



Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

C. R. Chimie 7 (2004) 1029–1032



Mémoire / Full paper

Contribution à l'étude phytochimique de *Lippia multiflora* (Verbenaceae)

Coffi Kanko ^{a,*}, Gérard Koukoua ^a, Yao Thomas N'Guessan ^a, Josette Fournier ^b,
Jean-Paul Pradère ^c, Loïc Toupet ^d

^a Laboratoire de chimie organique structurale, UFR SSMT, université de Cocody–Abidjan, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte-d'Ivoire

^b Laboratoire de chimie bio-organique, IUT Angers, 4, bd Lavoisier, BP 2018, 49016 Angers cedex, France

^c Laboratoire de synthèse organique, UFR de sciences et techniques, UMR 6513, 2, rue de la Houssinière, BP 92208,
44322 Nantes cedex 3, France

^d Groupe de physique cristalline, URA CNRS n° 804, université Rennes-1, campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex, France

Reçu le 27 octobre 2003 ; accepté le 19 décembre 2003

Disponible sur internet le 12 septembre 2004

Résumé

Les feuilles sèches de *Lippia multiflora* (Verbenaceae) ont été extraites à l'appareil de Soxhlet à l'aide de solvants organiques (éthanol, acétate d'éthyle). Nous avons isolé et purifié trois composés par chromatographie sur colonne associée à la chromatographie sur couche mince. L'identification de ces composés a été faite à partir des analyses spectrométriques (acide ursolique, *n*-tritriacontane) et des rayons X (salvigénine). **Pour citer cet article :** C. Kanko et al., C. R. Chimie 7 (2004).

© 2004 Publié par Elsevier SAS pour Académie des sciences.

Abstract

Contribution to phytochemical study of *Lippia multiflora* (Verbenaceae). The dried leaves of *Lippia multiflora* are extracted on a Soxhlet apparatus by means of organic solvents (ethanol, ethyl acetate). We isolated and cleansed three compounds. The identification was made from spectrometric analysis (ursolic acid, *n*-tritriacontane) and X-rays (salvigenin). **To cite this article:** C. Kanko et al., C. R. Chimie 7 (2004).

© 2004 Publié par Elsevier SAS pour Académie des sciences.

Mots clés : *Lippia multiflora* ; Acide ursolique ; *n*-tritriacontane ; Salvigénine ; Rayons-X

Keywords: *Lippia multiflora*; Ursolic acid; *n*-tritriacontane; Salvigenin; X rays

* Auteur correspondant.

Adresses e-mail : jean-paul.pradere@chimie.univ-nantes.fr (J.-P. Pradère) ; loic.toupet@univ-rennes1.fr (L. Toupet).

1. Introduction

L'espèce *Lippia multiflora* est une plante herbeuse qui pousse dans les régions tropicales d'Afrique [1]. Les feuilles, à arôme plaisant et caractéristique, sont consommées sous forme de thé. Cette plante est communément appelée « thé de savane ». Elle est utilisée en médecine traditionnelle comme stimulant, béchique, antipyrétique, laxatif, anti-hypertenseur et diurétique [2]. Les huiles essentielles de cette plante possèdent une activité larvicide [3], analgésique et anti-inflammatoire [4] et des propriétés pesticides [5].

La présence de méthoxyflavones hydroxylées a été signalée dans la famille des Verbenaceae par Harborne et al. [6]. Concernant les espèces *Lippia*, il a été isolé des flavonoïdes de *L. citriodora* H.B.K. [7]. Des dérivés de flavonoïdes ont été isolés de *L. nodiflora* et de *L. canescens* [8]. Quant à l'acide ursolique, il a été aussi isolé des feuilles de *L. ukambansis* [9].

Nous signalons dans ce travail pour la première fois la présence dans les feuilles sèches de *Lippia multiflora* les composés suivants : le *n*-tritriacontane (I), l'acide ursolique (II) et la 5-hydroxy-6,7,4'-triméthoxyflavone ou salvigénine (III).

2. Matériels et méthodes

Les feuilles sèches de *L. multiflora* réduites en poudre sont extraites à l'appareil de Soxhlet par l'éthanol. La solution alcoolique est évaporée à sec et le résidu est traité par le toluène porté à ébullition. Après refroidissement, on sépare une partie insoluble renfermant des *triterpènes* acides. La solution obtenue est évaporée à sec. Le nouveau résidu est chromatographié sur alumine standard sur une colonne de 3,4 cm de diamètre et avec une masse d'alumine égale à 120 g. L'élution est faite par le toluène suivi de l'éther oxyde. De la fraction de cette élution on récupère 20 mg du composé I.

La séparation des composés II et III a nécessité la réalisation de deux colonnes successives sur gel de silice (60–200 µm).

Première colonne : hexane, hexane 90% + CHCl₃ 10% ; hexane 85% + CHCl₃ 15% ; hexane 75% + CHCl₃ 25% ; hexane 60% + CHCl₃ 40% ; hexane 25%

+ CHCl₃ 75% ; CHCl₃ ; CHCl₃ 75% + éthanol 25% ; CHCl₃ 40% + éthanol 60%. Cent onze fractions de 100 cm³ environ recueillies. Les fractions 79 à 85 sont regroupées après chromatographie sur couche mince. Le résidu obtenu (2,1 g) est chromatographié sur colonne.

Deuxième colonne : hexane ; hexane 95% + éther oxyde 5% ; hexane 92,5% + éther oxyde 7,5% ; hexane 90% + éther oxyde 10% ; hexane 75% + éther oxyde 25% ; éther oxyde ; chloroforme – 89 fractions de 50 cm³ recueillies.

Toutes les fractions étant concentrées, nous obtenons une fine poudre (composé II, 16 mg) dans les fractions 72 et 73 de la deuxième colonne. Les fractions 82 et 83 de cette colonne sont regroupées et concentrées. Il est obtenu en moins de 48 h, après l'élution de 8 mg de cristaux du composé III au fond de l'erenmeyer.

L'identification des composés I, II, III a été faite à partir des analyses spectrométriques et centésimales. La structure de la *salvigénine* (III) est confirmée par diffraction des rayons X.

3. Résultats et discussion

Le spectre de masse du composé I présente un pic moléculaire à $m/z = 464$ et un pic de base à $m/z = 57$, correspondant au groupe butyle. Les pics $m/z = 71, 85, 99, \dots, 155, 169, \dots, 421$ correspondent à butyle + $-\text{CH}_2-$; $(-\text{CH}_2)_2$; $(-\text{CH}_2)_3$; ... ; $(-\text{CH}_2)_7$; ... ; $(-\text{CH}_2)_{26}$.

L'analyse élémentaire nous donne la formule moléculaire C₃₃H₆₈ (trouvé : C 85,14%, H 14,76% ; calculé : C 85,34%, H 14,65%).

Le spectre de RMN ¹H ne représente que trois déplacements chimiques (0,90, 0,93, 1,30 ppm), correspondant à deux méthyles terminaux CH₃- et à des protons méthyléniques $-\text{CH}_2-$. Le spectre de RMN ¹³C vient confirmer que le composé I est le *n*-tritriacontane, un alcane linéaire de formule CH₃-(CH₂)₃₁-CH₃.

Le composé II est identifié comme étant l'acide ursolique par comparaison des spectres de masse, IR, RMN ¹H et ¹³C aux spectres d'un échantillon authentique [10–12] (Fig. 1).

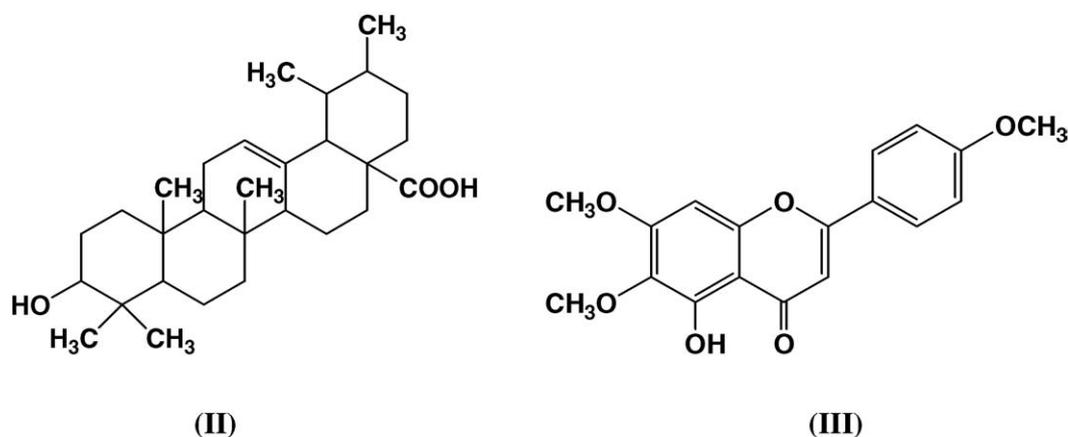


Fig. 1. Formules développées des composés II et III.

La structure du composé III a été confirmée par diffraction des rayons X au laboratoire de physique cristalline de l'université Rennes-1. Le composé III, de formule brute $C_{18}H_{16}O_6$ et de masse molaire 328,32 g, cristallise dans le système triclinique ; son groupe étant $P\bar{1}$, avec : $a = 7,102(3)$ Å ; $b = 7,488(2)$ Å ; $c = 14,942(3)$ Å ; $\alpha = 76,62(2)$; $\beta = 85,79(3)$ et $\gamma = 81,35(3)$. $V = 763,6(3)$ Å³ ; $Z = 2$; densité calculée = 1,428 Mg cm⁻³ $\lambda(\text{Mo K}\alpha) = 0,70926$ (Fig. 2).

L'échantillon (0,40 × 0,40 × 0,45 mm) est étudié sur un diffractomètre CAD4 Enraf Nonius, avec une radiation monochromatique de graphite Mo K α . Les paramètres cellulaires sont obtenus après ajustement de l'ensemble des 25 réflexions à angle élevé. La collection des données ($2\theta_{\text{max}} = 50^\circ$, scan $\omega/2\theta = 1$, $t_{\text{max}} = 60$ s, range $hkl : h 0,8 k -8,81 l -17,17$), avec un contrôle d'intensité sans décroissance appréciable (0,15%), fournit 2910 réflexions, dont 1746 sont indépendantes [13].

Après les corrections de Lorentz et de polarisation, la structure est résolue par une méthode directe avec le

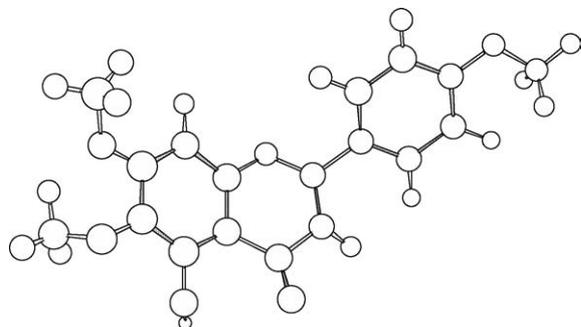


Fig. 2. Diagramme Ortep du composé III.

programme SHELX-86 qui révèle les atomes du composé différents d'hydrogène. Après raffinement isotopique ($R = 0,105$), anisotrope ($R = 0,073$), tous les atomes d'hydrogène sont repérés avec une différence de Fourier. Toute la structure est améliorée par des techniques appropriées [14].

Les facteurs de diffraction atomique sont obtenus à partir des Tables internationales de radiocristallographie. Les calculs sont effectués sur un ordinateur Hewlett Packard 9000-710 pour la détermination de la structure et sur un ordinateur Digital Micro Vax 3100, équipé du système Molen, pour les calculs d'Ortep [15].

La *salvigénine* comporte trois cycles à six chaînons pratiquement plans. Cette molécule comporte trois groupements *méthoxy*. Le groupement *méthoxy* en α de OH fait un angle de 81° environ avec le plan moyen de la molécule, les deux autres groupements *méthoxy* étant dans le plan ; cette disposition est celle de la gêne stérique la plus faible.

La présence d'une liaison hydrogène entre l'oxygène du carbonyle et l'hydrogène de l'hydroxyde est manifeste, car la liaison C=O a une longueur de 1,265 Å, beaucoup plus longue qu'une liaison carbonyle isolée. Ceci signifie que cette liaison hydrogène doit être particulièrement forte.

Références

- [1] C. Kanko, G. Koukoua, Y.T. N'Guessan, M.L. Lota, F. Tomi, J. Casanova, J. Essent. Oil Res. 11 (1999) 153.

- [2] Z. Nanga Yesé, Contribution à l'étude des plantes médicinales utilisées en odontostomatologie traditionnelle, thèse de doctorat en pharmacie, université d'Abidjan, 1989.
- [3] J.W. Mwangui, I. Addae-Mensah, R.M. Munavu, W. Lwande, Flavour Fragrance J. 6 (1991) 221.
- [4] A.A. Abena, M. Diatewa, G. Gakosso, M. Gbéassor, T. Hondi-Assah, J.-M. Ouamba, Fitoterapia 74 (3) (2003) 231.
- [5] C. Kanko, Contribution à l'étude phytochimique de *Lippia multiflora* (Verbenaceae), thèse de 3^e cycle université de Cocody–Abidjan233/95, 1995.
- [6] J.B. Harborne, C.A. Williams, Phytochemistry 10 (1971) 367.
- [7] H. Skaltsa, G. Shamma, Planta Med. 54 (1988) 465.
- [8] F.A. Thomas-Berberan, J.B. Harborne, R. Self, Phytochemistry 26 (8) (1987) 2281.
- [9] J. Chogo, G. Grank, J. Nat. Prod. 45 (1982) 186.
- [10] Y. Sashida, K. Ogawa, N. Mori, T. Yamamouchi, Phytochemistry 31 (8) (1992) 2801.
- [11] T.K. Kazdan, V. Kachroo, S. Harkar, G.L. Koul, Tetrahedron 38 (7) (1982) 991.
- [12] G. Reher, M. Budezinsky, Phytochemistry 31 (11) (1992) 3909.
- [13] C.K. Fair Molen, An Interactive Intelligent System for Crystal Structure Analysis, Euraf-Nonus, Delft, The Netherlands, 1990.
- [14] C.K. Johnson, ORTEP Report ORNL-3794, Oak Ridge National Laboratory, Tennessee, 1965.
- [15] G.M. Geldrick, in: G.M. Sheldrick, C. Krüger, R. Goddard (Eds.), Crystallographic Computing 3: Data Collection, Structure Determination, Proteins and Databases, Clarendon Press, Oxford, UK, 1985.