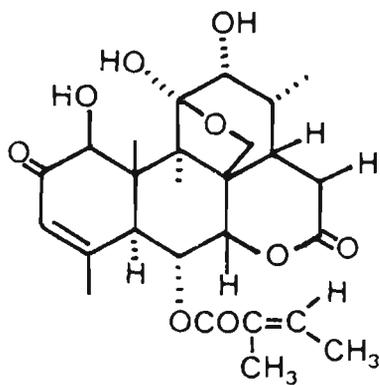
TABLEAU IV.3 : RMN- ^1H à 400 MHz de 4 (CDCl_3 + pyridine d_5)



5



6



7

V. QUASSINOÏDES DE SIMABA CUSPIDATA Spruce

V.1. Extraction des quassinoïdes des écorces de racines

L'extraction est menée selon le même procédé que celui décrit pour les autres espèces.

L'extrait chloroformique (extrait B, Schéma III.1) est évaporé à sec ; on obtient un résidu moussant qui cristallise dans le chloroforme pour donner le quassinoïde 5. La chromatographie sur colonne de silice des eaux-mères permet d'obtenir une quantité supplémentaire du quassinoïde 5 et d'isoler un autre quassinoïde, 7, moins polaire.

V.2. Etude structurale

- Quassinoïde 5 : 6 α -tigloyloxychaparrine

- . pF : 273-275°C.
- . $[\alpha]_D = +130^\circ$ (c=0,7 ; pyridine).
- . Spectrométrie de masse

La formule brute, C₂₅H₃₄O₉, est établie par la spectrométrie de masse par impact électronique, avec M⁺ à m/z 478. Elle est confirmée par la microanalyse.

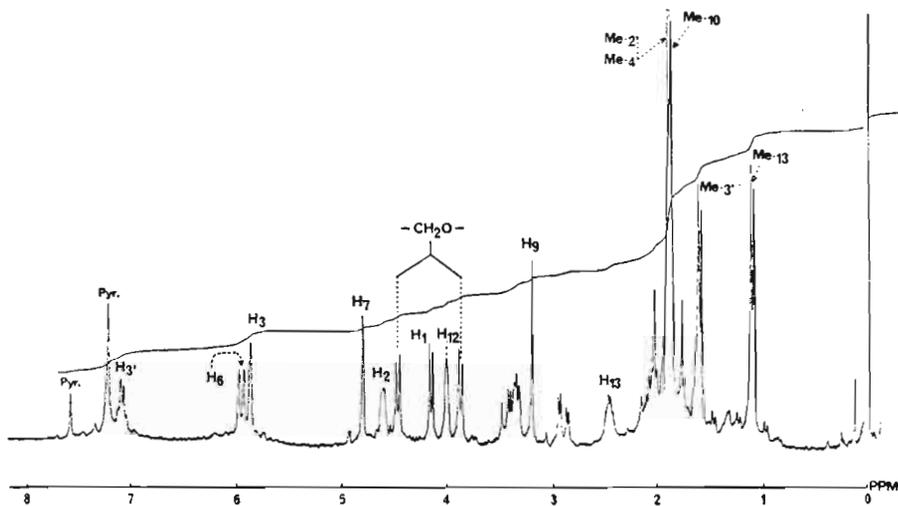


FIGURE V.1 : Spectre RMN- ^1H à 250 MHz de 5 (pyridine- d_5)

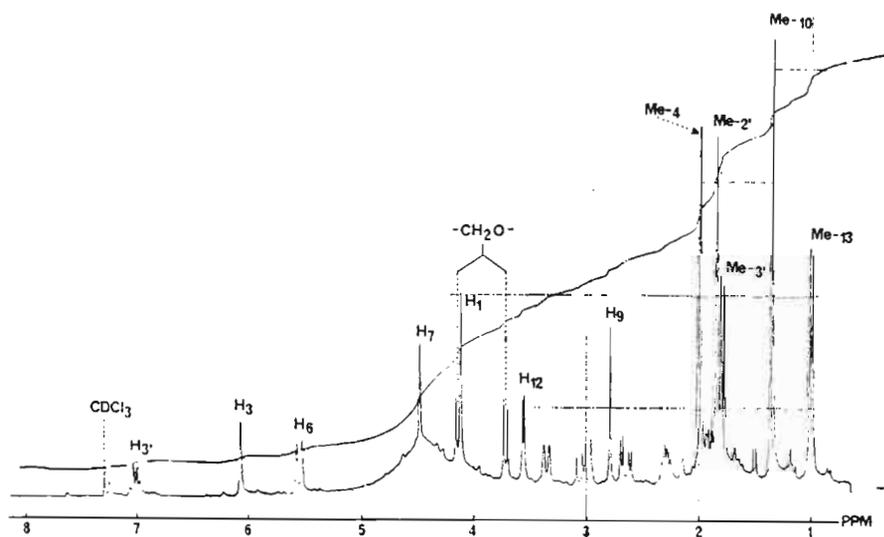
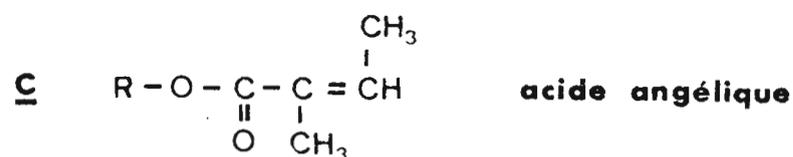
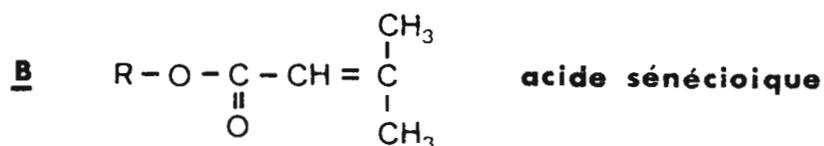
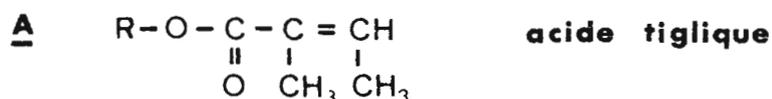


FIGURE V.2 : Spectre RMN- ^1H à 250 MHz de 7 (CDCl_3)

. Détermination de la nature et de la position de la chaîne latérale du quassinolide 5

La présence dans le spectre de masse de fragments à m/z 378 ($M^+ - 100$), 83 (C_5H_7O), 55 (C_4H_7) suggère la présence d'un ester -insaturé à 5 atomes de carbone ; celui-ci peut être l'acide tiglique A, sénéciolique B ou angélique C.



L'analyse du spectre RMN- 1H à 250 MHz (Fig. V.1) de 5 et la comparaison avec les spectres des esters B (quassinolide 10) et C (14) montre qu'il s'agit de l'ester de l'acide tiglique. En effet, on note la présence d'un méthyle vinylique secondaire à 1,60 ppm (d, $J=6,8$ Hz), d'un singulet à 1,89 ppm correspondant au méthyl-2' et d'un quadruplet à 7,09 ppm attribuable au proton vinylique H-3'.

δ ppm	Ester A (<u>5</u>)	Ester B <u>10</u>	Ester C (a)
H-2'		5,80	
H-3'	7,09 q (6,8)		6,0
CH ₃ -2'	1,89 s		
CH ₃ -3'	1,60 d (6,8)	1,92; 2,24	

a) : d'après ARISAWA et al. (14).

La RMN-¹H permet aussi de déterminer la position de cet ester par l'emploi des techniques de découplages de spin.

Une irradiation du quartet à 5,95 ppm (H-6β) simplifie le doublet à 4,80 ppm (H-7) en un singulet. Réciproquement, l'irradiation à 4,80 ppm transforme le quartet en un doublet. Ainsi sont mis en évidence le couplage transdiaxial H-6β - H-5α (J=12 Hz) et le couplage H-6β - H-7β (J=2,3 Hz) (Tableau V.1).

. RMN ¹³C

Le spectre RMN-¹³C fournit les indications suivantes :

- 2 groupements (C=O) à 168,8 et 166 ppm,
- 4 carbones sp² à 138,1, 133,5, 128,7 et 127,8 ppm,
- 7 signaux pouvant être attribués à des carbones sp³ portant un atome d'oxygène entre 109 et 67 ppm.

L'absence d'absorption UV au-delà de 220 nm et la comparaison des données spectrales avec celles d'autres quassinoides (11) sont en faveur d'un groupement 1,2-glycol dans le cycle A au lieu d'un groupement α-cétol. L'ensemble des données physiques et spectrales nous conduit à proposer la structure 5 pour ce nouveau quassinoides. L'attribution de la plupart des signaux en RMN-¹H corrobore la structure 5 proposée (Tableau V.1).

L'acétylation de 5 par le mélange anhydride acétique-pyridine à température ordinaire conduit au dérivé tétraacétylé 6.

Le spectre de masse de 6 montre un pic moléculaire à m/z 646 correspondant à la formule brute C₃₃H₄₂O₁₃ ainsi que des fragmentations à m/z 586 (M⁺-60), 486 (M⁺-60-100) et 444 (M⁺-60-100-42). On observe en RMN-¹H un déplacement vers les champs faibles des protons H-1, H-2 et H-12. La présence d'un groupement oxo en position 11 est attestée par un effet Cotton à 300 nm (Δε=-1,13 ; c=1,48 dans le dioxane), dans le spectre de dichroïsme circulaire (16).

	<u>7</u> ^a	<u>5</u> ^b	<u>6</u> ^c
H-1	4,15	4,15 d (7,6)	5,11 d (6,8)
H-2		4,61 m (7,6)	5,33 d (6,8)
H-3	6,11 br	5,86 br	5,51 br
H-6	5,58 dd (11,2,7)	5,95 dd (12,2,3)	5,32 dd (11,2,6)
H-7	4,52 d (2,7)	4,80 d (2,0)	4,71 d (2,6)
H-9	2,82	3,19	3,31
-CH ₂ O-	3,76 d (9,1)	3,86 d (9)	4,04 d (12,8)
	4,17 d	4,47 d	4,63 d
H-12	3,60 d (4,2)	4,00 m (3)	5,05 d (2,7)
CH ₃ -13	1,04 d (6,8)	1,11 d (6,8)	1,00 d (6,4)
CH ₃ -10	1,38	1,86	1,55
CH ₃ -4	2,02	1,89	1,72 br
CH ₃ -2'	1,88	1,89	1,85
CH ₃ -3'	1,83 d (7,2)	1,60 d (6,8)	1,83 d (7,2)
H-3'	7,05 q (7,2)	7,09 q (6,8)	7,27 q (7,2)
OAc			1,82
			2,00
			2,13
			2,19

Déplacements chimiques en ppm ; J en Hz

a : solvant : CDCl₃-5% pyridine d₅

b : solvant : pyridine-d₅

c : solvant : CDCl₃

TABLEAU V.1. : RMN-¹H à 250 MHz de 5, 6, 7

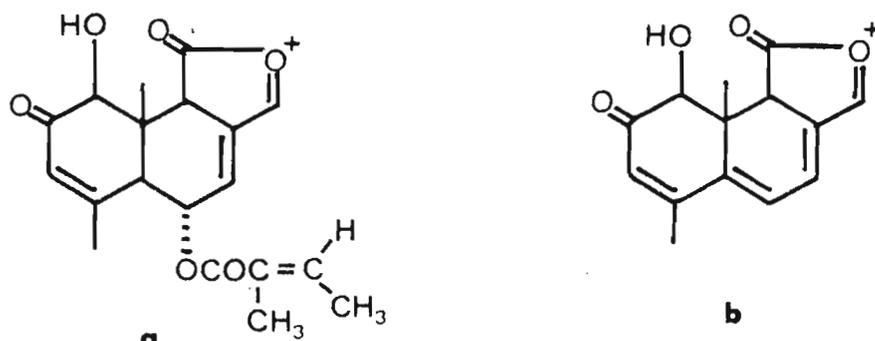
- Quassinoïde 7 : 6 α -tigloyloxychaparrinone

. pF : 229-231°C.

. $[\alpha]_D = +156^\circ$ (c=0,81 dans CHCl₃).

. Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse par impact électronique présente un pic moléculaire à M⁺ 476, correspondant à la formule brute C₂₅H₃₂O₉. Le spectre présente aussi les mêmes fragmentations que pour le quassinoïde précédent, à m/z 83 et 55, ainsi que d'autres fragmentations à 345 (a) et 245 (b) ; ces deux dernières confirment la présence du groupement tigloyl (9).



. Spectre UV : λ_{\max} (EtOH) = 228 nm ($\epsilon = 15500$).

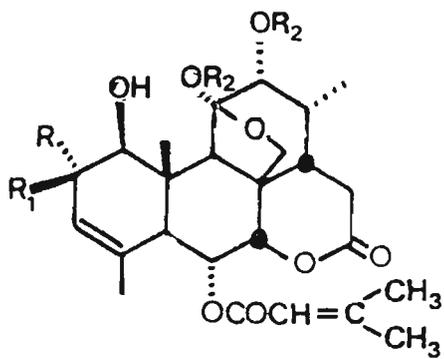
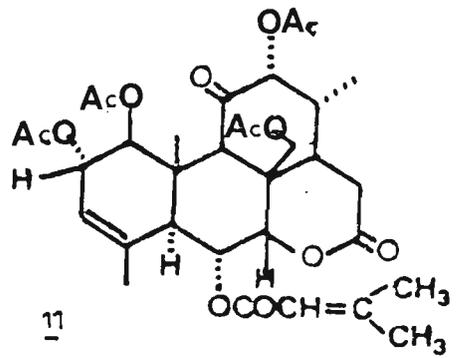
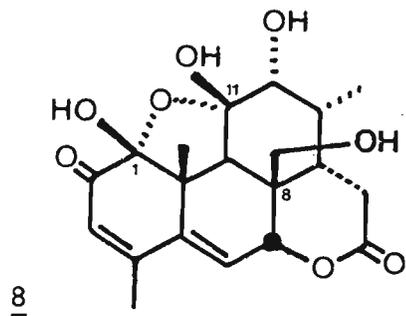
Cette absorption peut être attribuée à une cétone conjuguée et à un ester α, β -insaturé.

. RMN-¹H à 250 MHz

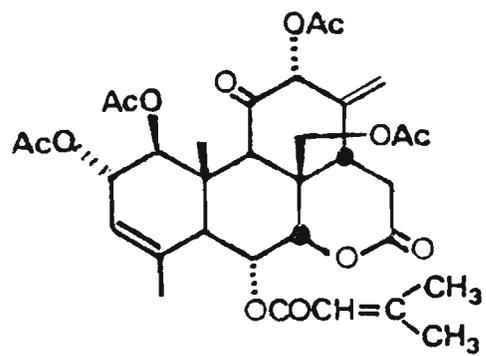
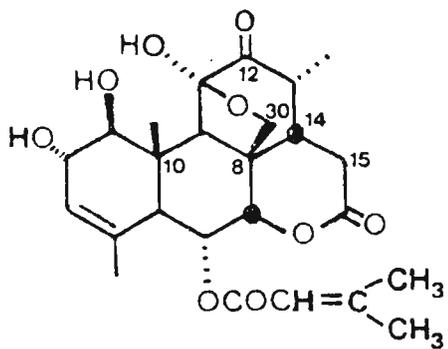
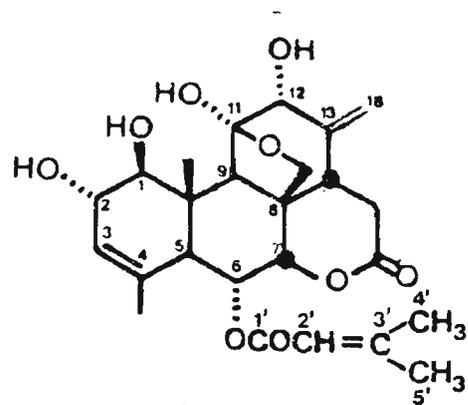
Le spectre RMN-¹H de 7 comparé à celui de 5 montre que le signal attribué dans ce dernier spectre à H-1 apparaît ici sous la forme d'un singulet bien distinct, alors que le large multiplet attribué à H-2 dans le spectre de 5 a disparu (Fig. V.2).

Ces résultats sont comparables à ceux publiés pour la 6 α -tigloyloxychaparrinone déjà isolée de Ailanthus integrifolia s.s.p Calycina (17). L'identité du quassinoïde 7 avec ce composé a été confirmée par comparaison avec un échantillon authentique de 6 α -tigloyloxychaparrinone.

Les 2 types de composés 5 et 7 sont souvent présents dans la même plante (Cf Simaba multiflora).



9 R=R₁=0 ; R₂=H
 10 R=OH ; R₁=R₂=H



VI. QUASSINOÏDES DE SIMABA MULTIFLORA Jussieu

VI.1. Extraction des quassinoïdes

Les différentes parties de la plante - écorces de troncs, écorces de racines, fruits - sont extraites selon le procédé déjà décrit pour les autres espèces (Cf § III).

Les écorces de tronc fournissent un extrait chloroformique (B, Schéma III.1) qui est chromatographié sur colonne d'un mélange acide silicique - célite (2/1) avec comme éluant un mélange CH_2Cl_2 - CH_3OH de polarité croissante (0-5%). On sépare ainsi un composé 8, appelé karinolide, qui est purifié par plusieurs chromatographies successives effectuées dans les mêmes conditions que précédemment.

Le composé 8 est obtenu à l'état pur par cristallisation dans l'acétate d'éthyle. La comparaison en CCM avec plusieurs quassinoïdes connus montre qu'il s'agit d'un quassinoïde nouveau.

De l'extrait chloroformique obtenu à partir des écorces de racines, on sépare par des chromatographies successives sur colonne de gel de silice, avec comme éluant du chloroforme contenant des quantités croissantes de méthanol, 2 autres quassinoïdes : la 6α -sénécioyloxychaparrinone 9 et la 6α -sénécioyloxychaparrine 10.

L'extrait chloroformique obtenu des fruits s'évère être un mélange très complexe de quassinoïdes, dont la séparation et la purification nécessitent plusieurs chromatographies sur colonne et plaques préparatives (gel de silice, éluant CHCl_3 - CH_3OH , 95/5). Les quassinoïdes 9 et 10, déjà obtenus à partir des autres organes sont à nouveau isolés, ainsi que 2 nouveaux quassinoïdes : la 12-déhydro- 6α -sénécioyloxychaparrine 13 et la 13,18-déhydro- 6α -sénécioyloxychaparrine 12, plus polaire.

VI.2. Etude structurale

- Quassinolide 8 : karinolide

. pF : 208-210°C.

. Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse par impact électronique montre un pic dans la zone de masse élevée à m/z 392 et 2 pics intenses, l'un à m/z 374 ($M^+ - H_2O$), l'autre à m/z 356 ($374 - H_2O$) ainsi que les pics métastables correspondants (respectivement m/z 357 et 339).

Le spectre de masse à haute résolution confirme la masse moléculaire trouvée : 392,1466, ce qui correspond à la formule brute $C_{20}H_{24}O_8$.

. Spectre UV (alcool 95°) :

$$\begin{aligned} \lambda_{\max} &= 295 & \log \epsilon_{295} &= 4,00 \\ \lambda_{\max} &= 227 & \log \epsilon_{227} &= 3,63. \end{aligned}$$

Cette absorption laisse supposer qu'il s'agit d'un chromophore du type diénone.

. Test du chlorure ferrique

Il sert à révéler la présence d'un diosphénol dans la molécule. Le produit ne se colore pas en présence de réactif. Le chromophore n'est donc pas un diosphénol.

Vu la faible quantité de produit nous nous sommes "acharnés" à avoir un "bon" cristal pour l'étude par diffraction des rayons X (Fig. VI.1), la structure résultante est la suivante :

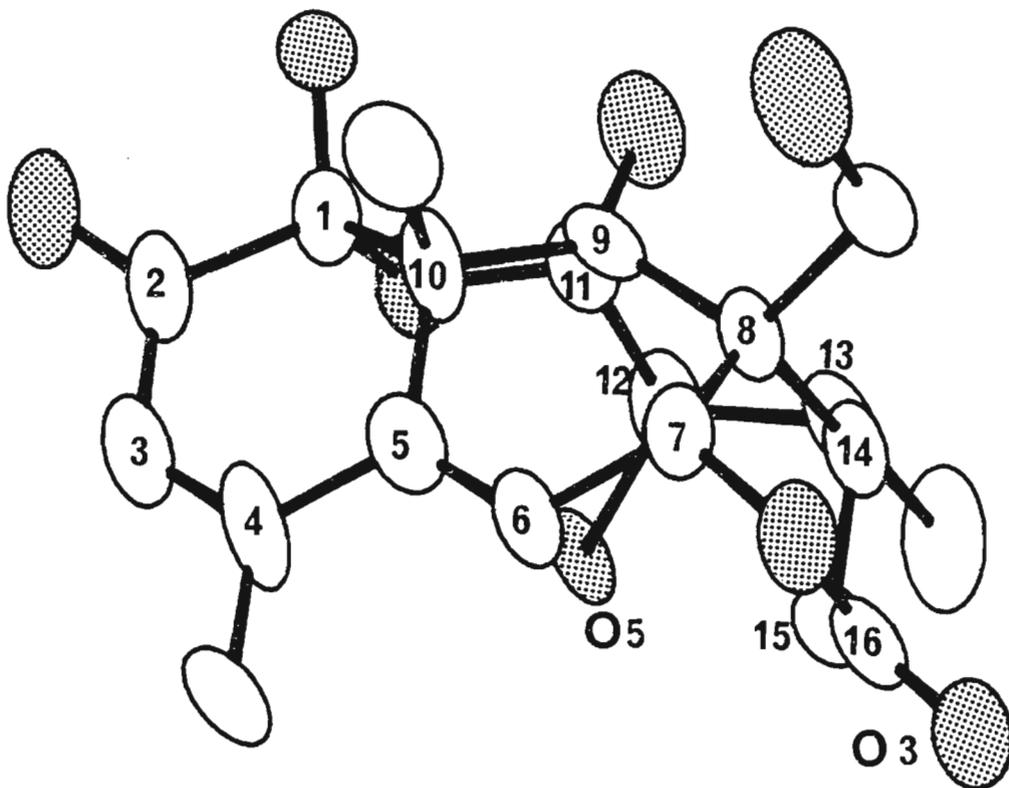


FIGURE VI.1. : Structure moléculaire de 8

. Spectre RMN-¹H

Le spectre RMN-¹H à 250 MHz est interprété de la manière suivante : on constate d'abord la présence de signaux correspondant aux 3 méthyles : un doublet à 1,16 ppm correspondant au méthyle secondaire en position 13, un singulet à 1,44 ppm attribuable au méthyl-10 et un singulet à 2,0 ppm attribuable au méthyl-4.

On relève aussi la présence du système AB due au groupement (-CH₂-O-) à 3,75 et 3,62 ppm (J=9 Hz). Le signal à 3,48 ppm (s) correspond à H-9 ; les signaux apparaissant sous la forme de large singulets à 3,65 et 3,98 ppm sont attribuables à H-12 et à H-7. Les 2 doublets que l'on observe dans les champs faibles à 5,61 et 6,27 ppm sont dus respectivement à H-3 et H-6, couplés à distance à travers le système conjugué du groupement diénone (J=1,5 Hz).

Ce nouveau quassinolide met en évidence 3 traits nouveaux : l'alcool primaire en C-8, le système diénone et le di-hémiacétal en C-1 et C-11 ; cette dernière fonction est tout à fait remarquable.

Le pont époxy entre C-1 et C-11 confère une forme inhabituelle à la molécule, affectant la conformation des cycles B, C et D. Les 2 premiers prennent une conformation demi-bateau, alors que le cycle D prend une conformation demi-chaise. Pour ce dernier cycle, cette conformation est imposée aussi par la planéité de la fonction δ-lactone : C-C-O-C.

$$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \end{array}$$

- Quassinolide 9 : 6α-sénéciolyloxychaparrinone

. pF : 248-252°C.

. Spectrométrie de masse

Le spectre de masse par impact électronique donne un pic moléculaire à m/z 476 (M⁺), ce qui correspond à la formule brute C₂₅H₃₂O₉. On observe aussi des pics à m/z 376 (M⁺-100), 345, 245, 83 (C₅O₂H₇) et 55 (C₄H₇), qui suggèrent la présence d'un ester α,β-insaturé à 5 atomes de carbone (Cf quassinolides Simaba cuspidata).

. Spectre UV : λ_{\max} (éthanol) = 227 nm ($\epsilon=22300$).

Cette absorption peut être attribuée à l'ester α,β -insaturé et à une cétone α,β -insaturée.

Les caractéristiques physiques et spectrales de ce composé (UV, SM, RMN- ^1H à 250 MHz) sont identiques à celles de la 6 α -sénéciocyloxychaparrinone, un quassinolide déjà isolé à partir d'un échantillon de la même espèce récoltée au Pérou (18).

L'identité du quassinolide 9 a été confirmée par comparaison avec un échantillon authentique de 6 α -sénéciocyloxychaparrinone.

- Quassinolide 10 : 6 α -sénéciocyloxychaparrine

. pF : 280-286°C (déc.).

. Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse par impact électronique montre un pic moléculaire de faible intensité à m/z 478 ($M^{+\cdot}$), correspondant à la formule brute $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_9$. On relève aussi d'importantes fragmentations à m/z 460 ($M^{+\cdot}-18$), 378 ($M-100$), 83 et 55 ; ces trois dernières fragmentations suggèrent la présence du même ester, insaturé en C-5, que dans le quassinolide précédent.

. RMN- ^1H à 250 MHz (Fig. VI.2)

Par un raisonnement analogue à celui que nous avons suivi pour l'identification des quassinolides 5 et 6 isolés de Simaba cuspidata nous en déduisons que le quassinolide 10 possède un groupement sénéciocyte en position 6 α . En effet, on note la présence de signaux à 5,45 (dd, $J=12$ et 2 Hz) et à 5,72 (s) attribuables respectivement à H-6 β et H-2'.

La différence de 2 u.m.a. avec le quassinolide 9 ainsi que l'absence d'absorption UV significative au-delà de 220 nm suggèrent que ce composé est le dérivé dihydrogéné en C-2 de 9, ce qui conduit à proposer la structure 10 pour ce nouveau quassinolide.

Les 2 types de composés sont souvent présents dans la même plante (Cf quassinoïdes de S. cuspidata).

L'acétylation de 10 (pyridine-acétate d'éthyle, 24 h) conduit au dérivé pentaacétylé 11 attendu, de formule brute $C_{33}H_{42}O_{13}$ (M^+ à m/z 646). Le spectre RMN- 1H à 250 MHz, conformément à la structure 11 proposée présente les signaux suivants : 4,92 (d, $J=7,2$ Hz, H-1), 5,12 (m, H-2), 5,30 (dd, $J=12$ et 2 Hz, H-6), 4,55 (large s, H-12), 4,05 (d) et 5,68 ppm (s, H-2'). Le groupement (-CH₂-OAc) apparaît sous la forme d'un système AB à 4,05 (d) et 4,57 ppm (d, $J=12$ Hz). (voir Note ci-dessous).

- Quassinoïde 12 : 13,18-déhydro-6 α -sénécioyloxychaparrine

. pF : 240-243°C.

. $[\alpha]_D^{24} = +332^\circ$ (c=0,52 ; pyridine).

. Spectrométrie de masse

Le spectre par ionisation chimique utilisant NH₃ comme gaz vecteur permet d'établir la masse moléculaire avec des signaux à m/z 494 (MNH₄)⁺ et m/z 476 (MNH₄-18)⁺. Le spectre FAB négatif (glycérol-DMF) montre un pic important à m/z 475 (M-H)⁻. Le spectre de masse à haute résolution donne un pic moléculaire M^+ à m/z 476,2029 (calc. : 476,2048), correspondant à la formule brute C₂₅H₃₂O₉. Le poids moléculaire de 12 est donc inférieur de 2 u.m.a. à celui de la 6 α -sénécioyloxychaparrine 10.

Le spectre de masse par impact électronique montre aussi des pics à m/z 376 (M^+-100), 83 et 55. Ces deux derniers sont caractéristiques d'un ester α,β -insaturé en C₅ (Cf quassinoïdes de S. cuspidata). On note aussi un ion à m/z 246, de composition C₁₄H₁₄O₄ (trouvé : 246,0953 ; calculé : 246,0892), et pour lequel nous proposons la structure C qui est en faveur d'une substitution en position 6.

 Note : Alors que ce travail était très avancé, nous avons appris que ce quassinoïde venait d'être isolé à partir d'un échantillon de la même espèce récoltée au Pérou par le groupe de chercheurs de l'Université de l'Illinois (CORDELL, com press). Depuis lors, ce travail a été publié (14).

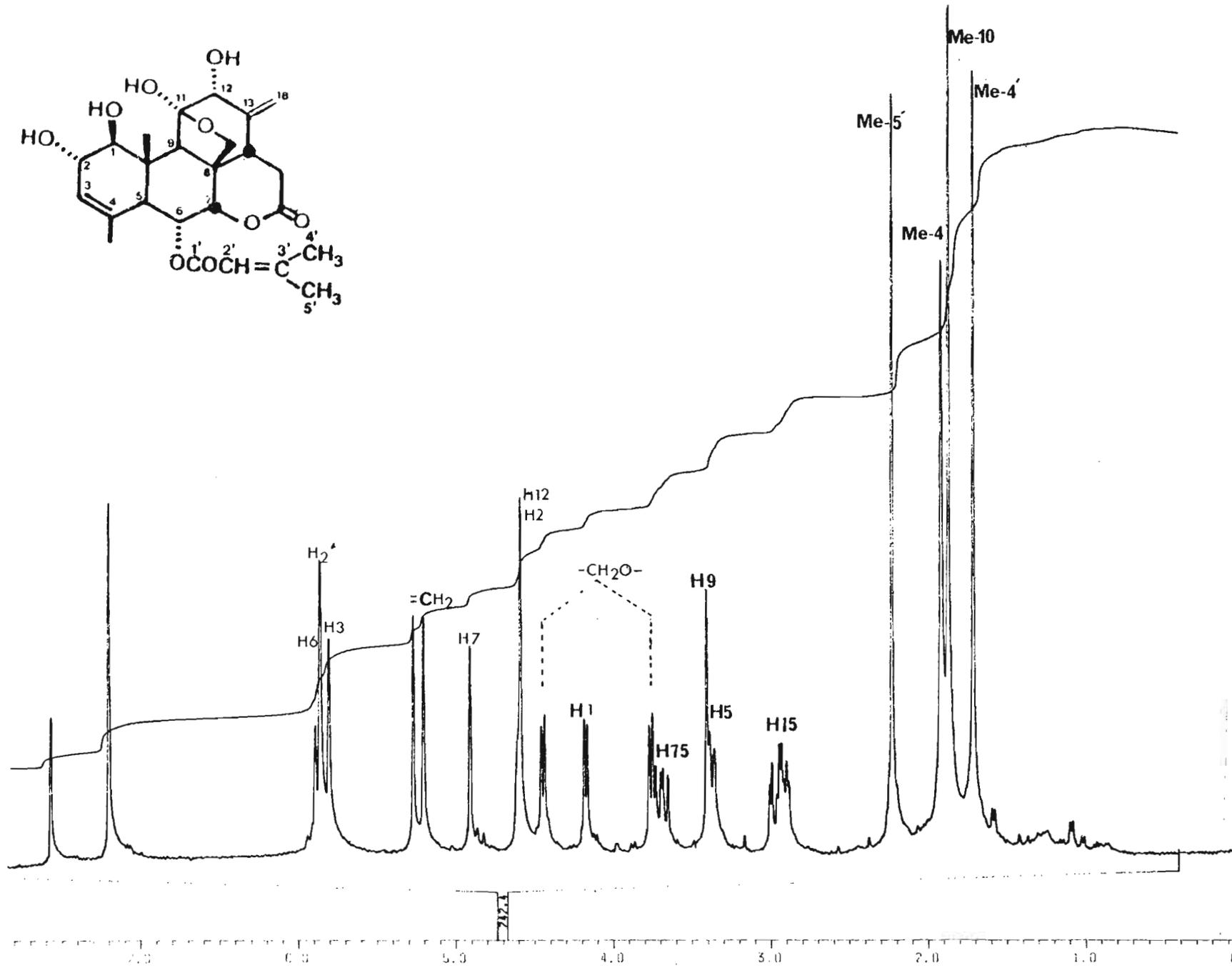
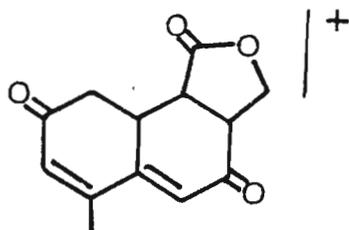


FIGURE VI.3 : Spectre RMN- ^1H à 400 MHz de 12

Structure proposée pour l'ion C



m/z 246

. Spectre UV : λ_{max} (éthanol) = 218 nm ($\epsilon=17560$).

Cette absorption peut être attribuée à un ester α,β -insaturé.

. Spectre IR

Le spectre IR révèle des bandes d'absorption à 1710 cm^{-1} (δ -lactones), 1700 cm^{-1} (ester α,β -insaturé) et une large bande à 3350 cm^{-1} attribuable à des groupements hydroxyles.

. RMN- ^1H à 400 MHz

Le spectre de RMN- ^1H à 400 MHz (Fig. VI.3) présente une grande similitude avec celui de la 6 α -sénéciocyloxychaparrine 10. Il confirme la présence de l'ester de l'acide sénéciolique et sa position en C-6 sur le squelette carboné du quassinolide. On relève, en effet, un singulet à 5,91 ppm attribuable à H-2' (5,80 ppm pour 10) ; les 2 méthyles vinyliques du groupement sénéciolyle apparaissent sous forme de singulets à 1,75 et 2,27 ppm.

Des expériences de découplage de spin montrent que le doublet à 5,92 ppm ($J=12$ Hz) correspond au couplage trans-diaxial H-6 α - H-5. Une irradiation à 5,92 ppm transforme en effet le doublet à 3,40 ppm (H-5) en un singulet, de même qu'une irradiation à 3,40 ppm simplifie le signal à 5,92 ppm.

Le spectre présente aussi 2 singulets de même intensité à 5,24 et 5,31 ppm, caractéristiques d'un groupement vinylidène. L'absence de signaux attribuables à des méthyles secondaires suggère que ce groupement vinylidène est situé en position 13. Des quassinolides possédant un tel groupement en position 13 ont déjà été isolés (19).

. RMN-¹³C

Le spectre RMN-¹³C est en accord avec la structure 12 proposée. Les multiplicités ont été établies au moyen des techniques de "J. modulated spin-echo" et de découplages partiels. Les déplacements chimiques ont été déterminés en se référant aux résultats publiés antérieurement sur la RMN-¹³C des quassinoides (11), et par la technique de la corrélation bidimensionnelle des déplacements chimiques ¹H - ¹³C (vide infra).

Le spectre RMN-¹³C comporte 4 signaux correspondant à des méthyles. On note aussi la présence de 6 signaux dans la région des carbones sp² à 118,2 (t, =CH₂), 147,7 (s, C-13), 116,6 (d, C-2'), 158,8 (s, C-3'), 130,1 (d, C-3) et 134,8 ppm (s, C-4), ainsi que les 2 signaux attribuables aux groupements (-C-O) dans les champs plus faibles à 167,0 (s, C-1') et 169,1 ppm (s, C-16). Le spectre comporte aussi 4 signaux correspondant à des carbones portant un oxygène à 73,0, 83,9, 81,0 et 110,9 ppm (Tableau VI.2).

La technique de la corrélation hétéronucléaire bidimensionnelle (voir ci-après) permet l'attribution de l'ensemble des signaux en RMN-¹H et ¹³C (Tableaux VI.1. et VI.2).

. Corrélation bidimensionnelle des déplacements chimiques ¹H-¹³C

La technique employée permet d'identifier les résonances des protons qui sont corrélés au signal, en RMN-¹³C, du carbone adjacent (20).

En passant d'un spectre à l'autre, il est possible d'analyser certaines parties de spectres difficilement interprétables et de lever certaines ambiguïtés.

La représentation en "cross section" permet de séparer les signaux qui apparaissent superposés en RMN-¹H et de calculer les constantes de couplage (Fig. VI.4). Ainsi peut-on séparer les signaux dus à H-2 et H-12, le premier apparaissant en "cross section" sous la forme d'un large doublet (J=7,5 Hz) à 4,63 ppm alors que le second est un singulet à 4,63 ppm (Fig. VI.5).

Il est possible, par cette même représentation, de séparer le massif centré à 3,42 ppm en ces différents éléments et d'attribuer

	<u>12</u> ^a		<u>13</u> ^b	
	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)	J (Hz)
H-1	4,22 d	(7,5)	3,78	
H-2	4,63 br.d	(7,5)	4,37 br.d	(8)
H-3	5,85 br.s		5,72 d	(1)
H-5	3,40 d	(13,6)	3,07 br.d	(12)
H-6	5,92 d	(13,6)	5,68 dd	(12,2)
H-7	4,95 s		4,80 d	(2)
H-9	3,44 s		2,18 s	
-CH ₂ O-	4,48 d	(8,5)	4,61 d	(9)
H-12	4,63 s			
H-13			3,36 dd	(7,8)
H-14	2,95 dd	(6,13)	2,57 ddd	(8,6,13)
H-15 α	3,74 dd	(13,18)	2,29 dd	(13,18)
H-15 β	3,00 dd	(6,18)	2,64 dd	(6,18)
H-18	5,24 s 5,31 s			
Me-13			0,98 d	(7)
H-2'	5,91 s		5,75 s	
Me-4'	1,75 s		1,70 s	
Me-5'	2,27 s		2,20 s	
Me-4	1,94 s		1,85 s	
Me-10	1,89 s		1,81 s	

a : pyridine-d₅ ; b : pyridine-d₅ + CDCl₃

TABEAU VI.1 : RMN-¹H à 400 MHz des quassinoides 12 et 13

	<u>13</u> ^a δ (ppm)	<u>12</u> ^a δ (ppm)
C-1	83,9 d	83,6 d
C-2	73,0 d	72,5 d
C-3	130,1 d	129,7 d
C-4	134,8 s	134,5 s
C-5	44,9 d	44,3 d
C-6	68,1 d	67,7 d
C-7	80,0 d	79,0 d
C-8	46,8 s	47,5 s
C-9	43,6 d	40,7 d
C-10	45,3 s	45,7 s
C-11	110,9 s	108,5 s
C-12	81,0 d	207,9 s
C-13	147,7 s	50,4 d
C-14	48,1 d	43,6 d
C-15	35,2 t	28,9 t
C-16	169,1 s	168,5 s
C-30	72,0 t	72,7 t
C-18	118,2 t	
Me-13		11,8 q
C-1'	167,0 s	166,0 s
C-2'	116,6 d	116,4 d
C-3'	158,8 s	159,2 s
Me-4'	17,3 q	27,7 q
Me-5'	20,5 q	20,7 q
Me-4	24,8 q	24,9 q
Me-10	11,8 q	10,2 q

a : pyridine-D₅ ; mélange : pyridine-d₅ + CDCl₃

TABLEAU VI.2 : RMN-¹³C des quassinoides 12 et 13

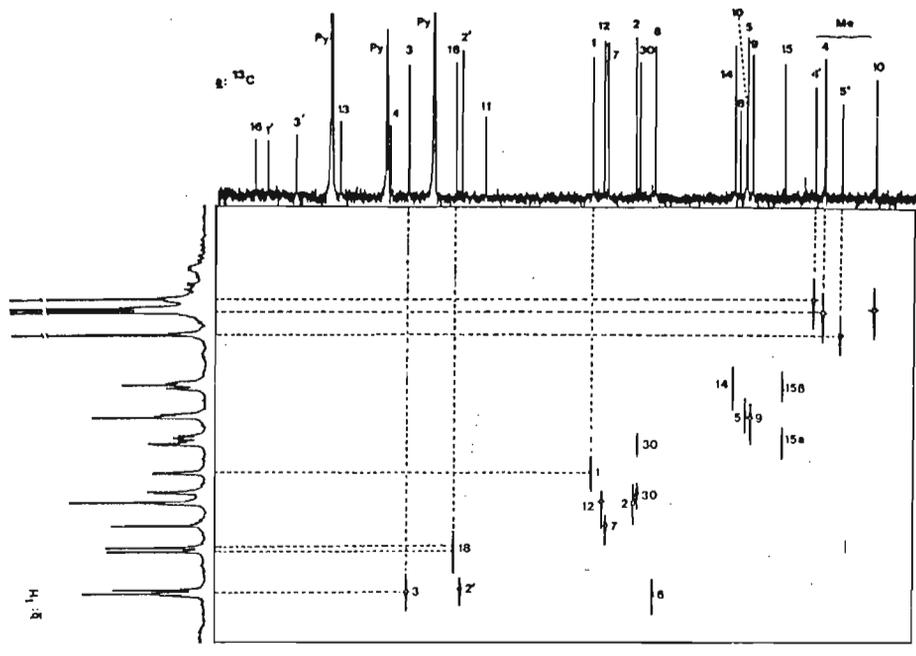


FIGURE VI.4 : Corrélation bidimensionnelle des déplacements chimiques ^1H - ^{13}C de 12 (représentation en "contour plot")

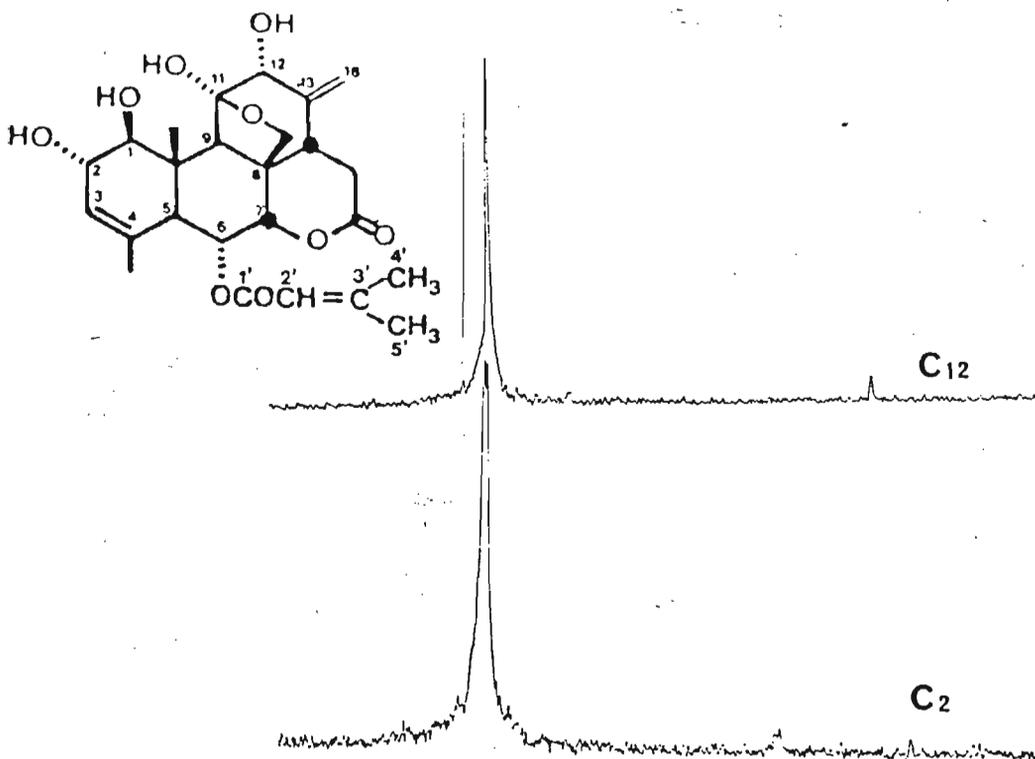


FIGURE VI.5 : Représentation en "cross section" des signaux H-2 et H-12 de 12

ainsi exactement d'une part le doublet à 3,40 ppm ($J=12$ Hz) à H-5, couplé avec H-6, et d'autre part le singulet à 3,44 ppm au proton H-9. En passant du spectre RMN- ^1H au spectre RMN- ^{13}C (Fig. VI.4), on peut attribuer aussi les signaux dus aux groupements méthine ($-\overset{\cdot}{\text{C}}-\text{H}$) en C-5, C-9 et C-14 (respectivement à 44,9, 43,6 et 48,1 ppm).

Les signaux correspondant en RMN- ^{13}C aux méthyles du groupement sénéciolye pouvant être attribués en les comparant aux résultats déjà publiés (27,3 et 20,5 ppm ; Litt. (21) : 26,1 et 19,1 ppm), la corrélation bidimensionnelle permet l'attribution correcte de leurs signaux en RMN- ^1H : à 1,75 et 2,27 ppm. Il en est de même pour les 2 méthyles du squelette, mais par le cheminement inverse : le signal caractéristique du méthyl-4 en RMN- ^1H à 1,94 ppm (s) est corrélé au signal à 24,8 ppm en RMN- ^{13}C ; celui du méthyl-10 (1,89 ppm) au signal à 11,8 ppm (voir tableau suivant).

Attribution des signaux dus aux méthyles de 12 par la corrélation bidimensionnelle

	D'après Litt. (21)	RMN- ^{13}C de <u>12</u>	Corrélation $^1\text{H}-^{13}\text{C}$	RMN- ^1H de <u>12</u>
Me-4'	26,1 (q)	27,7 (q)	→	1,75 (s)
Me-5'	19,1 (q)	20,7 (q)	→	2,27 (s)
Me-4		24,9 (q)	←	1,94 (s)
Me-10		11,8 (q)	←	1,89 (s)

. Acétylation de 12

L'acétylation (anhydride acétique - pyridine) produit le dérivé acétylé 14. (pF : 156-158°C). La spectrométrie de masse par impact électronique fournit un pic à m/z 584 ($\text{M}^+ - 60$).

Le spectre RMN- ^1H à 400 MHz de 14 présente 4 signaux correspondant aux groupements acétyles à 1,81, 2,08, 2,12 et 2,16 ppm.

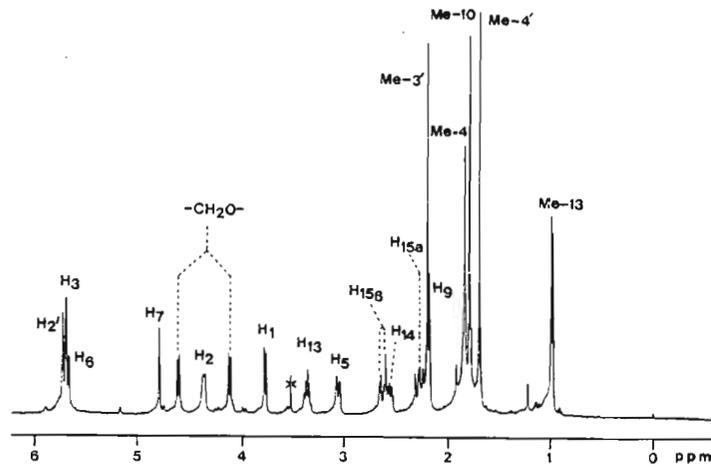


FIGURE VI.6 : Spectre RMN-¹H à 400 MHz de 13 (pyridine-d₅)

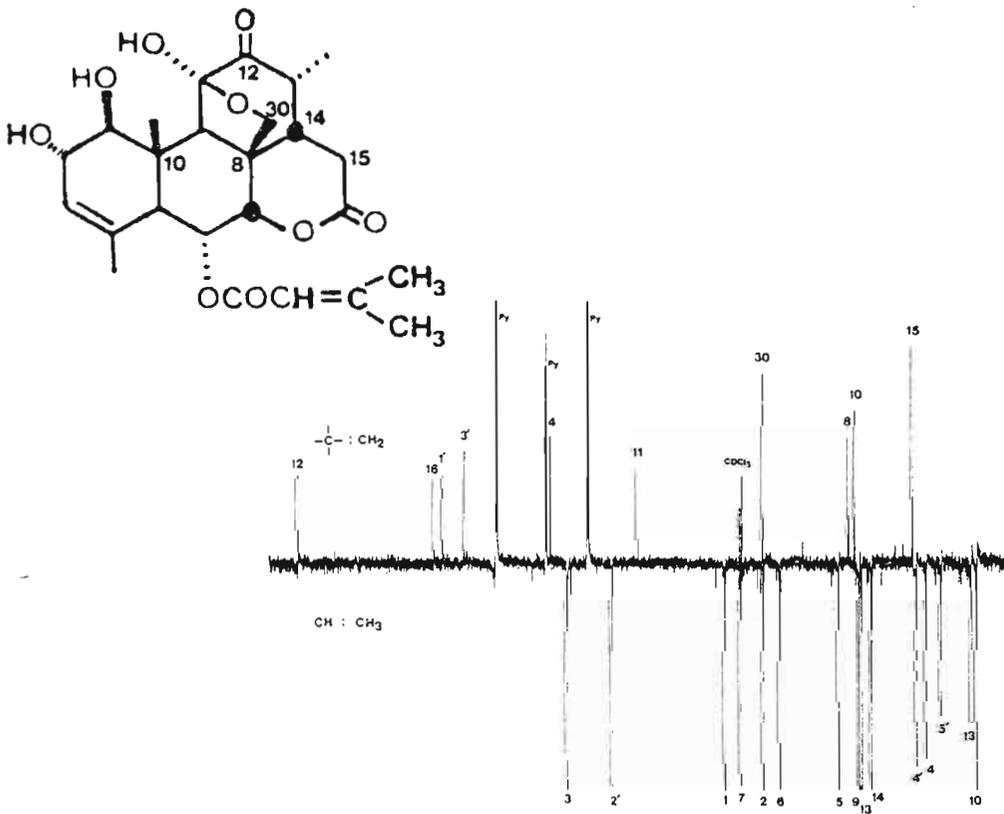


FIGURE VI.7 : RMN-¹³C de 13

L'ensemble des résultats obtenus est en accord avec la structure 12 proposée pour ce nouveau quassinolide qui est la 12,18-déhydro-6 α -sénécioyloxychaparrine.

- Quassinolide 13 : 12-déhydro-6 α -sénécioyloxychaparrine

. pF : 250-255°C.

. $[\alpha]_D = +95,7$ (c=0,47 ; pyridine).

. Spectrométrie de masse

La formule brute du quassinolide 13 a été établie par la spectrométrie de masse à haute résolution : M^+ à 476,2067 pour $C_{25}H_{32}O_9$ (calculé : 476,2046). Le spectre comporte aussi les mêmes fragmentations que pour le quassinolide 12 à m/z 458, 376, 246, 83 et 55. Le spectre par ionisation chimique confirme le poids moléculaire trouvé avec des fragments à : 477 (MH) $^+$, 459 (MH-18) $^+$, 83 et 55.

. Spectre UV : λ_{max} (éthanol) = 217 nm ($\epsilon=15503$).

Le quassinolide 13 est donc un isomère de 12 dont les spectres de masse et d'absorption UV sont très semblables.

. Spectre IR (nujol)

Le spectre présente des bandes d'absorption à 1720, 1705 et 1645 cm^{-1} .

. RMN- 1H à 400 MHz

Le spectre de 13 (Fig. VI.6) présente une grande similitude avec celui de 12. La différence porte essentiellement :

- sur la présence d'un signal à 0,98 ppm (d) correspondant à un méthyle secondaire,
- sur l'absence de signaux correspondant au groupement vinylic et au proton H-12, alors que ce dernier apparaît dans le spectre de 12 sous la forme d'un net singulet.

Des expériences de découplages de spin permettent de mettre en évidence des couplages entre le signal à 0,98 ppm du méthyle secondaire et le signal à 3,36 ppm (H-13).

Des irradiations dans les champs forts mettent aussi en évidence des couplages entre les signaux à 3,36 ppm (dd, $J=13, 18$ Hz) et à 2,57 ppm (ddd, $J=8, 6, 13$ Hz) attribuables respectivement à H-13 et H-14.

. RMN- ^{13}C

L'emploi de la technique du "spin echo" permet de mettre en évidence : 5 signaux correspondant à des méthyles, un signal à 28,9 ppm (t) correspondant au groupement (CH_2) et attribuable à C-15 ; ce dernier signal exclut la possibilité d'une insaturation en C-15. Le spectre comporte aussi 4 signaux attribuables à des carbones portant un groupement oxygène du type ($\text{HC}-\text{O}$) entre 67,7 et 108,5 ppm (s) (Fig. VI.7), soit un de moins que pour 12. On relève aussi un signal à 207,9 ppm correspondant à une fonction cétone.

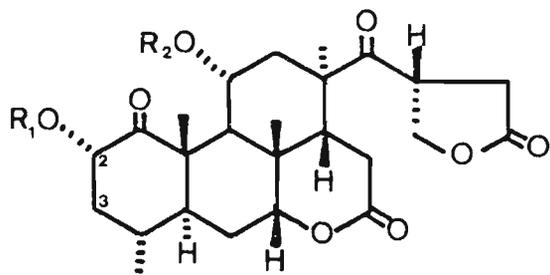
L'absence en RMN- ^1H de signal correspondant à H-12 suggère que cette cétone est en position 12.

Ces résultats nous conduisent à proposer la structure 13 pour ce nouveau quassinoïde.

La présence d'une fonction cétone dans la molécule est attestée par le spectre de dichroïsme circulaire ($\Delta\epsilon=+0,18$; $\lambda_{\text{max}} = 313$ nm).

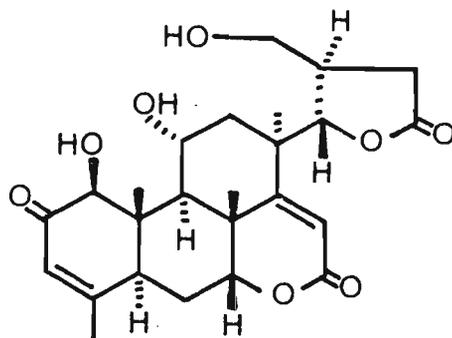
L'attribution de l'ensemble des signaux en RMN- ^1H et ^{13}C , en accord avec la structure 13, est précisée dans les tableaux VI.1 et VI.2.

Il convient de remarquer que les quassinoïdes possédant un groupement oxo en position 12 sont très rares.

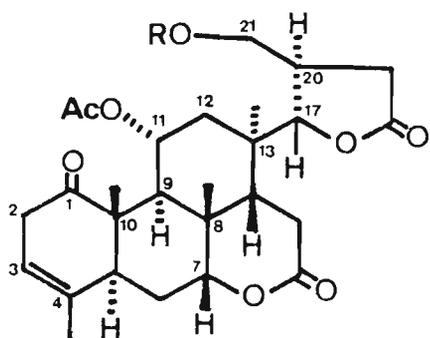


15 $R_1=H$; $R_2=Ac$

18 $R_1=R_2=H$

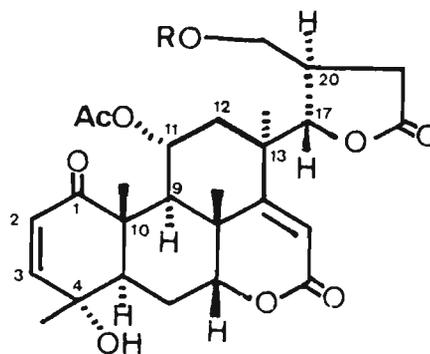


19



16a $R=H$

16b $R=Ac$



17a $R=H$

17b $R=Ac$

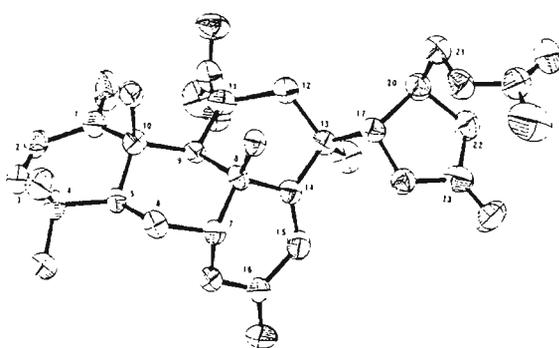


FIGURE VII.1 : Structure moléculaire de 17b

VII. QUASSINOÏDES DE SIMABA MORETTII Feuillet

VII.1. Extraction des quassinoïdes

Les écorces de racines ont été extraites en suivant le procédé décrit au paragraphe III (Schéma III.1). Une chromatographie sur colonne d'un mélange d'acide silicique - célite (2/1) avec comme éluant CH_2Cl_2 contenant des quantités croissantes de CH_3OH permet une première séparation des quassinoïdes. Plusieurs chromatographies sont nécessaires pour parvenir aux quassinoïdes purs. Sont ainsi isolés le simarolide 15, le simarinolide 16a et le guanépolide 17a.

L'extrait chloroformique obtenu à partir des péricarpes du fruit est chromatographié sur une colonne d'acide silicique mélangée à de la célite (4/1). Les fractions éluées avec du chloroforme contenant 2% de méthanol fournissent le simarolide 15 déjà isolé des écorces de racines.

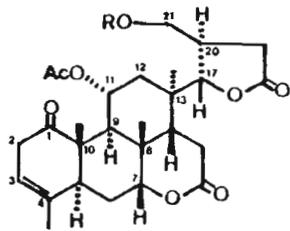
Les fractions éluées avec du chloroforme contenant 3% de méthanol fournissent un autre quassinoïde : le déacétyl-simarolide 18.

VII.2. Etude structurale

- Quassinoïde 15 : simarolide

. pF : 264-270°C.

La formule brute de ce composé, $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_9$, a été établie par la spectrométrie de masse avec un pic moléculaire à m/z 504. On observe aussi une fragmentation importante à m/z 444 correspondant à la perte d'un groupement acétyle ($\text{M}^+ - 60$).



16a R=H

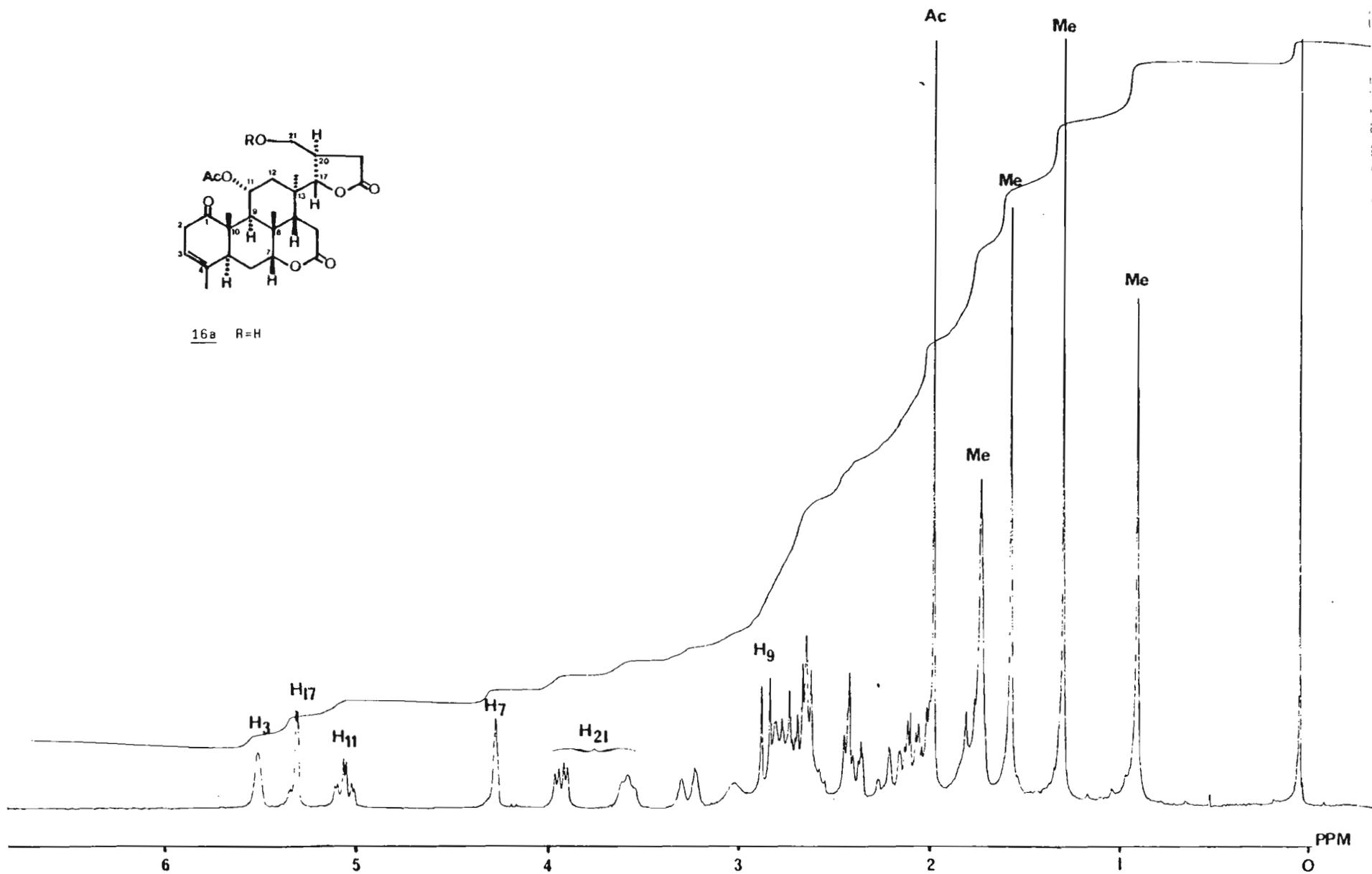


FIGURE VII.2 : Spectre RMN-¹H à 250 MHz de 16a

Les propriétés physiques et spectrales de ce produit (CCM, SM, IR) sont identiques à celles d'un échantillon authentique de simarolide. Ce produit a été précédemment isolé de Simarouba amara (22).

- Quassinolide 16a : simarinolide

. pF : 208°C. $[\alpha]_D = +23,7^\circ$ (c=0,84 ; CHCl₃).

. Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse à haute résolution permet d'établir la formule brute du simarinolide, C₂₇H₃₆O₈, M⁺ à m/z 488,2408. Le spectre montre aussi des fragmentations importantes à m/z 428,2229 (C₂₅H₃₂O₆), 400,2213 (C₂₄H₃₂O₅), 385,2040 (C₂₃H₂₉O₅) correspondant à la perte successive, à partir de l'ion moléculaire, d'une mole d'acide acétique et des groupements (CO) et (CH₃).

. Spectre UV

Il ne montre pas d'absorption significative au-delà de 218 nm.

. Spectre IR (nujol)

Il comporte une bande carbonyle, aiguë, à 1718 cm⁻¹ et une large bande entre 1710-1740 cm⁻¹.

. Spectre RMN-¹H à 250 MHz (Fig. VII.2)

Il révèle la présence d'un groupement acétyle et de 4 méthyles tertiaires. Le large singulet à 1,67 ppm suggère un méthyle vinylique en C-4, couplé à distance avec H-3 ; ce dernier apparaît à 5,46 ppm sous forme d'un multiplet. Ces résultats conduisent à proposer un cycle A comme dans 16a ; nous sommes confortés dans notre hypothèse par un effet Cotton à 300 nm ($\Delta\epsilon = -1,27$ dans le dioxane) dans le spectre de Dichroïsme Circulaire, résultat en faveur d'une cétone non conjuguée en C-1. La présence dans le spectre de masse d'un pic significatif à 365,1622 (C₁₉H₂₅O₇) est aussi en faveur d'une telle hypothèse de structure. Le pic peut en effet être attribué à la perte, à partir de l'ion moléculaire, d'éléments du cycle A (C₈H₁₁O), consécutive à une rupture de la liaison C-9 - C-10 via

un réarrangement de Mac Lafferty, rupture elle-même suivie de celle de la liaison C-5 - C-6.

De nombreuses expériences de découplage de spin en RMN- ^1H permettent d'identifier, en accord avec la structure proposée 16a, les autres signaux dus aux protons des carbones portant des groupements oxygénés (Tableau VII.1).

L'acétylation de 16a conduit au dérivé acétylé 16b dont la formule brute attendue, $\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{O}_9$, est établie par spectrométrie de masse (M^+ à m/z 530).

L'étude du spectre RMN- ^1H de 16b et sa comparaison avec celui de 16a confirment les attributions données dans ce dernier spectre (Tableau VII.1). On observe en particulier un déplacement vers les champs forts du signal de H-17 et un déplacement vers les champs faibles de la résonance de H-21.

La structure 16a proposée pour le simarinolide a été confirmée par la comparaison de son spectre RMN- ^{13}C (Tableau VII.2) avec celui du simarolide et aussi avec ceux des quassinoïdes publiés antérieurement (11).

- Quassinoïde 17a : guanépolide

. pF : 282-284°C. $[\alpha]_D = -71^\circ$ (c=0,83 ; pyridine).

La formule brute du guanépolide, $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_9$, a été établie par la spectrométrie de masse : M^+ à m/z 502.

. Spectre UV : λ_{max} : 225 nm ($\epsilon=18825$)

Ce spectre est dû à la fois à la cétone α,β -insaturée et à la lactone α,β -insaturée. Le spectre du Dichroïsme Circulaire montre un effet Cotton : $\lambda_{\text{max}} = 324$ nm ($\Delta\epsilon=-0,92$, dans le dioxane).

. Spectre RMN- ^1H

Il révèle un groupement acétyle, 4 méthyles tertiaires, un système AB oléfinique (2 doublets à 5,70 et 6,71 ppm) et dans les champs faibles un signal aigu à 6,00 ppm (s), attribuable à H-15. De nom-

	<u>16a</u>	<u>16b</u>	<u>17a</u>	<u>17b</u>
H-2			5,70 d (10,2)	5,73 d
H-3	5,46 m	5,45 m	6,71 d (10,2)	6,67 d (10,1)
H-7	4,21 t	4,20 t	4,30 t	4,30 t (2,5)
H-9	2,82 d (10)	2,80 d (10)	2,18 d (5)	2,22 d (5)
H-11	5,00 dt (10;3,8)	5,32 dt (10;3,8)	~5,68 m	~5,70 m
H-15			6,00 s	6,01 s
H-17	5,25 d (2,3)	4,83 br.s	4,68 d (2,6)	4,41 (2,7)
H-21	3,87 dd (12;4)	4,21 m (2H)	3,70 q (10;4)	4,17 q (13;6)
	3,53 m		3,58 q	4,05 q
Me-4	1,67 br.s	1,68 br.s	1,44	1,41
Me	1,52	1,44	1,34	1,34
	1,24	1,24	1,28	1,30
	0,86	0,87	1,23	1,24
OAc	1,92	1,91	2,02	2,09
		2,08		2,04

TABLEAU VII.1 : RMN-¹H à 250 MHz de 16a, 16b, 17a, 17b (CDCl₃)

C-1	211,0	s
C-2	40,3	t
C-3	120,8	d
C-4	135,1	s
C-5	4,1	d
C-6	25,6	t
C-7	81,3	d
C-8	36,7	s
C-9	37,6	d
C-10	48,9	s
C-11	68,8	d
C-12	36,5	t
C-13	43,0	s
C-14	44,1	d
C-15	29,9	t
C-16 ^a	171,7	s
C-17	84,9	d
C-20	36,9	d
C-21	64,3	t
C-22	32,0	t
C-23	176,3	s
Me-4 ^b	20,3	q
Me-8	25,3	q
Me-10	12,1	q
Me-13	18,4	q
CH ₃ C=O ^a	170,6	s
CH ₃ C=O ^b	21,3	q

TABLEAU VII.2 : RMN-¹³C du quassinolide 16a (CDCl₃)

a,b : signaux pouvant être interchangés.

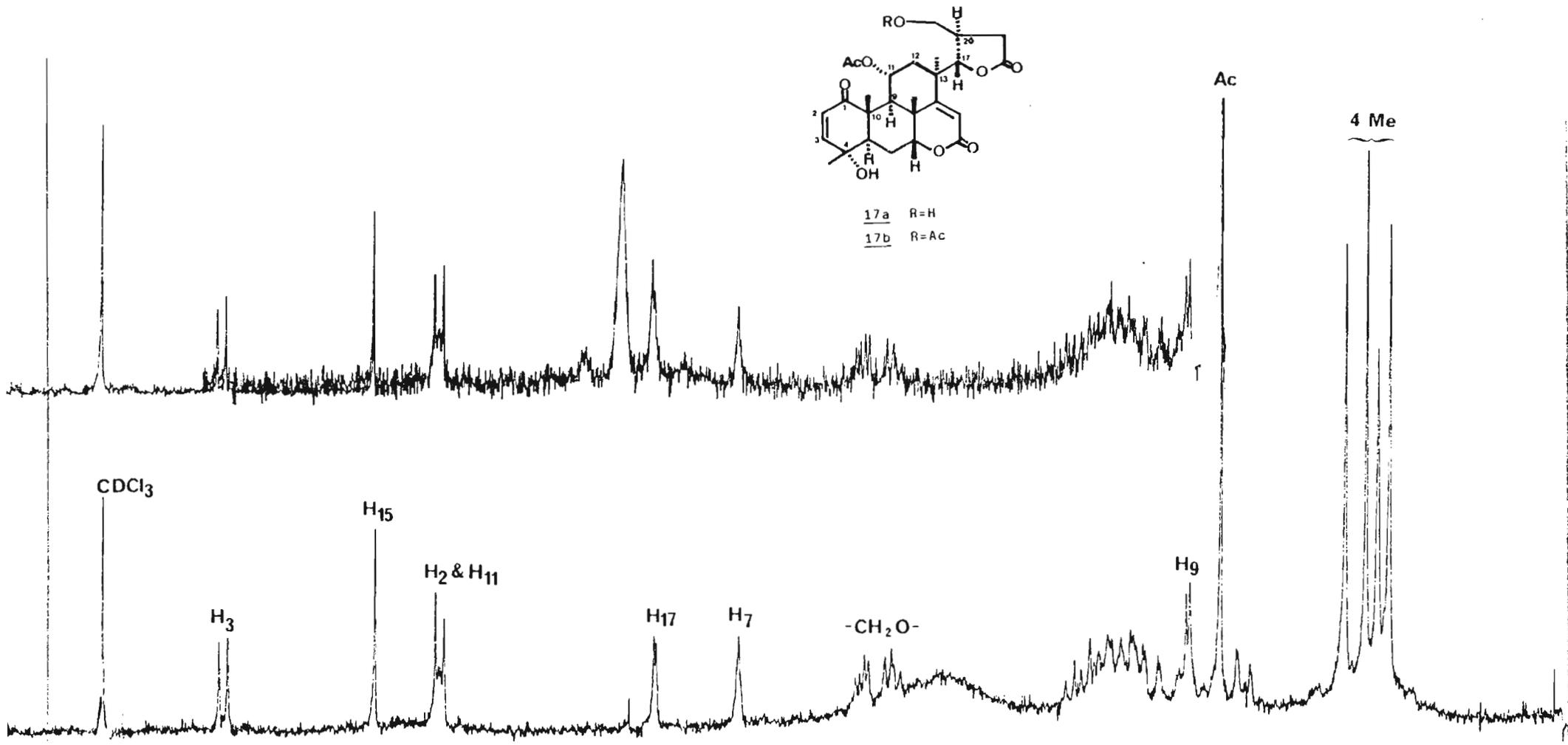


FIGURE VII.3 : Spectre RMN- ^1H à 250 MHz de **17a**

breuses expériences de découplages de spin permettent l'attribution de la plupart des signaux (Tableau VII.1).

La présence de la γ -lactone est attestée par la présence d'une abondante fragmentation à m/z 328, dans le spectre de masse. Cette fragmentation résulte probablement, comme dans le cas du soulamélide (23), d'un réarrangement de Mac Lafferty, mettant en jeu la double liaison C-14 - C-15, et conduisant à la rupture de la liaison C-13 - C-17 avec perte d'une mole d'acide acétique.

L'acétylation de 17a par le mélange pyridine - anhydride acétique conduit au dérivé acétylé 17b (pF : 270-272°C ; $C_{29}H_{36}O_{10}$; M^+ à m/z 544).

Le spectre RMN- 1H du dérivé acétylé 17b (Tableau VII.1) avec, en particulier, le déplacement vers les champs faibles de H-21 conforte l'attribution des signaux en RMN- 1H proposée pour le guanépolide et, par là même, la structure 17a proposée pour ce nouveau quassinoïde.

Le guanépolide diffère donc du soulaméolide 19 par la présence d'un groupement acétyle à la place d'un hydroxyle en C-11, et par la structure de leur cycle A. La structure proposée pour le guanépolide a été finalement prouvée par l'analyse aux rayons X d'un cristal de 17b (Fig. VII.1, p. 70).

- Quassinoïde 18 : déacétylsimarolide

. pF : 192-195°C.

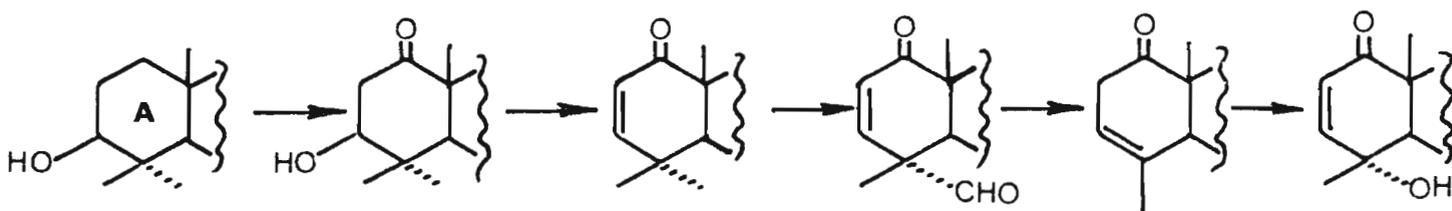
La formule brute de 18 : $C_{25}H_{34}O_8$ a été établie par la spectrométrie de masse, avec un pic moléculaire à m/z 462. Le poids moléculaire est donc inférieur de 42 u.m.a. à celui du simarolide 15.

L'acétylation douce (pyridine - anhydride acétique) conduit au simarolide (identité de masse, comparaison en CCM avec un échantillon authentique de simarolide).

Le composé 18 serait donc le simarolide déacétylé.

L'étude par diffraction aux rayons X confirme la structure proposée pour ce quassinolide et montre que celui-ci est un mélange de 2 épimères en C-18. Le composé pourrait être un artefact résultant, au cours de l'extraction, de l'hydrolyse du groupement acétyle du simarolide, accompagnée d'une racémisation, en α du groupement (C=O), du C-18.

La simarinolide et la guanépolide ont un cycle A non encore rencontré dans les quassinolides. Le guanépolide est le seul quassinolide à avoir 2 substituants en C-4, un groupe hydroxyle et un méthyle axial. Le cycle A de ces composés dériverait du précurseur triterpénique de la manière suivante :



Comme les 3 autres quassinolides en C-25 isolés, ils ne portent pas de groupements oxygénés en C-12, mais en possèdent un par contre en C-17, ce qui corrobore l'hypothèse selon laquelle les quassinolides de ce type seraient les intermédiaires de la biosynthèse des quassinolides en C-20 (Cf. II.2). L'introduction d'une fonction oxygénée en C-12 permettrait en effet la rupture de la liaison C-13-C-17.

Remarque : Depuis la réalisation de ces travaux, 2 autres quassinolides en C-25 ont été isolés d'Odyendea gabonensis Engl. : l'odyendane et l'odyendène (15).

VIII. PARTIE EXPERIMENTALE

Les points de fusion sont mesurés sur un microscope à platine chauffante REICHÉRT et ne sont pas corrigés.

Les pouvoirs rotatoires sont déterminés avec un polarimètre électronique ROUSSEL-JOUAN.

Les spectres UV sont enregistrés sur spectrophotomètres DUOSPAC 203, JOBIN-YVON ou PERKIN-ELMER Lambda.

Les spectres de masse sont déterminés en impact électronique à l'aide d'un spectrographe MS-50 ; les spectres en FAB sur un MS-80 RF (Kratos, Ltd).

Les spectres IR sont enregistrés sur un spectrophotomètre PERKIN-ELMER 257, dans le nujol.

Les spectres de RMN du ^1H à 400 MHz et du ^{13}C à 100,6 MHz sont enregistrés sur des appareils BRUKER AM-400, ou CAMECA 250, pour les spectres RMN- ^1H à 250 MHz.

Les spectres de Dichroïsme Circulaire sont enregistrés sur Dichographe II ROUSSEL-JOUAN ou JOBIN-YVON Mark 5.

Les chromatographies analytiques sur couche mince sont réalisées sur plaque de silice G-60 - type GF 254 MERCK -. La révélation se fait par extinction de fluorescence en lumière ultraviolette puis par pulvérisation d'acide sulfurique au demi et chauffage à l'étuve à 110°C neutres.

Les quassinoïdes développent dans ces conditions des couleurs allant du brun au rouge.

Les données cristallographiques ont été collectées sur un diffractomètre automatique à quatre cercles en utilisant les radiations CuK_α ou MoK_α .

. Picrolemma pseudocoffea Ducke

La matériel végétal a été récolté en mai 1982 dans la région du Bas-Oyapok en Guyane Française. Un herbier de référence a été déposé sous le n° CM 1292.

1. Ecorces de racines

Les écorces de racines (430 g), après avoir été broyées, sont dégraissées par percolation à l'hexane. Le marc est ensuite extrait à l'eau chaude (60-70°C) sous forte agitation. Cette opération est répétée 4 fois, jusqu'à disparition de l'amertume. Les solutions aqueuses réunies sont concentrées sous vide puis extraites en continu par du chloroforme. La solution chloroformique est ensuite évaporée sous vide. L'extrait chloroformique (2,1 g) est chromatographié sur une colonne d'un mélange (125 g) d'acide silicique et de célite (4/1) avec, comme éluants, du chlorure de méthylène contenant des quantités croissantes de méthanol.

Les fractions éluées avec du chlorure de méthylène contenant 2% de méthanol laissent, après évaporation du solvant un produit moussant (437 mg) qui cristallise dans l'acétate d'éthyle. La comparaison sur CCM avec plusieurs quassinoides connus montre qu'il s'agit probablement d'un quassinoides nouveau (sergéolide 2a).

Les fractions éluées avec du chlorure de méthylène contenant 3% de méthanol renferment un mélange de ce quassinoides avec un autre quassinoides plus polaire, l'isobrucéine B 1. Les 2 composés sont séparés par une nouvelle chromatographie sur colonne (acide silicique - célite, 4/1). Les quassinoides sont enfin purifiés par chromatographie préparative sur plaque de gel de silice, avec comme éluant le mélange acétate d'éthyle - méthanol (9/1) (éluant 1). On observe une inversion de la polarité de ces 2 composés en passant du mélange précédent au mélange CHCl_3 - CH_3OH (éluant 2). Avec l'éluant 2, le Rf

de l'isobrucéine B 1 est supérieur au Rf du sergéolide et inversement. L'isobrucéine B 1 et le sergéolide sont obtenus à l'état pur par recristallisation, le premier dans le mélange acétate d'éthyle - méthanol, le second dans l'acétone.

2. Feuilles

. Extraction et isolement des quassinoides

320 g de feuilles sont extraites en suivant le procédé employé pour les écorces de racines. On obtient un extrait chloroformique (Schéma II.4) de 2,2 g. Cet extrait est chromatographié sur une colonne d'un mélange de 120 g d'acide silicique et de célite (3/1) dans du chlorure de méthylène. Les fractions éluées avec du chlorure de méthylène contenant 2% de méthanol donnent après évaporation un résidu moussant (580 mg) qui s'avère être en CCM un mélange de sergéolide 2a et d'isobrucéine B 1. Les fractions éluées avec du chlorure de méthylène contenant 3% de méthanol fournissent, après évaporation du solvant, un autre quassinoides qui est obtenu à l'état pur par recristallisation dans le mélange $\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$: le déacétylsergéolide 3 (92 mg). L'éluution avec du chlorure de méthylène contenant 5% de méthanol fournit un autre composé, plus polaire ; celui-ci cristallise dans un mélange acétate d'éthyle - méthanol, sous forme de prismes incolores : la brucéine D 4 (25 mg).

1 Isobrucéine B $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$

- . pF : 255-258°C.
- . $[\alpha]_D = +27^\circ$ (c=1 dans MeOH).
- . IR (nujol) : 1750, 1730, 1660, 3420 cm^{-1} .
- . UV : λ_{max} (EtOH) : 248 nm ($\epsilon=12000$).
- . SM : m/z : 480 (M^+ , 3%), 462 (10), 438 (4), 420 (9),
151 (12), 135 (15), 43 (100).

2a Sergéolide $C_{25}H_{28}O_{11}$

- . pF : 202-206°C.
- . $[\alpha]_D = 103,3^\circ$ (c=1,21 dans MeOH).
- . IR (nujol) : 3420, 1750, 1730, 1660, 1620 cm^{-1} .
- . UV : λ_{max} (EtOH) : 275 nm ($\epsilon=20790$).
- . SM : m/z : 504 (M^{+} , 3%), 486 (2), 462 (10), 444 (9),
426 (4), 43 (100).
- . RMN- 1H et RMN- ^{13}C : Voir Tableaux IV.1 et IV.2.
- . Acétylation de 2a

Le sergéolide (62 mg) est acétylé par le mélange pyridine - anhydride acétique (1 ml ; 1/1), à température ambiante. Le dérivé diacétylé est extrait selon le procédé habituel et purifié par chromatographie sur plaque préparative de silice (solvant : $CHCl_3-CH_3OH$, 95/5). On obtient ainsi 48 mg de 2b, qui cristallise dans CH_3OH .

2b Diacétate de sergéolide $C_{29}H_{32}O_{13}$

- . pF : 210°C (décomposition).
- . $[\alpha]_D = -40,6^\circ$ (c=0,49 dans MeOH).
- . UV : λ_{max} (EtOH) : 278 nm ($\epsilon=15730$).
- . RMN- 1H : Voir Tableau IV.1.

3 15-Désacétylsergéolide $C_{23}H_{26}O_{10}$

- . pF : 295-300°C (décomposition).
- . $[\alpha]_D^{24} = -145^\circ$ (c=1 dans pyridine).
- . IR (nujol) : 1730, 1758, 1782 cm^{-1} .
- . UV : λ_{max} (EtOH) : 278 nm ($\epsilon=26514$).
- . SM haute résolution : M^{+} à m/z 462,1522 (calculé : 462,1526).
- . RMN- 1H : Voir Tableau IV.1.

. Conversion de 3 en 2a

A 10 mg de 3 on ajoute 2 ml d'un mélange anhydride acétique - pyridine (1/1). Le mélange est laissé 1 h à température ambiante. Le traitement habituel permet d'obtenir 10 mg de 2a, homogène en CCM (solvant CHCl_3 + 10% CH_3OH) ; ce composé est purifié par recristallisation dans l'acétone.

4 Brucéine D $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_9$

. pF : 288-290°C.

. SM : m/z : 410 (M^{+} , 1%), 392 (15), 374 (9), 271 (11),
249 (27), 232 (47), 151 (70), 95 (72), 43 (100).

. RMN-¹H : Voir Tableau IV.4.

. Simaba cuspidata

- Matériel végétal

L'échantillon a été récolté dans la région du Haut-Maroni en Guyane Française.

Herbier de référence : n° Moretti 355.

- Extraction et isolement des quassinoïdes

Les écorces de racines (1,4 kg) sont extraites en suivant le même procédé que celui utilisé pour les autres espèces. On obtient un extrait chloroformique moussant (9 g) qui donne par cristallisation dans CHCl_3 le quassinoïde 5 (0,2 g). Celui-ci est purifié par recristallisation dans l'éthanol 95° sous forme d'aiguilles incolores. Le composé s'avère être insoluble dans de nombreux solvants organiques et partiellement soluble dans le méthanol, l'éthanol, la pyridine.

Les eaux-mères sont chromatographiées sur une colonne de gel de silice (Kieselgel G-60). Les fractions éluées avec le mélange CHCl_3 - CH_3OH (95/5) fournissent un autre quassinoïde, 6 (60 mg). En augmentant la polarité de l'éluant, on obtient une quantité supplémentaire de 5 (0,12 g).

5 6 α -Tigloyloxychaparrine $C_{25}H_{34}O_9$

- . pF : 273-275°C.
- . $[\alpha]_D = +130^\circ$ (c=0,7 ; pyridine).
- . Microanalyse : Tr : C 62,25 ; H 7,06
 $C_{25}H_{34}O_9$ Calc. : 62,75 7,16.
- . RMN- 1H : Voir Tableau V.1.

. Acétylation de 5

Le composé 5 est acétylé par le mélange anhydride acétique - pyridine, mis en contact 24 h à température ambiante. L'extraction selon le procédé habituel conduit au dérivé tétraacétylé non cristallin 6.

- 6 . SM de 6 : m/z : 646 (M)⁺, 586, 444.
- . Dichroïsme Circulaire : $\lambda_{max} = 309$ nm ($\Delta\epsilon = -1,13$; C=1,48 g/l) dans le dioxane).
- . RMN- 1H de 6 : Voir Tableau V.1.

7 Trigloyloxychaparrinone $C_{25}H_{32}O_9$

- . pF : 229-231°C.
- . $[\alpha]_D = +156^\circ$ (c=0,81 dans le chloroforme).
- . UV : $\lambda_{amx} : 228$ nm ($\epsilon = 15500$).
- . SM : m/z : 476 (M⁺), 345, 245, 83, 55.
- . RMN- 1H : Voir Tableau V.1.

. Simaba multiflora Jussieu

- Matériel végétal

Les écorces de troncs et de racines ont été récoltées en août 1980 sur les rives du Maroni, en Guyane Française.

Herbier de référence : Moretti 1073.

Les fruits ont été récoltés sur les rives du Maroni en mai 1985.

Herbier de référence : Moretti 1400.

- Extraction des quassinoïdes

Les écorces de troncs (1 kg), les écorces de racines (1,6 kg) et les fruits (1,5 kg) sont extraits selon le procédé employé pour les autres espèces (Cf Picrolemma pseudocoffea).

L'extrait chloroformique obtenu pour chacun de ces organes s'avère être, après examens en CCM, un mélange complexe de quassinoïdes.

1. Ecorces de tiges

L'extrait chloroformique obtenu à partir des écorces de tiges (1,4 g) est chromatographié, une première fois sur une colonne d'un mélange d'acide silicique et de célite (2/1), avec comme éluant du chlorure de méthylène contenant une préparation croissante de méthanol (1 à 10%). Aucune des fractions n'est homogène.

Les fractions éluées avec CH_2Cl_2 contenant 5% de méthanol sont réunies (237 mg) et sont rechromatographiées sur le même absorbant.

La cristallisation dans l'acétate d'éthyle des fractions éluées avec le mélange CH_2Cl_2 - CH_3OH (95/5) donne 14,8 mg d'un nouveau quassinoïde, le karinolide 8 ; celui-ci est obtenu à l'état pur après recristallisation dans l'acétone.

2. Ecorces de racines

Une partie de l'extrait chloroformique (0,8 g) obtenu de cet organe est chromatographié sur une colonne d'un mélange d'acide silicique et de célite (2/1). Les fractions éluées avec un mélange $\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$ (99/1) fournissant par cristallisation dans l'acétate d'éthyle 34 mg d'un composé pur, 9 (6α -sénéciyloxychaparrinone). Les fractions éluées avec un mélange $\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$ (97/3) sont réunies (460 mg) et sont rechromatographiées dans les mêmes conditions. L'éluution avec un mélange $\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$ (97/3) fournit par cristallisation dans le mélange acétate d'éthyle - méthanol la 6α -sénéciyloxychaparrine 10 (210 mg).

3. Les fruits

L'extrait chloroformique obtenu à partir des fruits (2,6 g) est chromatographié sur colonne de gel de silice (150 g) avec comme éluant (chromatographie A, Tableaux VIII.1) du chloroforme contenant des quantités croissantes de MeOH. Les fractions sont ensuite groupées, par comparaison en CCM, selon leur polarité.

Les fractions 9 à 18 sont rechromatographiées sur colonne de gel de silice (27 g) (chromatographie B) avec comme éluant un mélange de solvant de polarité croissante (1 à 3% de méthanol dans le chloroforme). Les fractions éluées avec du chloroforme contenant 3% de méthanol fournissent la 6α -sénéciyloxychaparrinone 9 qui est purifiée par cristallisation dans l'acétone (62 mg ; $pF = 230\text{-}234^\circ\text{C}$).

L'identité ressort de la comparaison directe avec un échantillon authentique (CCM, SM, UV). Le produit est contaminé par un dérivé dihydrogéné comme le montre la spectrométrie de masse par ionisation chimique, avec des pics $(\text{MH})^+$ à m/z 477 et 479.

Eluant	N° fractions	Vol./Fract.	Poids	
CHCl ₃	1	1 l	0	
MeOH-CHCl ₃ 3%	2-8	500 ml	420 mg	huileux, jaune
"	9-18	75 ml	420 mg	solide, jaune, mélange→chromat.B
"	19-28	15 ml	42 mg	mélange
	29-32	15 ml	21 mg	mélange
	33-38	15 ml	155 mg	quassinoïde
	39-44	15 ml	15 mg	
	45-53	15 ml	~0	
MeOH-CHCl ₃ 5%	54-59	50 ml	117 mg	quassinoïde <u>10</u>
	60-65	100 ml	15 mg	
MeOH-CHCl ₃ 8%	65-80	100 ml	116 mg	mélange→chromat.C

TABLEAU VIII.1 : Chromatographie A de l'extrait CHCl₃ obtenu des fruits

Les fractions 33-38 de la chromatographie A (Tableau VIII.1) fournissent par cristallisation dans l'acétate d'éthyle la 12-déhydro-6 α -sénécioyloxychaparrine 13 (37 mg) qui cristallise dans le mélange acétate d'éthyle - méthanol sous forme de fines aiguilles incolores.

Des fractions 54-59 de la chromatographie A, on isole par cristallisation dans un mélange CHCl₃-CH₃OH un composé qui s'avère être identique à la 6 α -sénécioyloxychaparrine, par comparaison avec un échantillon authentique (10 : 12,7 mg ; pF : 280-284°C).

Les fractions les plus polaires de la chromatographie A, 65-80 (110 mg) sont rechromatographiées (chromatographie C) sur colonne de gel de silice avec comme éluant du chloroforme contenant des quantités croissantes de méthanol (3 à 5%). Cette nouvelle chromatographie permet d'isoler la 13,18-déhydro-6 α -sénécioyloxychaparrine

12 (12 mg) qui est purifiée par cristallisation dans le mélange $\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$.

Les eaux-mères sont chromatographiées sur plaques préparatives (éluant : $\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$, 95/5), puis sur colonne à basse pression de gel de silice (Kieselgel 60-H, éluant : isopropanol- CHCl_3 , 1/9), on obtient ainsi une quantité supplémentaire du même produit (20 mg).

8 Karinolide $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_8$

- . pF : 208-210°C.
- . UV : λ_{max} (EtOH) : 227 nm ($\epsilon=4260$) ; 295 nm ($\epsilon=10020$).
- . SM : m/z : 392 (M^+), 374, 356, 357 (métastable), 339 (métastable).
- . RMN-¹H à 250 MHz (dans un mélange $\text{CDCl}_3\text{-pyridine}$) (δ ppm) :
 - 1,16 (3H, d, Me-13) ; 1,44 (3H, s, Me-10) ;
 - 2,0 (3H, s, Me-4) ; 3,48 (1H, s, H-9) ;
 - 3,65 (1H, large s, H-12) ;
 - 3,62 (1H, d, J=9 Hz, système AB = $-\text{CH}_2\text{O}-$) ;
 - 3,75 (1H, d, système AB : $-\text{CH}_2\text{O}-$) ;
 - 3,98 (1H, large s, H-7) ; 5,61 (1H, d, J=1,5 Hz, H-3) ;
 - 6,27 (1H, d, J=1,7 Hz, H-6).

9 6 α -sénécioyloxychaparrinone $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_9$

- . pF : 248-252°C.
- . $[\alpha]_{\text{D}}$ = +203,6° (c=0,21 dans pyridine).
- . UV : λ_{max} (EtOH) : 227 nm ($\epsilon=22300$).
- . SM : m/z : 476 (M^+ , 4%), 376 (4), 358 (6), 345 (8), 245 (9), 83 (100).

10 6 α -sénécioyloxychaparrine $C_{25}H_{34}O_9$

- . pF : 280-286°C.
- . $[\alpha]_D = +240^\circ$ (c=0,06 dans la pyridine).
- . IR (NaCl) : 1740, 1650, 1450 cm^{-1} .
- . SM (IE) : m/z : 478 (M^+ , 8%), 460 (4), 359 (8), 301 (11), 247 (14), 245 (18), 83 (100).
- . RMN- 1H
 - 1,01 (3H, d, Me-13) ; 1,28 (3H, s, Me-10) ;
 - 2,05 (3H, s, Me-4) ; 1,91 (3H, s, Me-4') ;
 - 2,17 (3H, s, Me-5') ; 2,7 (s, H-9) ;
 - 3,54 (d, J=4 Hz, H-12) ; 3,74 et 4,14 (d, J=9,5 Hz, -CH₂O-) ; 4,1 (s, H-1) ; 4,52 (d, J=2 Hz, H-2) ;
 - 5,46 (dd, J=2,5, 11,5 Hz, H-6) ; 5,76 (s, H-2') ;
 - 6,13 (s, H-3).

. Acétylation de la 6 α -sénécioyloxychaparrine 10

A 16 mg du composé 10, on ajoute 0,4 cc de pyridine et 0,4 cc d'anhydride acétique ; le mélange est laissé 24 h à température ordinaire. Une extraction suivant le procédé habituel permet d'isoler le dérivé acétylé (10 mg) qui est purifié par chromatographie sur colonne d'acide silicique (éluant : CHCl₃-CH₃OH, 99/1), on obtient ainsi 8 mg de dérivé pentaacétylé 11.

- 11 . RMN- 1H de 11 à 250 MHz (dans CDCl₃) (δ ppm) :
 - 4,92 (d, J=7,2 Hz, H-1) ; 5,12 (m, H-2) ;
 - 5,30 (dd, J=12,2 Hz, H-6) ; 4,55 (large s, H-12) ;
 - 5,68 (s, H-2') ; 4,05 (d) et 4,57 (d, J=12 Hz, -CH₂OAc).
- . SM : m/z à 646 (M^+ , 0,4%), 486 (2), 444 (20), 83 (100).

12 13,18-6 α -sénécioyloxychaparrine C₂₅H₃₂O₉

- . pF : 241-244°C.
- . [α]_D = +332° (c=0,47 ; pyridine).
- . IR (nujol) : 1710, 1700, 1650 cm⁻¹.
- . UV : λ_{\max} (EtOH) : 218 nm (ϵ =17560).
- . SM (impact électronique) : 476,2029 (M⁺, 0,4% ; calc. :
476,2048), 458,1941 (0,04%), 246,0892 (C₁₄H₁₄O₄, 6%),
231,0657 (C₁₃H₁₁O₄, 1,5%), 83,0505 (22%),
68,9951 (100%), 55,0551 (6%) ;
(ionisation chimique) (NH₃ comme gaz vecteur) :
m/z : 494 (MNH₄)⁺, 476 (MNH₄-18)⁺.
- . RMN-¹H et ¹³C : Voir Tableaux VI.1 et VI.2.

13 12-Déhydro-6 α -sénécioyloxychaparrine C₂₅H₃₂O₉

- . pF : 250-255°C.
- . [α]_D = +95,7° (c=0,47 ; pyridine).
- . Dichroïsme Circulaire : λ_{\max} = 313 nm ($\Delta\epsilon$ =+0,18 ; c=0,49 g/l
dans le dioxane).
- . IR (nujol) : 1720, 1705, cm⁻¹.
- . SM (impact électronique) : 476,2046 (0,3%), 458,1941 (1,5%),
376,1518 (3%), 246,0882 (6%), 83,0208 (100%),
55,0549 (8%) ;
(ionisation chimique ; avec NH₃) : 494 (MNH₄)⁺, 40%),
476 (MNH₄⁺-H₂O, 100%), 459 (11%).
- . RMN-¹H et ¹³C : Voir Tableaux VI.1 et VI.2.

L'acétylation de 13 (6,5 mg) par le mélange pyridine-anhydride acétique, mis en contact 24 h à température ambiante, conduit au dérivé acétylé 14. (3,5 mg), cristallisé dans MeOH.

14 . pF : 156-158°C.

. SM (FAB) : m/z : 585 (100%), 543, 369.

. RMN-¹H à 400 MHz (pyridine-d₅) (δ ppm) :

1,71, 1,86, 1,91 et 2,24 (singulets, 3H chacun) ;

3,82 (1H, s, H-9) ; 4,78 (1H, d, J=13 Hz) et

5,06 (1H, d, J=13 Hz) (AB, -CH₂O-) ; 5,36 (1H, d,

J=2,0 Hz, H-7) ; 5,70 (1H, s, H-12) ; 5,70 (1H, s, H-2') ;

5,85 (1H, ls, H-3).

. Simaba morettii Feuillet

Le matériel végétal a été récolté dans la région de Sinnamary, en Guyane Française.

Herbier de référence : Moretti 1275.

Les fruits ont été récoltés en mars 1984.

- Extraction des quassinoïdes

L'extraction et l'isolement des quassinoïdes des écorces de racines ont été effectuées par Mme POLONSKY et son équipe à l'ICSN-CNRS.

725 mg de péricarpes sont extraits selon le procédé décrit plus haut (§ Picrololoma pseudocoffea). On obtient ainsi un extrait chloroformique de 5,4 g. Une partie de cet extrait est chromatographiée sur une colonne d'acide silicique mélangé à de la célite (4/1). L'éluant est le chloroforme auquel on ajoute des quantités croissantes de méthanol.

Les fractions éluées avec CHCl₃ contenant 2% de CH₃OH, fournissent après évaporation du solvant le simarolide 15 qui est recristallisé dans l'acétate d'éthyle.

L'identité ressort de la comparaison directe avec un échantillon authentique (pF, CCM, SM, RMN-¹H).

Les fractions éluées avec CHCl₃ contenant 3% de CH₃OH fournissent un autre composé qui est recristallisé dans le méthanol (quassinoïde 18 déacétylsimarolide, 172 mg).

15 Simarolide $C_{27}H_{36}O_9$

- . pF : 264-270°C.
- . $[\alpha]_D = +72,6^\circ$ (c=0,78 ; $CHCl_3$).
- . SM : M^+ à m/z 504.

Identifié par comparaison avec un échantillon authentique de simarolide.

16a Simarinolide $C_{27}H_{36}O_8$

- . pF : 208-210° (décomposition).
- . $[\alpha]_D = +23,7^\circ$ (c=0,84 ; pyridine).
- . IR (nujol) : 1718, 1710, 1740 cm^{-1} .
- . SM haute résolution : M^+ à m/z 488,2408
428,2229 ($C_{25}H_{32}O_6$), 400,2213 ($C_{24}H_{32}O_5$),
385,2040 ($C_{23}H_{29}O_5$), 365,1622 ($C_{19}H_{25}O_7$).
- . Dichroïsme Circulaire : λ_{max} : 300 nm ($\Delta\epsilon=1,27$, dans le dioxane).
- . RMN- 1H et RMN- ^{13}C : Voir Tableaux VII.1 et VII.2.

17a Guanépolide $C_{27}H_{34}O_9$

- . pF : 282-284°C.
- . $[\alpha]_D = -71^\circ$ (c=0,83 dans la pyridine).
- . UV : λ_{max} (EtOH) : 225 nm ($\epsilon=18825$).
- . Dichroïsme Circulaire : λ_{max} : 324 nm ($\Delta\epsilon=-0,92$ dans le dioxane).
- . RMN- 1H : Voir Tableau VII.1.

L'acétylation de 17a, suivant le procédé habituel (pyridine-anhydride acétique), conduit au dérivé acétylé 17b.

- 17b . pF : 270-272°C.
- . SM : M^+ à m/z 544.
- . RMN- 1H : Voir Tableau VII.1.

CHAPITRE 3

Activités biologiques

I. INTRODUCTION

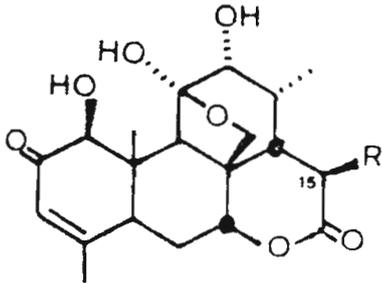
Diverses maladies parasitaires, largement répandues dans le monde tropical, constituent de sévères problèmes de santé publique pour les pays en voie de développement, à la fois par le taux de mortalité qu'elles entraînent ainsi que par leur morbidité vis-à-vis de la population atteinte (paludisme, trypanosomiases, bilharzioses, leishmanioses). Pour la plupart d'entre elles, les thérapeutiques sont soit insuffisantes, soit inefficaces, souvent toxiques.

Dans le cas du paludisme (maladie faisant annuellement environ 1.000.000 de morts), la résistance de Plasmodium falciparum vis-à-vis des amino-4-quinoléines et plus récemment vis-à-vis de l'association sulfadoxine-pyriméthamine pose le problème de la recherche de nouvelles molécules en terme d'urgence.

Or, ces recherches sont depuis peu grandement facilitées par les possibilités de mise en culture continue de lignées de P. falciparum.

Les enquêtes ethnobotaniques ont montré que, à l'exception de Simaba cuspidata et S. multiflora, dont les usages relevés sont plus particuliers, les autres espèces guyanaises de Simaroubacées sont fréquemment employées comme fébrifuge-antipaludique, insecticide et vermifuge (Cf 1ère partie). Ces propriétés pharmacologiques communes aux Simaroubacées sont directement en rapport avec la pathologie propre à l'Amérique tropicale, essentiellement de nature parasitaire.

Il nous est donc paru utile d'entreprendre l'étude des propriétés antipaludiques et insecticides des Simaroubacées guyanaises. Cette recherche était rendue possible par la conjonction de deux facteurs : d'une part la présence à l'Institut Pasteur de Cayenne

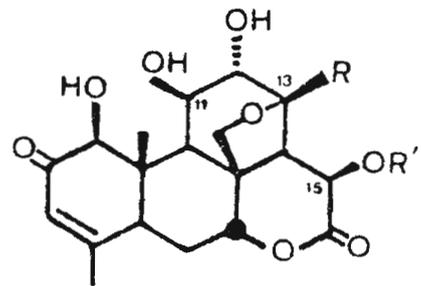


20 Chaparrinone R=H

21 15 β -Heptylchaparrinone
R=[CH₂]₆CH₃

22 Glaucarubinone
R=OCO[CH₃][OH]CH₂CH₃

23 Sculaméanone R=OCOCH₂-C(CH₃)₂OH



24 Simalikalactone D

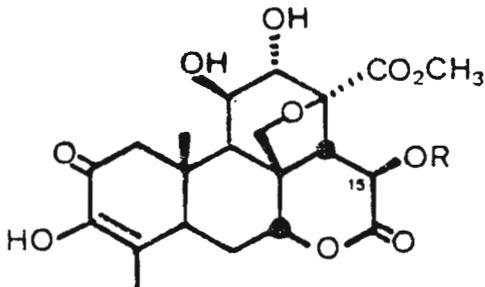
R=CH₃

R'=COCH[CH₃]C₂H₅

25 Isobrucéine A

R=CO₂CH₃

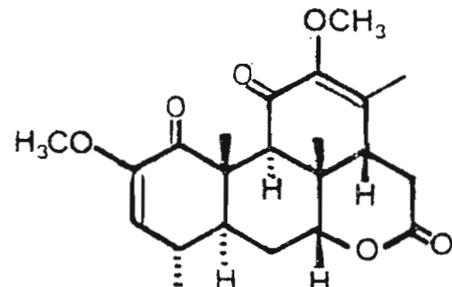
R=COCH₂CH[CH₃]₂



26 Brucéantine R=COCH=CCH(CH₃)₂

27 Brucéine A R=COCH₂-CH(CH₃)₂

28 Brucéine B R=COCH₃



29 Quassine

Structures des quassinoides cités dans le texte pour leurs activités biologiques

d'un Laboratoire de Parasitologie et Immunologie du Paludisme possédant une compétence dans la culture in vitro de Plasmodium falciparum ; et d'autre part par la présence au sein de notre Institut d'un Laboratoire d'Entomologie, situé aux S.C.C. de l'ORSTOM à Bondy, et spécialisé dans la lutte contre les vecteurs.

Mais les quassinoides possèdent d'autres activités biologiques que nous passerons rapidement en revue, en commençant par les propriétés antinéoplasiques qui sont à l'origine de l'intérêt croissant porté à ces produits au cours de ces dernières années.

II. ACTIVITES ANTINEOPLASIQUES

II.1. Activité antinéoplasique des quassinoides

De nombreux quassinoides montrent une activité antileucémique in vivo (25). La brucéantine a atteint le stade des essais cliniques aux USA, dans le cadre du programme du National Cancer Institute. Ce quassinotide, actif à des doses variées, est aussi actif sur les tumeurs solides (26). Le métabolisme de ce composé a par ailleurs été étudié sur la souris (27). Dans le tableau III.1. sont reportés quelques quassinoides parmi les plus actifs contre la leucémie murine P-388 : LIAO et al. (26) ont mis en évidence l'action inhibitrice irréversible des esters du brucéolide sur la synthèse protéique dans le système HeLa.

L'étude des relations structures - activités (28) a montré que les motifs structuraux indispensables pour que se manifeste l'activité antinéoplasique sont les suivants :

- 1) groupement céto α, β -insaturé en position 1 et 2 ou groupement diosphénol en position 2 et 3 ;
- 2) pont époxy méthylène entre C-8 et C-11 ou C-8 et C-13 ;
- 3) groupement ester en C-15 et/ou C-6.

Quassinoïdes	Dose optimale (mg/kg)	T/C
Glaucarubinone <u>22</u>	0,25	177
Ailanthinone <u>30</u>	2,0	148
Simalikalactone <u>D 24</u>	1,0	198
Brucéantine <u>26</u>	0,5	220
Brucéantinol <u>31</u>	1,0	238
Isobrucéine A <u>25</u>	2,0	163

TABLEAU II.1. : Activité antileucémique de quelques quassinoïdes choisis parmi les plus actifs (d'après CASSADY et SUFFNESS, 1980 (25))

II.2. Activité antinéoplasique des quassinoïdes isolés

Dans le tableau II.2 nous indiquons l'activité antinéoplasique des quassinoïdes que nous avons isolés des Simaroubacées guyanaises T/C est le rapport (x100) entre le groupe d'animaux survivant traité et le groupe survivant de contrôle, non traité. Le rapport doit être supérieur à 120 pour que le composé soit considéré comme actif (25).

Ces résultats permettent de tirer les conclusions suivantes :

Les dérivés de la chaparrinone substitués en 6 - quassinoïdes 7, 9 et 13 - manifestent une bonne activité antinéoplasique. Ces résultats corroborent ceux de FARNSWORTH (14) et montrent que pour que se manifeste une activité antinéoplasique significative, il faut un ester en position 15 ou en 6. Par ailleurs, le système α -cétol dans le cycle A semble jouer un rôle important puisque les quassinoïdes 5 et 10, avec un groupement α -glycol dans le cycle A sont peu actifs.

Le système buténolide du sergéolide 2a qui joue ici le rôle d'un récepteur de type MICHAEL est probablement à l'origine de la cytotoxicité de ce produit.

Activité antileucémique Quassinoïdes		in vivo		in vitro	Réf.
		P388 -T%/C	Doses (mg/kg)	"KB cells" ED ₅₀	
<u>1</u>	Isobrucéine B	140	1		25
<u>2</u>	Sergéolide*	140	0,5		
<u>3</u>	Déacétylsergéolide*	150	0,63	8,4 x 10°	
		169	1,25		
<u>4</u>	Brucéine D ^a				13
<u>5</u>	6α-Trigloyloxychaparrine*	inactif à dose 2ml/kg		0,24	
<u>7</u>	6α-Tigloyloxychaparrinone	134	0,08	0,01	17
		163	0,6		
<u>9</u>	6α-Sénéciocyloxuchaparrinone	136	2,5	0,003	15
		133	1,25		
		176	0,63		
		145	0,31		
<u>10</u>	6α-Sénéciocyloxychaparrine*	133	3,0	0,03	14
		133	1,5		
		160	0,75		
		142	0,38		
<u>13</u>	13,18-Déhydro-6α-séné- ciocyloxychaparrine*			1,7 µg/ml	
<u>12</u>	12-Déhydro-6α-sénécioyl- oxychaparrine*			inactif	

* Quassinoïdes nouveaux

a : Activité de la brucéine D évaluée sur la lignée Walker 256 (13)

TABLEAU I.2. : Activité antileucémique des quassinoïdes isolés

Il semble, par ailleurs, compenser l'absence d'ester en C-15 ou C-6.

Les quassinoides en C₂₅, isolés de Simaba morettii ne possèdent pas de pont époxy méthylène et sont inactifs, conformément aux relations structures - activités énoncées plus haut.

III. MESURE DE L'ACTIVITE ANTIPLASMODIALE IN VITRO ET IN VIVO DE 2 QUASSINOIDES : LE SERGEOLIDE ET L'ISOBRUCEINE B

III.1. Travaux antérieurs

Récemment, TRAGER et POLONSKY ont mis en évidence la forte activité antipaludique in vitro des quassinoides (29). Cinq quassinoides ont été testés : la glaucarubinone, la soularubinone, la simalikalactone D, le simarolide et la chaparrinone (Fig. III.1).

Le plus actif est la simalikalactone D qui provoque une complète inhibition de la croissance des cultures de Plasmodium falciparum à la dose de 0,002 µg/ml. La glaucarubinone et la soularubinone sont également actifs à 0,006 µg/ml, alors que la chaparrinone et le simarolide ont un faible effet à 0,01 µg/ml.

Les résultats montrent que l'activité antimalariale des quassinoides testés est parallèle à leur activité antileucémique. En conclusion, les auteurs recommandent l'essai in vivo, sur animal impaludé, de ces produits très actifs.

Poursuivant les travaux de TRAGER et POLONSKY, nous avons cherché à évaluer l'activité antiplasmodiale in vitro et in vivo de 2 quassinoides isolés de Picrolemma pseudocoffea, une espèce réputée antipaludique au Brésil et en Guyane (Cf Chapitre I). L'un des quassinoides, le sergéolide, possède par ailleurs, comme nous l'avons indiqué au paragraphe précédent, une activité anticancéreuse remarquable.

Les essais ont pu être réalisés grâce à la collaboration du Dr J.P. DEDET et de T. FANDEUR, du Laboratoire de Parasitologie-Immunologie de l'Institut Pasteur de Cayenne.

III.2. Méthodes et techniques

- Le principe du test in vitro repose sur l'inhibition de la multiplication du Plasmodium cultivé sur globules rouges de sang humain.

L'étude de l'activité antiplasmodiale in vitro du sergéolide a été réalisée sur 4 souches de Plasmodium falciparum :

- 1 souche Ouganda palo alto chloroquine sensible (FUP) strain,
- 3 souches d'origine brésilienne classées suivant la méthode de Rieckman comme chloroquine résistante.

Les souches proviennent de sang parasité, prélevé sur des patients ; les cellules sanguines sont ensuite mises en culture continue. Les cultures ont été réalisées selon la méthode de TRAGER et JANSEN (30) : une lecture de parasitémie est effectuée avant la mise en contact avec l'extrait dissous dans de l'éthanol à 70°C, puis 48 h et 96 h après. On réalise un triplicat de culture pour l'essai, le témoin parasitémie et le témoin éthanol.

- L'activité antipaludique in vivo du sergéolide a été évaluée et comparée à celle de la chloroquine, par le biais d'un test suppressif classique de 4 jours contre le paludisme expérimental du rongeur à Plasmodium berghei.

Nous résumons ici le protocole expérimental suivi (24) : 80 souris Swiss (poids : 29 ± 1 g) ont été inoculées par voie intrapéritonéale avec 10^7 hématies parasitées avec la souche NK-65, chloroquine sensible, de P. berghei*. Le jour de l'infection a été noté J0 et les suivants J+1, J+2, etc... Les animaux, groupés par 10, ont ensuite été traités par voie S/C de J0 à J+3, avec différentes doses de sergéolide (0,26, 0,09 et 0,026 mg/kg/J) ou de chloroquine (1,3, 0,4 et 0,13 mg/kg/J). L'effet suppressif des produits a été évalué à J+4 sur des frottis colorés au Giemsa, par rapport à un groupe de 10 souris témoin, traité avec de l'eau physiologique.

* Souches fournies par J.P. VANDERBERG (New York, USA).

Au quatrième jour on établit la parasitémie de chaque souris et l'on calcule la dose effective 50 (DE50).

III.3. Préparation des solutions

Une solution éthanolique initiale du sergéolide est ajustée à la concentration de 3 mg/ml.

Pour l'étude in vitro, une solution mère du produit à tester est préparée par dilution (1/10) de la solution éthanolique avec du milieu de culture RPMI, sans bicarbonate. La solution, stérilisée, est ensuite diluée pour obtenir des concentrations finales comprises entre 0,002 et 0,5 µg/ml. Des solutions de chloroquine sont préparées de la même manière à partir de bisulfate de chloroquine, mais dans ce cas la solution initiale a été préparée directement en milieu salin.

Des solutions de contrôle contenant des quantités d'éthanol égales à celles introduites avec les solutions testées de sergéolide sont aussi préparées à partir d'un mélange de RPMI contenant 10% d'alcool éthylique.

Pour les mesures de toxicité aiguë et de l'activité antimalariale in vivo du sergéolide, la solution éthanolique d'origine est diluée avec une solution saline normale, de telle sorte que les concentrations finales en sergéolide soient comprises entre 0,0015 et 1,2 mg/ml

III.4. Mesure de la toxicité aiguë du sergéolide

- Des injections sous-cutanées (0,5 ml) de doses croissantes de sergéolide (0.3, 2.2, 6.6, 19.8 mg/kg) sont administrées à des groupes de 10 souris Swiss (élevage de l'Institut Pasteur, poids moyen 30 ±2 g). La mortalité est notée après 72 h.

Afin de déterminer la toxicité de l'éthanol, des groupes de contrôle de 10 souris ont été traités avec différentes dilutions en éthanol (1/167, 1/23, 1/7.5, 1/2.5) correspondant aux doses injectées avec le sergéolide.

- La dose létale 50 (DL50) du sergéolide a été déterminée à partir du graphe obtenu en portant les pourcentages de mortalité (échelle Probit) en fonction des doses (échelle logarithmique) :

DL50 du sergéolide : 1,8 mg/kg.

III.5. Résultats

. Activité in vitro

- Les cultures de la souche chloroquine sensible FUP de P. falciparum (Tableau III.1) sont fortement inhibées par le sergéolide. Pour de très faibles concentrations (0,002 et 0,006 µg/ml), cette inhibition est de l'ordre de 50% ; elle devient quasi-totale pour des concentrations supérieures (0,018 µg/ml).

En ce qui concerne la chloroquine, son activité anti-plasmodiale ne devient véritablement significative que pour des concentrations >0,018 µg/ml.

Par ailleurs, l'observation des parasitémies différentielles développées par les différentes catégories de culture semble indiquer que, comme la chloroquine, le sergéolide est simultanément efficace contre tous les stades parasitaires asexués circulants.

- La croissance in vitro des trois souches chloroquine résistante de P. falciparum (y compris l'isolat 97/83 ayant démontré in vivo une résistance à l'association quinine/fansidar) est également fortement inhibée par le sergéolide. Ce produit est très actif à des concentrations >0,006 µg/ml, alors qu'une activité inhibitrice identique ne peut être obtenue, en ce qui concerne la chloroquine, qu'avec des concentrations 100 fois supérieures (0,5 µg/ml) (Fig. III.1).

. Activité in vivo

Sur les courbes A pour le sergéolide, B pour la chloroquine (Fig. III.1) sont portées en abscisse les doses journalières en mg/kg (échelle : Log), en ordonnée, les pourcentages d'activité (échelle

Concentrations µg/ml	Parasitémie après 24 h				Parasitémie après 48h de cultures ⁺⁺				Inhibitions % ⁺⁺⁺
	%	R %	T %	S %	%	R %	T %	S %	
0	0,9 ± 0,1	86	10	4	1,4 ± 0,1	68	13	9	0
0,5	0,16 ± 0,02	100	0	0	0,09 ± 0,08	100	0	0	94
0,17	0,09 ± 0,02	83	11	6	0,10 ± 0,01	100	0	0	93
0,5	0,12 ± 0,02	88	6	6	0,08 ± 0,02	100	0	0	94
SG 0,018	0,33 ± 0,13	93	7	0	0,23 ± 0,05	100	0	0	84
0,006	0,4 ± 0,1	96	4	0	0,63 ± 0,09	100	0	0	55
0,002	0,63 ± 0,07	93	5	2	0,8 ± 0,2	66	27	7	43
0,5	0,21 ± 0,05	63	37	0	0,07 ± 0,01	78	22	0	95
0,17	0,13 ± 0,02	84	16	0	0,10 ± 0,01	82	18	0	93
0,05	0,29 ± 0,02	95	3	2	0,23 ± 0,04	79	21	0	84
CL 0,018	0,51 ± 0,03	94	5	1	0,35 ± 0,03	81	17	2	75
0,006	0,53 ± 0,05	88	6	6	1,2 ± 0,1	67	14	19	14
0,002	0,63 ± 0,09	88	8	4	1,2 ± 0,1	67	11	22	14
1:6,000	0,72 ± 0,02	89	6	5	1,3 ± 0,2	68	18	14	7
1:18,000	0,7 ± 0,1	86	9	5	1,4 ± 0,2	56	17	27	0
1:54,000	0,81 ± 0,07	84	12	4	1,3 ± 0,1	59	17	24	7
EtOH 1:162,000	0,58 ± 0,17	90	7	3	1,49 ± 0,02	50	25	25	0
1:486,000	0,71 ± 0,04	80	13	7	1,2 ± 0,3	63	11	26	14
1,1460,000	0,5 ± 0,2	84	13	3	1,3 ± 0,2	60	15	25	7

° : Sg : sergéolide ; CL chloroquine ; EtOH : éthanol

++ Les pourcentages de parasitémie sont les valeurs moyennes calculées à partir des triplicates

+++ Les pourcentages d'inhibition furent calculés après 48 h par rapport à une culture de contrôle sans drogue

TABLEAU III.1 : Activité antipaludique du sergéolide *in vitro* sur une souche chloroquine sensible (FuP) de Plasmodium falciparum

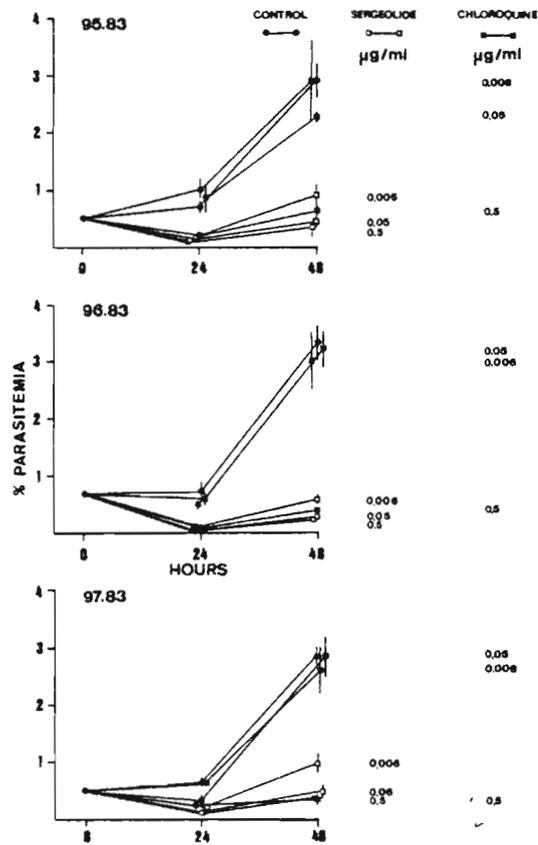
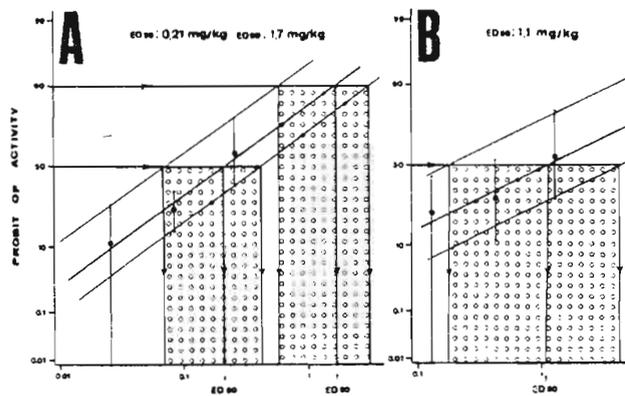


FIGURE III.1 : Effet du sergélolide sur 3 souches chloroquines résistantes de Plasmodium falciparum



A : sergélolide ; B : chloroquine

Effet in vivo du sergélolide et de la chloroquine sur la souche NK 65 de Plasmodium berghei chez la souris

Probit). Les courbes permettent de calculer la dose efficace minimum (DE50) capable de réduire de moitié la virulence de l'infection de P. berghei induite expérimentalement sur la souris.

Les résultats sont les suivants :

Sergéolide : DE50 = 0,21 mg/kg/J
 DE90 = 1,7 mg/kg/J
 Chloroquine : DE50 = 1,1 mg/kg/j.

Le groupe de 10 souris traité avec 0,5 ml d'une solution éthanolique diluée au 1/200ème, correspondant à la quantité d'éthanol injectée avec la plus forte dose de sergéolide (0,26 mg/kg/J), développe à J+4 une parasitémie identique à celle du groupe de contrôle traité avec une solution saline normale.

III.6. Discussion

Le sergéolide est donc très actif in vivo avec une DE50 5 fois inférieure à celle de la chloroquine, mais avec une DE90 proche de la DL50, il s'avère donc trop toxique pour présenter un intérêt dans le traitement du paludisme.

L'isobrucéine B, un autre quassinolide isolé de la même espèce, manifeste aussi une activité antiplasmodiale in vitro (Tableau III.2). Celle-ci est cependant 5 fois plus faible que celle du sergéolide. La DL50 calculée pour l'isobrucéine B est approximativement de 5 mg/kg.

Les résultats montrent que les propriétés antimalariales de Picrolemma pseudocoffea peuvent être attribuées au sergéolide et, dans une moindre mesure, à l'isobrucéine B. Mais, compte tenu de la grande toxicité de ces principes actifs, le problème de son utilisation en médecine traditionnelle reste entier. Il faudrait recueillir plus d'informations sur les modes de préparation, sur les dosages, sur la durée du traitement, et aussi sur l'état immunitaire des personnes ainsi soignées.

Drogue $\mu\text{g/ml}$	% de parasitémie aux heures		% inhibition
	0	24	
A Témoins	0,6 \pm 0,1 (R:21, T:28, S:51)	0,2 \pm 0,3 (R:15, T:50, S:35) ^{°°}	-
EtOH 1:10.000 [°]	"	0,2 \pm 0,3 (R:20, T:52, S:28)	-
0,001	"	1,95 \pm 0,15 (5:15, T:32, S:33)	3
0,01	"	0,91 \pm 0,15 (R:83, T:16, S:1)	55
Iso 0,1	"	0,022 \pm 0,003 (R:100, -----)	99
0,1	"	0,03 \pm 0,01 (R:100, -----)	99
<hr/>			
B Témoins	0,3 \pm 0,1 (R:69, T:25, S:6)	1,10 \pm 0,05 (R:91, T:5, S:4)	-
EtOH 1:10,000	"	1,1 \pm 0,1 (R:93, R:5, S:2)	-
0,001	"	0,9 \pm 0,2 (R:97, T:3, S:0)	18
0,01	"	0,20 \pm 0,07 (R:73, T:26, S:1)	82
Iso B 0,1	"	0,07 \pm 0,01 (R:100, ----)	94
1,0	"	0,06 \pm 0,01 (R:100, ----)	95

° 1:10,000 correspond à la quantité d'éthanol introduite avec 1,0 $\mu\text{g/ml}$ d'isobrucéine

°° R : ring ; T : trophozoite ; S : schizonte

TABLEAU III.2 : Activité antipaludique de l'isobrucéine B, *in vitro* sur la culture de *Plasmodium falciparum* (souche Palo Alto chloroquine sensible A ; souche 97/83 chloroquine résistante B)

NOTE :

La réputation de Quassia amara comme antipaludique - cette espèce fut même à certaines époques proposée en Europe en remplacement du Quinquina (Cf Ière Partie) - n'a pas été confirmée. En effet, contrairement aux quassinoïdes précédents, la quassine, principal quassinoïde de cette espèce, n'a pas d'activité antiplasmodiale (31).

IV. PROPRIETES INSECTICIDES ET INAPPETANTESIV.1. Revue bibliographique1. Essais sur le criquet migrateur, Locusta migratoria

Les premiers essais sur les propriétés inappétantes des quassinoïdes ont été réalisés sur les larves de Locusta migratoria - 3ème stade (32). La brucéine A, la brucéine B, la chaparrinone, la glaucarubinone et la simalikalactone D ont une activité antiappétante significative. L'effet est réel mais inégal ; le tableau suivant indique l'effet des différents quassinoïdes testés :

Effets des quassinoïdes testés sur la prise de nourriture des larves de Locusta migratoria, exprimé en % de réduction de la consommation (d'après ODJO et al., 1981).

	%		%
Soulaméolide	0	Chaparrinone	28
Simarolide <u>10</u>	1	Brucéine A	34
Soulaméanone	1	Brucéine B	35
Simalikalactone D	25	Glaucarubinone	40

Les produits les plus actifs sont toxiques pour l'insecte au-delà d'une certaine dose.

La DL50 a été calculée sur les 2 produits les plus toxiques :

Brucéine B	: 24 mg/g	après 24 h
	12 mg/g	après 48 h
Glaucarubinone	: 12 mg/g	après 24 h
	4,5 mg/g	après 48 h.

2. Essais sur Epillachna vavestis et Spodoptera eridania

D'autres essais ont été réalisés pour mesurer les propriétés antiappétantes de 13 quassinoides sur Epillachna vavestis, Mulsant et Spodoptera eridania 5ème stade larvaire (33). Les quassinoides testés sont actifs sur le premier insecte à des doses comprises entre 500 et 10 ppm. Ces mêmes quassinoides sont moins actifs sur le 2ème insecte, consommateur plus vorace et polyphage. La Simalikalactone D, la brucéantine, l'isobrucéine A, la glaucarubinone montrent une activité antiappétante significative à 200 ppm. Ces quassinoides possèdent les mêmes éléments structuraux nécessaires aussi à l'activité antinéoplasique. Par contre, la quassine, quassinoides non cytotoxique, montre une activité antiappétante vis-à-vis des 2 insectes.

3. Propriétés antiappétantes du sergéolide -

Essais sur Schistocera gregaria, criquet pélerin

Plus récemment, l'étude de l'effet de 3 quassinoides sur la prise de nourriture et la survie des larves d'un autre criquet, Schistocera gregaria - criquet pélerin - (Orthoptera, Acridae), 2ème stade larvaire, a été réalisée aux laboratoires d'Entomologie de l'ORSTOM à Bondy (34). Les 3 produits testés sont : le sergéolide 2a la glaucarubinone et la quassine.

Ces expériences mettent en évidence un effet très puissant du sergéolide et de la glaucarubinone sur l'activité élémentaire et la survie des larves du criquet pélerin, S. gregaria (Tableau suivant)

Concentrat. en ppm Produits	% de réduction de la consommation								
	1000	500	200	100	50	25	10	5	1
Glaucarubinone	99,9	99,0	96,6	93,2	92,1	88,7	74,0	64,0	45
Sergéolide <u>10</u>	92,0	91,5	91,5	93,6	91	87,0	74,8	55,2	1,68
Quassine	76,2	31,3	0	-	-	-	-	-	-

TABLEAU IV.1 : Effets de différentes concentrations de quassinoides sur la prise de nourriture des larves de *S. gregaria* (exprimé en pourcentage de réduction de la consommation) (d'après DESROUILLERES, 1985)

L'effet antiappétant de la quassine est nettement plus faible que celui du sergéolide ou de la glaucarubinone ; en effet, elle perd toute activité à 500 ppm, alors qu'à cette concentration le sergéolide et la glaucarubinone induisent une forte réduction de l'appétit. Ces 2 derniers quassinoides sont toxiques pour les larves, mais cette toxicité ne se manifeste qu'au bout de 48 h, alors que l'action de la quassine est rapide mais fugace et relativement faible. Il y a donc une différence importante d'activité entre la quassine et les 2 autres quassinoides. La quassine provoque une paralysie de l'animal, ce qui suggère une action au niveau du système nerveux central de l'animal. La DL50 du sergéolide par ingestion, après 12 h, a été déterminée : DL50 : 3,13 ug/g. En revanche, celle de la glaucarubine n'a pu être mesurée par les auteurs.

En conclusion : Parmi les quassinoides que nous avons isolés, le sergéolide montre une forte activité antiappétante et insecticide.

L'activité antiappétante et insecticide des quassinoides varie suivant l'insecte testé. Ainsi, la glaucarubinone et le sergéolide sont toxiques vis-à-vis du criquet pélerin. Par contre, la quassine est sans effet sur cet insecte alors qu'elle est toxique pour les aphides et les tenthredes (35). La glaucarubinone semble aussi plus

antiappétante que le sergéolide sur S. gregaria, mais ce dernier produit serait plus toxique pour les larves.

En ce qui concerne les relations structures - activités, il semble donc que le parallélisme qui est de règle entre les activités antinéoplasiques, antiplasmodiales et antivirales ne soit pas ici respecté.

IV.2. Mesure de la toxicité des Simaroubacées guyanaises sur les larves de Aedes aegypti

Nous avons évalué l'activité larvicide des extraits bruts des Simaroubaceae guyanaises. Ces essais ont été réalisés sur les mêmes échantillons végétaux que ceux sur lesquels ont été effectués les tests chimiques préliminaires (Cf Chapitre 2.I.). Le protocole suivi est celui couramment utilisé par le Laboratoire d'Entomologie Médicale de l'ORSTOM, à Bondy.

. Matériel

1) Plantes

Macérations éthanoliques à 10% : 5 g de plantes sèches dans 50 ml d'éthanol à 70° en contact pendant une semaine.

Les fruits sont préalablement dégraissés par percolation à l'hexane afin d'éviter que se forme un surnageant grasieux qui asphyxie les larves.

2) Moustiques testés

Larves stade IV d'Aedes aegypti provenant d'un élevage de l'Institut Pasteur de Guyane.

. Méthodes

Chaque macérat est testé sur quatre lots de 25 larves de moustiques stade IV, la mortalité est observée après 24 h et 48 h par rapport à un témoin. Le test s'effectue à la température ambiante (25°) avec alternance de 12 de jour, 12 h de nuit.

. Résultats

La majorité des drogues testées ne présentent pas d'activité aux concentrations utilisées (24 h : 2 ml de la solution, dans 200 ml d'eau permutée en milieu de test ; 48 h : 4 ml de la solution). La macération des fruits dégraissés de Simaba cedron montre une forte activité (95% de mortalité en 24 h, 98% en 48 h).

Les tiges de Quassia amara ont une faible activité (15% de mortalité en 24 h, 26% en 48 h).

Les écorces de tiges de Simarouba amara montrent une activité larvicide que l'on peut attribuer à la glaucarubinone et ses dérivés (50% de mortalité après 48 h).

V. ACTIVITE ANTIVIRALE

Certains quassinoides possèdent une activité antivirale in vitro (36). Le test est réalisé de la manière suivante : des fibroblastes d'embryons de poulets sont infectés par des quantités connues de virus du sarcome de Rous. On mesure ensuite l'inhibition par les quassinoides des transformations cellulaires provoquées par le virus.

Les quassinoides les plus actifs possèdent les mêmes éléments structuraux que ceux nécessaires à l'activité antileucémique.

L'activité antivirale in vitro du sergéolide et de l'isobrucéine B a été mesurée dans le laboratoire de Mme GERO à l'ICSN-CNRS.

	I ₅₀ (µg/ml)	I* max (µg/ml)	% Inhibition
Isobrucéine A (36)	0,15	0,30	96
Simalikalactone D "	0,10	0,15	76
Chaparrinone "	0,35	0,50	92
Glaucarubolone "	0,16	0,20	83
Isobrucéine B <u>1</u>	0,1		73
Sergéolide <u>2a</u>	0,1		(a)
	0,05		69
	0,01		0

(a) : Des concentrations supérieures ou égales sont toxiques pour les cellules normales.

TABLEAU V.1 : Effet des quassinoides sur les transformations cellulaires induites par le VSR dans les fibroblastes d'embryon de poulet.
Comparaison avec les quassinoides les plus actifs (36).

VI. INHIBITION IN VITRO DE LA CROISSANCE DES PROMASTIGOTES
DE LEISHMANIA DONOVANI

L'effet de 12 quassinoides a été testé in vitro sur la croissance des promastigotes de Leishmania donovani. Les expériences ont été réalisées dans le laboratoire de Mme GERO à l'ICSN-CNRS (37).

Sept parmi ces substances inhibent la croissance avec un I_{50} se situant entre 0,5 et 1,85 μM . L'action de la 15 β -heptyl-chaparrinone et celle de la simalikalactone D est la plus durable car la multiplication des parasites reste significativement inhibée après renouvellement du milieu de culture. Ces produits sont cependant toxiques pour des macrophages à des doses actives.

Il semblerait donc que, malgré l'effet leishmanicide prononcé de certains quassinoides leur utilisation in vivo soit écartée en raison de leur forte toxicité pour les cellules hôtes.

Le sergéolide 2a exerce également une forte inhibition, après reversion, mais avec une dose initiale de 10 μM . En revanche, le 15-déacétyl-sergéolide est peu actif.

Il est intéressant de rappeler que la relation entre la structure et l'effet antimalarique des quassinoides est identique à celle obtenue pour l'effet antitumoral, tandis que dans le cas de l'action amibicide (39) et insecticide (Cf § IV) une telle relation n'a pas pu être démontrée. Ces observations suggèrent que le mécanisme d'action antiparasitaire des quassinoides diffère selon l'organisme étudié.

VII. AMERTUME DES QUASSINOÏDES

Nous ne saurions terminer cet exposé des propriétés des quassinoïdes sans évoquer leur amertume. En effet, les quassinoïdes sont vraisemblablement parmi les composés naturels les plus amers. C'est d'ailleurs l'un des critères de reconnaissance des Simaroubacées le plus utile sur le terrain. Leur manipulation nous a montré que cette amertume variait en intensité suivant les quassinoïdes. Ainsi, les quassinoïdes que nous avons isolés de Picrolemma pseudocoffea et de Simaba morettii sont extrêmement amers, alors que ceux de S. multiflora le sont peu. Remarquons que cette observation tend à montrer qu'il n'y a pas de relation entre l'amertume des quassinoïdes et leur cytotoxicité.

Les substances amères appartiennent à des familles chimiques très variées : terpènes (quassinoïdes, cucurbitacines), composés azotés (strychnines et autres alcaloïdes), hétérosides, etc... ; il paraît difficile d'établir une corrélation entre substance chimique et amertume comme cela a pu être fait dans le goût sucré.

En ce qui concerne l'existence et la nature du récepteur du goût, de nouvelles hypothèses ont été avancées récemment : le site récepteur de l'amertume se trouverait à l'intérieur de la cellule sensorielle. Deux conditions sembleraient nécessaires pour qu'une molécule ait un goût amer :

- elle doit être suffisamment lipophile pour traverser la paroi cellulaire et atteindre le site récepteur,
- elle doit pouvoir aussi interagir avec ce site (40).

Il semble que le site récepteur de l'amertume possède des caractéristiques structurales identiques à celles du site reconnaissant les substances douces (proximité d'un groupe accepteur et d'un groupe donneur de protons) ; mais la perception du doux se ferait, elle, à la surface de la cellule sensorielle. Une expérience récente a montré que, si, à une substance amère comprenant une chaîne hydrophobe et un groupement électropositif, on associait,

dans certaines conditions, une substance comprenant un groupement électronégatif, l'amertume disparaissait, faisant place à la douceur. Cette expérience tend à montrer qu'il n'y aurait qu'un seul et même récepteur pour les substances à goût amer et doux, le site récepteur faisant la différence suivant les combinaisons entre groupements électronégatifs et électropositifs présents dans la molécule (41).

Une autre approche pourrait, selon nous, être développée : celle suivie par DORE et al. sur les notes odorantes (42). Ces chercheurs ont appliqué l'analyse factorielle aux relations entre structure chimique et notes odorantes. Cependant, cette méthode ne peut être menée à bien que si l'on dispose d'une nomenclature précise des goûts, s'appuyant sur des descripteurs à la fois chimiques et sensoriels.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Nous avons abordé dans cette étude les aspects botaniques, chimiques et pharmacologiques de quatre Simaroubaceae médicinales de la Guyane.

Les enquêtes ethnobotaniques que nous avons menées en Guyane montrent une convergence des usages des Simaroubaceae. S'agissant de drogues fort réputées localement, il m'a semblé intéressant de regrouper les informations concernant ces drogues, rencontrées dans la littérature relative à la Guyane et aux régions limitrophes.

Mais, avant d'entreprendre l'étude des quassinoides, principes actifs de ces drogues, à laquelle est consacrée la plus grande partie de ce travail, une révision botanique des Simaroubaceae guyanaise s'est avérée nécessaire. Les matériaux botaniques récoltés sur le terrain en même temps que ceux destinés à l'étude chimique ont contribué à une meilleure connaissance de cette famille. Les herbiers ont été déposés dans des collections qui en assurent la parfaite conservation et la circulation entre les spécialistes des flores tropicales. Grâce à de telles précautions, nous avons ainsi pu tenir compte des changements survenus au cours de notre étude dans la classification des Simaroubaceae. Par ailleurs, l'étude tant botanique que chimique de l'un des échantillons montra qu'il s'agissait d'une espèce nouvelle pour la science.

Les essais chimiques préliminaires réalisés sur les échantillons que nous avons récoltés montrent que les espèces des genres Simaba et Picrolemma synthétisent des alcaloïdes et des quassinoides. Le genre Picramnia se distingue des autres genres par l'absence d'alcaloïde et de quassinoides. En revanche, les espèces testées renferment toutes des quinones. Ces résultats devraient conduire à

reconsidérer la place et, peut-être, l'appartenance du genre Picramnia à la famille des Simaroubaceae.

L'isolement et la purification des quassinoïdes ont été réalisés par l'emploi des techniques chromatographiques. Leur identification a été obtenue par l'interprétation des données spectrales : IR, UV, Masse, RMN-¹H et ¹³C, Rayons X. Pour certains quassinoïdes nous avons utilisé des améliorations récemment apportées aux techniques de RMN, comme la RMN 2D-*d-d* dite de corrélation hétéronucléaire. Les quassinoïdes ont été testés par le National Cancer Institute, in vitro sur cellules KB, in vivo sur la leucémie murine lymphocytaire P388.

A partir des écorces de tiges et de racines de Picrolemma pseudocoffea Ducke, nous avons isolé deux quassinoïdes : l'isobrucéine B et le sergéolide. Ce dernier possède un squelette de base en C₂₀ avec une fonction buténolide attachée au cycle A. Il est hautement cytotoxique et actif sur la leucémie murine P338. Des feuilles de cette espèce nous avons isolé, outre les deux quassinoïdes précédents, un nouveau quassinoïde : le 15-déacétylsergéolide. Celui-ci semble moins toxique que le sergéolide, tout en conservant une activité antileucémique significative sur le système P388. La brucéine D a aussi été isolée.

De Simaba cuspidata Spruce ont été isolés la 6 α -tigloyloxychaparrine 5 et la 6 α -tigloyloxychaparrinone 7. Ces deux quassinoïdes sont cytotoxiques. Mais le premier composé, qui est nouveau et possède un groupement glycol dans le cycle A, est inactif in vivo sur la leucémie murine P388.

Des différents organes de Simaba multiflora Juss. que nous avons extraits ont été isolés : la 6 α -sénéciyloxychaparrinone, la 6 α -sénéciyloxychaparrine 10, le karinolide 8, le 12-déhydro-6 α -sénéciyloxychaparrine 13 et le 13,18-déhydro-6 α -sénéciyloxychaparrine 12. Ces quatre derniers quassinoïdes sont nouveaux. Comme pour les quassinoïdes de l'espèce précédente, les composés possédant un groupement glycol dans le cycle A sont moins actifs, voir inactifs sur le système P388.

De l'espèce nouvelle Simaba morettii Feuillet deux nouveaux quassinoides ont été isolés : le simarinolide 16 et le guanépolide 17, ce qui porte à 5 le nombre de quassinoides en C₂₅ connus. Nous avons aussi isolé le simarolide 15, quassinolide connu, ainsi qu'un autre composé qui s'avère être un mélange des deux épimères en C-18 du déacétylsimarolide. Ces quassinoides ne portent pas de groupement oxygéné en C-12, mais en possèdent un par contre en C-17, ce qui corrobore l'hypothèse selon laquelle les quassinoides de ce type seraient les intermédiaires de la biosynthèse des quassinoides en C-20. Ces quassinoides qui ne possèdent pas de pont époxyméthylène entre C₈-C₁₃ ou C₈-C₁₁ sont, conformément aux relations structures activités établies, inactifs sur le système P 388.

En dehors de leurs propriétés anticancéreuses, les quassinoides isolés possèdent d'autres activités : insecticides, antivirales et antileishmaniennes. Nous avons mesuré l'activité antipaludique du sergéolide, *in vitro* sur Plasmodium falciparum, et *in vivo* dans le cadre du paludisme du rongeur à P. berghei. Ce quassinolide a montré une forte activité antipaludique, mais la détermination de sa DL50 montre qu'il est trop toxique pour présenter un intérêt dans le traitement du paludisme. Ces résultats sont à rapprocher d'une autre étude qui a montré que, malgré l'activité antileishmanienne prononcée de certains quassinoides, dont le sergéolide, leur utilisation in vivo doit être écartée en raison de leur forte toxicité pour la cellule hôte. Le sergéolide est aussi insecticide et antiappétant. Nous avons aussi cherché à mettre en évidence l'effet larvicide des extraits bruts des Simaroubacées guyanaises sur les larves de Aedes aegyptii.

La relation entre la structure et l'effet antimalarique est identique à celle obtenue pour l'effet anticancéreux, tandis que, dans le cas de l'action amibicide et insecticide, une telle relation n'a pas pu être démontrée. Ces observations suggèrent que le mécanisme d'action diffère selon l'organisme étudié.

Ces résultats montrent que les propriétés vermifuges, insecticides et antimalariques des Simaroubacées guyanaises peuvent être attribuées aux quassinoïdes. Il serait intéressant d'étendre des recherches aux principales autres propriétés des Simaroubaceae, non encore étudiées.

Il convient de remarquer cependant que l'activité antiparasitaire des Simaroubacées pourrait ne pas être due seulement aux quassinoïdes. En effet, ces plantes renferment aussi des alcaloïdes indoliques, du type chanthine-one. Or, ces alcaloïdes possèdent des activités biologiques variées, anthelmintiques, antibactériennes et aussi, vraisemblablement, antiparasitaires.

BIBLIOGRAPHIE CHIMIQUE

1. POLONSKY J.,
Quassinoids Bitter Principles.
Fortsch. Chim. Org. Naturst. 1973, v. 30 : 101 ; 1985, v. 47 : 221.
2. MORON J., MERRIEN A., POLONSKY J.,
Sur la Biosynthèse des Quassinoïdes de *Samaruba glauca* (Simarubacée).
Phytochemistry, 10 : 585, 1971.
3. KUPCHAN S.M., STREELMAN D.R.,
Quassimarin, a New Antileukemic Quassinoid from *Quassia amara*.
J. Org. Chem., 41 : 5481, 1976.
4. POLONSKY J., BASKEVITCH-VARON Z., DAS B.C.,
Triterpènes tétracycliques du *Simarouba amara*.
Phytochemistry, 15 : 337-339, 1973.
5. POLONSKY J., VARON Z., JACQUEMIN H., PETTIT G.R.,
The isolation and structure elucidation of 13,18-dehydroglauucarubinone
a new antineoplastic quassinoid from *Simarouba amara*.
Experientia, 34 : 1122, 1978.
6. LASSAK E.V., POLONSKY J., JACQUEMIN H.,
5-Hydroxycanthin-6-one from *Simarouba amara*.
Phytochemistry, 16 : 16-24, 1977.
7. ZYLBER J., POLONSKY J.,
Sur les constituants de l'écorce de *Samadera indica* ;
Structure de la Samadérine B et de la samadérine C.
Bull. Soc. Chim. France, 2016, 1964.
8. GRENAND P., MORETTI C., JACQUEMIN H.,
Pharmacopées traditionnelles en Guyane Française.
Edit. ORSTOM, à paraître.
9. FOURREY J.L., DAS B.C., POLONSKY J.,
Etude des Spectres de Masse des Constituants Amers des Simarubacées.
Organic Mass Spectrometry, 1 : 819-833, 1968.
10. KUPCHAN M., BRITTON R.W., LACADIE J.A., ZIEGLER M.F., SIGEL C.W.,
The Isolation and Structural Elucidation of Bruceantin and Bruceantinol,
New Potent Antileukemic Quassinoids from *Brucea antidysenterica*.
J. Org. Chem., 140 : 648, 1975.
11. POLONSKY J., BASKEVITCH-VARON Z., GOTTLIEB H.E., HAGAMAN E., WENKERT E.,
CARBON-C13 Nuclear Magnetic Resonance Spectral Analysis of Quassinoids.
J. Org. Chem., 40 : 2499, 1975.

12. POLONSKY J., BASKEVITCH Z., MULLER J.,
Constituants amers de Brucea amarissima, Structure des Brucéine D et E.
C.R. Acad. Sc. Paris, Série 6: t 267, 1346, 1968.
13. LEE K.H., IMAKURA Y., SUMIDA Y., WU R.Y., HALL I.H., HUANG H.C.,
Antitumor Agents. 33 Isolation and Structural Elucidation of Bruceoside-A
and -B, novel Antileucemic Quassinoid Glycosides and Brucein-D and E from
Brucea Javanica,
J. Org. Chem., 44 : 2180-2185, 1979.
14. ARISAWA M., KINGHORN A.D., CORDELL G.A., FARNSWORTH N.R.,
Plant Anticancer Agents. XXIII Seneciolyloxychaparrin, a New Antileukemic
Quassinoid from Simaba multiflora,
J. Natural Products, 46 : 218-222, 1983.
15. FORGACS P., PROVOST J., TOUCHE A., GUENARD D., THAL C., GUILHEM J.,
Structure de l'Odyendane et L'odyendène, deux nouveaux quassinoides
d'Odyendea gabonensis (Pierre) Engl., Simaroubacées.
Tetrahedron Letters, 26 : 34570-60, 1985.
16. POLONSKY J., FOUQUEY Q., GAUDEMER A.,
Etude de la Glaucarubine II : Structure du glaucarubol et de la glaucarubine.
Bull. Soc. Chim. Fr., p. 1827, 1964.
17. SEIDA A.A., KINGHORN Ad., CORDELL G.A., FARNSWORTH N.R.,
Isolation of a New Simaroubolide, 6 α -tigloyloxychaparrinone from
Ailanthus integrifolia ssp. calcyna (Simaroubacée).
J. of Natural Product, 41 : 584, 1978.
18. WANI M.C., TAYLOR H.L., THOMPSON J.B., WALL M.E.,
Plant antitumor Agents. XVI Seneciolyloxychaparrinone, a New Antileukemic
Quassinoid from Simaba multiflora,
J. Natural Products, 46 : 578-583, 1978.
19. POLONSKY J. et FOURREY J.L.,
Constituants des Graines d'Ailanthus altissima Swingle.
Structure de l'ailanthone.
Tetrahedron Letters, 3983, 1964.
20. BELCÆIL J.C., DESUC M.A., LALLEMAND J.Y., DAUPHIN G., JEMINET G.,
Application of the Homonuclear and Heteronuclear 2 D-Chemical-Shift
correlation NMR Spectroscopy to the Complete Assignment of ^1H and ^{13}C NMR
Spectra of Ionophorous Antibiotic. 14547 A.
J. Org. Chem., 49 : 1797-99, 1984.
21. BREITMAIER E., VOELTER W.,
In ^{13}C NMR Spectroscopy, H. Ebel Edit., V. 5, Verlag Chemie, New York,
p. 173, 1978.
22. POLONSKY J.,
The Structure of Simarolide, The bitter Principe of Simarouba amara,
Proceed. Chem. Soc., p. 292, 1964.
23. POLONSKY J., VAN TRI M., PRANGE T., PASCARD Cl., SEVENET T.,
Isolation and Structure (X-Ray Analysis) of a new
C₂₅ quassinoid Soulemeolide from Soulemea tomentosa,
J.C.S. Chem. Comm., 641, 1979.

24. PETER W.,
Chemotherapy of malaria, in "Malaria". Academic Press, New York, 1 : 145, 1980.
25. CASSADY J.M., SUFFNESS M.,
In Anticancer Agents Based on Natural Products Models, New York,
Acad. Press, Inc., 1980.
26. LIAO L.L., KUPCHAN, S.M., HORWITZ S.B.,
Mode of Action of the Antitumor Compound Bruceantin, an Inhibitor of
Protein Synthesis,
Mol. Pharmacology, 12 : 167, 1976.
27. SULING W.J., WOOLLEY C.W., SHANNON M.W.,
Disposition and Metabolism of Bruceantin in the Mousse Cancer Chemother.
Pharmacology, 3 : 171, 1979.
28. WALL M.E., WANI M.C.,
Plant Antitumor Agents. Structural Requirements for Antineoplastic
Activity in Quassinoids.
J. of Med. Chem., 121 : 1186, 1978.
29. TRAGER W., POLONSKY J.,
Antimalarial Activity of Quassinoids against Chloroquine-Resistant
Plasmodium falciparum in vitro.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 32 : 461, 1983.
30. TRAGER W., JANSEN J.B.,
Human malaria parasites in continuous culture.
Science, 193 : 673-675, 1976.
31. GURU P.Y., WARHUST D.C., HARRIS A., PHILLIPSON J.D.,
Antimalarial activity of Bruceantin in vitro.
Annals of Trop. Med. Parasitology, 77 : 433-435, 1983.
32. ODJO A., PIART J., POLONSKY J., ROTH M.,
Etude de l'effet insecticide de deux quassinoides sur des larves de
Locusta migratoria migratorioides R et F (Orthoptera, Acrididae).
C.R. Acad. Sc. Paris, Série III, t 293, 241-244, 1981.
33. LESKINEN V., POLONSKY J., BATHNAGAR S.,
Antifeedant Activity of Quassinoids.
J. of Chemical Ecology, 110 : 1497-1507, 1984.
34. DESROUILLERES J.B.,
Etude de l'effet de Trois Quassinoides sur la prise de nourriture et la
survie des larves du Criquet Pèlerin Schistocerca gregaria (Orthoptera,
Acrididae).
DEA, Université Paris VI, 1985.
35. CROSBY D.G.,
Minor Insecticides of plant origin, in Naturally Occuring Insecticides,
M. Jacobson and D.G. CROSBY Edit. M. Deker, New York, 1971.
36. PIERRE A., ROBERT-GERO M., TEMPETE C., POLONSKY J.,
Structural Requirements of Quassinoids for the Inhibition of cell transformation.
Biochem. Biophys. Res. Comm., 93 . 675, 1980.

37. ROBERT-GERO M., BACHRACH U., BATHNAGAR S., POLONSKY J.,
Inhibition in vitro de la croissance des promastigotes de *Leishmania donovani* par des quassinoides.
C.R. Acad. Sc. Paris, Série II, t 30 : 803-806, 1986.
38. GILLIN F.D., REINER D.S.,
In vitro Activity of Certain Quassinoid Antitumor Agents against *Entamoeba histolytica*,
Arch. Invest. Med., 13 (Suppl. 3) : 43, 1982.
39. HALL I.H.,
Anti-Inflammatory Agents III : Structure-Activity Relationships of
Brusatol and Related quassinoids,
J. of Pharm. Sci., 72 : 1282, 1983.
40. GARDNER R.J.,
J. Pharm. Pharm., 30 : 531-532, 1978.
41. SHINODA, ICHIZO, OKAI, HIDEO,
C.A., 70080d, 1984.
42. DORE J.C., GORDON G., JAUBERT J.N.,
C.R. Acad. Sc. Paris, t. 299 : 315-320, 1984.

Les travaux rapportés dans cette thèse ont fait l'objet des publications et communications suivantes :

- . POLONSKY J., VARON Z., MORETTI C., PETTIT G.R., HERALD C.L., RIDEOUT J., SAHA S.B., KHASTGIR H.N.,
The antineoplastic Quassinoids of *Simaba cuspidata* Spruce and *Ailanthus grandis* Prain,
J. of Natural Product, 43 : 503, 1980.

- . POLONSKY J., VARON Z., PRANGE T., PASCARD C., MORETTI C.,
Structure of simarinolide and guanepolide, new quassinoids from *Simaba cf Orinocensis*,
Tetrahedron Letters, 22 : 3605-3608, 1981.

- . POLONSKY J., GALLAS J., VARENNE J., PRANGE T., PASCARD C., JACQUEMIN H., MORETTI C.,
Isolation and Structure (X-Ray Analysis) of Karinolide, a New Quassinoid from *Simaba multiflora*,
Tetrahedron Letters, 23 : 869-872, 1982.

- . MORETTI C., POLONSKY J., VUILHORGNE M., PRANGE T.,
Isolation and structure of Sergeolide, a potent cytotoxic quassinoid from *Picrolemma pseudocoffea*,
Tetrahedron Letters, 23 : 647-650, 1982.

- . POLONSKY J., BHATNAGAR S., MORETTI C.,
15-Deacetylsergeolide, a Potent Antileukemic Quassinoid,
J. of Natural Product, 47 : 995-997, 1984.

- . FANDEUR T., MORETTI C., POLONSKY J.,
In vitro and in vivo Assesement of the Antimalarial Activity of Sergeolide,
Planta Medica : 20-23, 1985.

- . MORETTI C., BHATNAGAR S., BELGIL J.C., POLONSKY J.,
Two new Quassinoids from *Simaba multiflora* fruits,
J. of Natural Product, 49 : 440-444, 1986.