

**DEHYDROCOSTUS LACTONE  
ET 8  $\alpha$ -HYDROXYDEHYDROCOSTUS  
LACTONE DE *CENTAUREA CHILENSIS* HOOK ET ARN.**

R. E. NEGRETTE (\*), N. BACKHOUSE (\*), S. AVENDAÑO (\*\*), A. SAN MARTIN (\*\*\*)

Département des Sciences Pharmacologiques. Laboratoire de Pharmacognosie (\*),  
Laboratoire de Microbiologie (\*\*). Département de Chimie (\*\*\*), Faculté des Sciences  
Basiques et Pharmaceutiques. Vicuña Mackenna N° 20. Casilla 233, Santiago-Chile.

MOTS-CLÉS

*Centaurea chilensis*; guaianolide : dehydrocostus lactone, 8  $\alpha$ -hydroxydehydrocostus  
lactone, activité antimicrobienne. Stéroïdes.

---

RÉSUMÉ

A partir des tiges, feuilles et fleurs de *Centaurea chilensis* Hook. et Arn., ont été isolés deux lactones sesquiterpéniques : la dehydrocostus lactone et la 8  $\alpha$ -hydroxydehydrocostus lactone, et deux stéroïdes : le  $\beta$ -sitostérol et le stigmastérol. L'activité antimicrobienne des lactones sesquiterpéniques a été déterminée.

SUMMARY

Two sesquiterpene lactones have been isolated from the stems, leaves and flowers of *Centaurea chilensis* Hook. et Arn. : dehydrocostus lactone and 8 $\alpha$ -hydroxydehydrocostus lactone, and two steroids :  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol. Antimicrobial activity of sesquiterpene lactones has been determined.

INTRODUCTION

Le genre *Centaurea* qui appartient à la famille des Composées, a été amplement étudié. Les recherches phytochimiques effectuées sur ces plantes ont révélé la présence de flavonoïdes [10a, b, c] de composés acétyléniques [9] [3] et de lactones sesquiterpéniques [5] [6] [4].

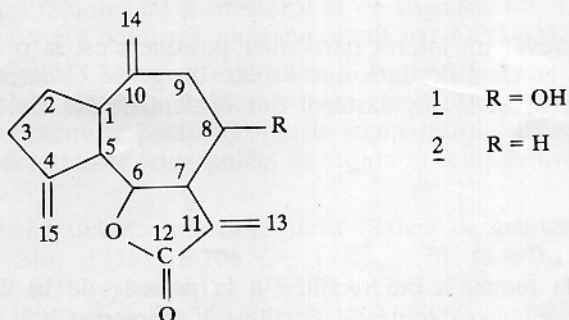
Dans le cadre d'une contribution à l'étude des plantes réputées médicinales du Chili [12] [1], nous avons entrepris l'étude chimique de *C. chilensis* Hook. et Arn. Cette plante pousse de façon spontanée et abondante dans la zone centrale du pays. Ses fleurs sont violacées et ses

feuilles ont une saveur amère. L'extrait aqueux est réputé comme fébrifuge et antirhumatisant. L'extrait hydroalcoolique montre une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* et *Sarcina lutea* [2].

## I. ÉTUDE CHIMIQUE

### Discussion et exposé des résultats

A partir de l'extrait éthéropétrolique et chloroformique de la plante nous avons isolé deux lactones sesquiterpéniques du type guaianolide, la 8  $\alpha$ -hydroxydehydrocostus lactone 1 et la dehydrocostus lactone 2, ainsi que du  $\beta$ -sitostérol et du stigmastérol.



Le spectre de masse du composé 1, donne l'ion moléculaire à  $m/z = 246,1256(C_{15}H_{18}O_3)$ .

Le spectre IR présente les bandes d'absorption caractéristiques d'une fonction hydroxyle associée ( $3\,430\text{ cm}^{-1}$ ), d'une fonction méthylène final ( $3\,090\text{ cm}^{-1}$ ), d'une fonction CO d'une  $\gamma$ -lactone  $\alpha$ - $\beta$  insaturée ( $1\,740\text{ cm}^{-1}$ ) et une bande caractéristique de double liaison carbone-carbone à  $1\,640\text{ cm}^{-1}$ .

Le spectre de  $^1\text{H}$  RMN présente des signaux qui confirment l'existence des groupements antérieurement signalés. A 3,93 ppm apparaît le signal du proton géminé à la fonction hydroxyle (H-8 $\beta$ ) ; à 3,97 ppm celle du proton géminé à l'oxygène lactonique (H-6). A 4,97 et 5,06 ppm deux singulets larges correspondent au groupement méthylène exocyclique du cycloheptane (H-14, H-14'). A 5,10 et 5,29 ppm, deux singulets larges sont attribuables au groupement méthylène exocyclique du cyclopentane (H-15, H-15'), et à 6,28 et 6,17 ppm, deux doublets dédoublés correspondent au groupement  $\alpha$ -méthylène  $\gamma$ -lactone (H-13, H-13'). L'examen des données spectrales et des constantes de ce composé permet d'envisager pour cette lactone sesquiterpénique, la structure du 8  $\alpha$ -hydroxydehydro-

costus lactone [4]. Ce produit a déjà été isolé et identifié chez le *Centaurea canariensis* [4].

Le spectre de masse du composé 2, présente l'ion moléculaire à  $m/z = 229,88$ . Sur le spectre IR on note les bandes correspondantes à un groupement méthylène final ( $3\ 090\text{ cm}^{-1}$ ), à la fonction carbonyle d'une  $\gamma$  lactone  $\alpha$ - $\beta$  insaturée ( $1\ 760\text{ cm}^{-1}$ ) et une bande caractéristique de double liaison carbone-carbone à  $1\ 640\text{ cm}^{-1}$ .

L'examen du spectre de  $^1\text{H}$  RMN confirme l'existence de ces groupements. A 3,96 ppm apparaît un triplet, attribuable au proton géminé à l'oxygène lactonique (H-6) ; à 4,84 et 4,91 ppm, deux singulets correspondent au méthylène exocyclique du cycloheptane (H-14, H-14') ; à 5,06 et 5,26 ppm deux doublets sont dus au méthylène exocyclique du cyclopentane (H-15, H-15') ; deux doublets résonnent à 5,5 et 6,21 ppm au groupement  $\alpha$ -méthylène  $\gamma$ -lactone (H-13, H-13'). D'après ces données spectrales et celles de  $^{13}\text{C}$  RMN on peut envisager pour cette lactone sesquiterpénique la structure de la dehydrocostus lactone [11] [8].

Ce produit revêt un intérêt particulier puisque c'est la première fois qu'il est isolé et identifié dans une espèce du genre *Centaurea*.

Le  $\beta$ -sitostérol et le stigmastérol ont également été isolés de cette plante.

### Partie Expérimentale

Matériel : la plante a été récoltée à la période de la floraison en octobre à Rio Blanco, (route de Portillo) V Région. Chili.

Les spectres sont effectués pour : UV : Karl Zeiss DMR-21 ; IR : Perkin-Elmer 1310 ;  $^1\text{H}$  RMN 270 MHz : Bruker WH ;  $^1\text{H}$  RMN 60 MHz ; Varian T-60 ;  $^{13}\text{C}$  RMN 20, 15 MHz : Bruker WP-80SY ; SM : Varian MAT 711, composé 1 ; SM : Micromass ZAB-2F, composé 2 ; Chromatographie en phase gazeuse accouplé à SM, est effectuée sur appareil Varian Aerograph 1400-SM Varian MAT CH7 A. Colonne OV-173 sur chromosorb W.

### Extraction et isolement

L'extraction a été effectuée sur les tiges, feuilles, et fleurs de la plante. 4 500 g de plante séchée ont été pulvérisés et épuisés successivement par l'éther de pétrole  $60^\circ$ - $80^\circ$  et le chloroforme, dans un appareil de Soxhlet. Les extraits ont été concentrés sous vide jusqu'à consistance sirupeuse.

L'extrait éthéropétrolique (100 g) est chromatographié sur colonne de gel de silice G (type 60) Merck, montée dans l'éther de pétrole  $60^\circ$ - $80^\circ$ . L'élution se fait par l'éther de pétrole avec pourcentage croissant d'acétate d'éthyle. Les fractions obtenues à partir du mélange éther de

pétrole : acétate d'éthyle 95 : 5, contiennent un mélange de stéroïdes. A partir des fractions obtenues avec éther de pétrole-acétate d'éthyle 90 : 10 (v/v) nous avons isolé la première lactone sesquiterpénique 2. Les stéroïdes cristallisent dans le méthanol, et le composé 2 dans l'éther de pétrole avec quelques gouttes d'acétone.

L'extrait chloroformique (150 g) est aussi chromatographiée sur colonne de silice G (type 60), montée dans éther de pétrole 60°-80°. L'élution se fait par l'éther de pétrole, progressivement enrichi en chloroforme.

A partir des fractions éther de pétrole : chloroforme 95 : 5 nous avons isolé la deuxième lactone sesquiterpénique 1. Elle a été purifiée par cristallisation dans l'hexane. Les lactones 1 et 2 ont été séparées par CCM de gel de Silice G (type 60) Merck en utilisant le système solvant éther de pétrole-acétate d'éthyle : 70 : 30 (v/v Système I).

Les acétates de stéroïdes sont identifiés par CPG en les comparant à des mélanges témoins de  $\beta$ -sitostérol et de stigmastérol. L'ensemble de ces résultats a été confirmé ultérieurement par CPG-SM.

A l'aide de C.C.M. sur gel de Silice G (type 60) avec 10% de  $\text{AgNO}_3$  dans le système de solvant chloroforme : chlorure de méthylène 50 : 50, nous avons obtenu le  $\beta$ -sitostérol et le stigmastérol purs, ce que nous a permis de déterminer leurs points de fusion et leurs pouvoirs rotatoires spécifiques.

*Composé 1* : obtenu cristallisé dans l'éther de pétrole et acétone,  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3 = 246, 1256$  ; F 106 °C ;  $[\alpha]_{590\text{nm}}^{20}$  76 ( $c = 0,1\%$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) ; CCM : Rf = 0.31 (système I) ; UV : (Et OH) : 206 nm.

— IR (Kbr) :  $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$  : 3.430, 3.090, 2.950, 2.870, 1.740, 1.640, 1.273, 1.145, 960, 900, 898.

—  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$  270 MHz, référence interne : TMS) ; déplacements chimiques ( $\delta$ ) en ppm ; 1,87 (m, 3H, H-2 $\alpha$ , H-2 $\beta$ , OH) ; 2,30 (dd, H, J = 4,5 Hz, J' = 13 Hz, H-9 $\beta$ ) ; 2,45 et 2,54 (m, 2H, H-3 $\alpha$ , H-3 $\beta$ ) ; 2,72 (dd, H, J = 4,5 Hz, J' = 13 Hz, H-9 $\alpha$ ) ; 2,81 (m, H, H-5) ; 2,85 (m, H, H-7) ; 3,01 (dd, H, J = 8 Hz, J' = 15 Hz, H-1) ; 3,93 (ddd, H, J = 10 Hz, J' = 5,0 Hz, J'' = 4,5 Hz, H-8 $\beta$ ) ; 3,97 (dd, H, J = 9 Hz, J' = 10 Hz, H-6) ; 4,97 (sl, H, H-14) ; 5,06 (sl, H, H-14') ; 5,10 (sl, H, H-15) ; 5,29 (sl, H, H-15') ; 6,17 (dd, H, J = 3 Hz, J' = 1,0 Hz, H-13) ; 6,28 (dd, H, J = 3,5 Hz, J' = 1,0 Hz, H-13').

sl = singulet large.

— SM (70 eV) pics significatifs (m/z) : 246, 1256 (M)<sup>+</sup>. (6 %) correspondant à  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$  ; 229 (9 %), (M-OH)<sup>+</sup> ; 228 (49 %), (M-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup> ; 166 (47 %) ; 132 (34 %) ; 121 (52 %) ; 107 (86 %) ; 91 (100 %) ; 79 (96 %) ; 69 (98 %).

*Acétate du composé 1* :  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , référence interne : TMS) (60 MHz) ; déplacements chimiques ( $\delta$ ) en ppm : 2,12 (s, 3H, —CO-CH<sub>3</sub>) ; 4,05 (t, H, J = 10 Hz, H-6) ; 5,0 et 5,3 (m, 5H, H-14, H-14', H-15, H-15', H-8) ; 5,65 (d, H, J = 3 Hz, H-13) ; 6,25 (d, H, J = 3 Hz, H-13').

*Composé 2* : cristallise dans l'hexane,  $C_{15}H_{18}O_2 = 229,88$  ; F  $62^\circ C$  ;  $[\alpha]_{590nm}^{20} -13,5$  ( $c = 1\%$ ,  $CHCl_3$ ) ; CCM : Rf = 0.75 (Système I) ; UV (Et OH) : 206 nm.

— IR (KBr) :  $\nu$  max  $cm^{-1}$  : 3 090, 2 930, 2 860, 1 760, 1 640, 1 255, 1 130, 995, 885.

—  $^1H$  RMN ( $CDCl_3$ , 60 MHz référence interne : TMS) déplacements chimiques ( $\delta$ ) en ppm : 3,96 (t, H, J = 10 Hz, H-6) ; 4,84 (s, H, H-14) ; 4,91 (s, H, H-14') ; 5,06 (d, H, J = 2 Hz, H-15) ; 5,26 (d, H, J = 2 Hz, H-15') ; 5,5 5,5 (d, H, J = 3 Hz, H-13) ; 6,21 (d, H, J = 3 Hz, H-13').

— SM (70 eV) pics significatifs ( $m/z$ ) = 229,88 ( $M$ )<sup>+</sup> (22,87 %) correspondant à  $C_{15}H_{18}O_2$  ; 200,89 (16,10 %) ; 149,87 (40,18 %) ; 105,03 (42,94 %) ; 90,93 (97,91 %) ; 78,91 (79,81 %) ; 76,98 (69,42 %) ; 53,04 (100,00 %) ; 40,95 (69,03 %) ; 38,97 (94,33 %) ; 27,24 (70,37 %).

—  $^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ , 20,15 MHz référence interne : TMS) : déplacements chimiques ( $\delta$ ) en ppm : 30,0 ( $-CH_2-$ ) ; 30,7 ( $-CH_2-$ ) ; 32,4 ( $-CH_2-$ ) ; 36,0 ( $-CH_2-$ ) ; 44,8 ( $=CH-$ ) ; 47,3 ( $=CH-$ ) ; 51,7 ( $=CH-$ ) ; 85,0 ( $=CH-$ ) ; 109,2 ( $-CH_2-$ ) ; 112,3 ( $-CH_2-$ ) ; 119,7 ( $-CH_2-$ ) ; 139,4 ( $=C=$ ) ; 148,9 ( $=C=$ ) ; 151,0 ( $=C=$ ) ; 169,9 ( $C=O$ ).

*$\beta$ -Sitostérol* :  $C_{29}H_{50}O = 414$  ; F  $138-140^\circ C$  ;  $[\alpha]_{590nm}^{20} -37$  (1 %,  $CHCl_3$ ) ;

— SM, pics significatifs ( $m/z$ ) : 414 ( $M$ )<sup>+</sup> (100 %) ; 399 ( $M-CH_3$ )<sup>+</sup> (41,9 %) ; 397 ( $M-OH$ )<sup>+</sup> (26,4 %) ; 396 ( $M-H_2O$ )<sup>+</sup> (66,0 %) ; 382 ( $M-[CH_3 + OH]$ )<sup>+</sup> (16,3 %) ; 381 ( $M-[CH_3 + H_2O]$ )<sup>+</sup> (49,6 %) ; 330 ( $M-[OH + C_2H_7]$ )<sup>+</sup> (15,8 %) ; 303 (56,2 %) ; 273 ( $M-C_{10}H_{21}$ )<sup>+</sup> (39,1 %) ; 255 ( $M-[C_{10}H_{21} + H_2O]$ ) (71,0 %).

*Stigmastérol* :  $C_{29}H_{48}O = 412$  ; F  $170^\circ C$  ;  $[\alpha]_{590nm}^{20} -50$  ( $c = 1\%$ ,  $CHCl_3$ ).

— SM, pics significatifs ( $m/z$ ) ; 412 ( $M$ )<sup>+</sup> (53,7 %) ; 397 ( $M-CH_3$ )<sup>+</sup> (5,6 %) ; 394 ( $M-H_2O$ )<sup>+</sup> (10,6 %) ; 379 ( $M-[CH_3 + H_2O]$ )<sup>+</sup> (7,3 %) ; 369 ( $M-C_3H_7$ )<sup>+</sup> (14,3 %) ; 351 ( $M-[C_3H_7 + H_2O]$ )<sup>+</sup> (24,2 %) ; 300 (24,5 %) ; 273 ( $M-C_{10}H_{19}$ )<sup>+</sup> (11,2 %) ; 255 ( $M-[C_{10}H_{19} + H_2O]$ )<sup>+</sup> (55,7 %) ; 213 ( $M-[C_{10}H_{19} + C_3H_6 + H_2O]$ )<sup>+</sup> (23,8 %).

## II. ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE

### Discussion et exposé des résultats

L'activité antimicrobienne de l'8 $\alpha$ -hydroxydehydrocostus lactone ( $C_1$ ) et la dehydrocostus lactone ( $C_2$ ) a été déterminée par la méthode par diffusion en milieu solide [7].

Les essais ont été réalisés avec les souches signalées dans le tableau I, sur lequel sont indiqués les résultats obtenus.

TABLEAU I  
Diamètres des zones d'inhibition en mm

	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	19,13	24,00
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	17,24	18,66
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	22,18	22,74
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	16,96	19,09
<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536	0	0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 9637	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 25619	0	0
<i>Candida albicans</i> (*)	0	15,43
<i>Aspergillus niger</i>	0 (**)	15,27

(\*) Souche isolée d'infection urinaire.

(\*\*) Inhibition de sporulation.

### Partie Expérimentale

Les inocula bactériennes sont obtenus par dilution d'une culture de 24 h en milieu liquide TSB (Tryptic Soy Broth, DIFCO) de façon à obtenir une opacité adéquate.

L'inoculum de *Candida albicans* est obtenu à partir d'une culture en nappe sur milieu PDA (Potato Dextrosa Agar, DIFCO) ; les cellules sont lavées et diluées convenablement.

L'inoculum de *Aspergillus niger* est obtenu par dilution adéquate d'une suspension de spores.

Les milieux utilisés pour cultiver sont : Muelber-Hinton Agar (DIFCO) pour les bactéries et Potato Dextrosa Agar (DIFCO) pour les moisissures et les levures.

Le milieu dans des boîtes de pétri (10 × 2 cm) est constitué par deux couches. la première (20 mL), non ensemencée, est laissée solidifier avant d'ajouter la seconde (6 mL) qui est ensemencée avec 0,25 mL d'inoculum du microorganisme choisi.

L'activité antibiotique a été déterminée par la technique de diffusion en milieu solide [7], en utilisant disques de 12,7 mm (DIFCO), imprégnés de 70 µL de solutions au 10 % de C<sub>1</sub> et C<sub>2</sub> en propylène glycol. En parallèle, on réalise pour chaque souche un témoin de croissance avec disques imprégnés en propylène glycol.

Après incubation à 35 °C pendant 24 h pour les bactéries et à 24 °C pendant 72 h pour les moisissures et les levures, on mesure les diamètres des zones d'inhibition en mm.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] ARLEGUI (O.). — Contribución al Estudio Químico-Botánico de *C. chilensis* (hierba del minero) Santiago-Chile, Tesis Q.F., Facultad de Farmacia. Universidad de Chile, 1940.
- [2] BHAKUNI (D. S.), BITTNER (M.), MARTICORENA (C.), SILVA (M.), WELDT (E.). — *Lloydia*, 1974, **37** (4), 621.
- [3] BOHLMANN (F.), ZDERO (Ch.). — *Chem. Ber.*, 1973, **106**, 2140.
- [4] BOHLMANN (F.), GUPTA (K.). — *Phytochem.*, 1981, **20** (12), 2773.
- [5] GONZÁLEZ (A.), BERMEJO (J.), MASSANET (G.). — *Rev. Latinoamericana Quím.*, 1977, **8**, 176.
- [6] GONZÁLEZ (A.), BERMEJO (L.), ZARAGOZA (T.). — *Anales de Química*, 1980, **76**, 296.
- [7] HUGO (W. B.), RUSSELL (A. D.). — *Pharmaceutical Microbiology*, London, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1<sup>re</sup> éd. 1977.
- [8] ITO (K.), IIDA (T.), KOBAYASHI (T.). — *Phytochem.*, 1984, **23** (1), 188.
- [9] JENTE (R.), BOHLMANN (F.), SCHÖNEWEISS (S.). — *Phytochem.*, 1979, **18**, 829.
- [10] KAMANSI (K.), RAYNAUD (J.), VOIRIN (B.). — a) *Plantes Med. et Phytoth.*, 1983, **17** (1), 47. b) *Plantes Med. et Phytoth.*, 1983, **17** (1), 52. c) *Plantes Med. et Phytoth.*, 1983, **17** (1), 57.
- [11] MATHUR (S. B.), HEIREMATH (S. V.), KULKARNI (G. H.), KELKAR (G. R.), BHATTACHARYYA (S. C.), SIMONOVIC (D.), RAO (S.). — *Tetrahedron*, 1965, **21**, 3575.
- [12] MUNOZ (M.), BARRERA (E.) et MEZA (I.). — El uso medicinal y alimenticio de plantas nativas y naturalizadas en Chile. Santiago-Chile, Pub. Ocasional n° 33. Museo de Hist. Natural, 1981.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs expriment leur vive gratitude à MM. F. BOHLMANN, E. GROS, A. G. GONZÁLEZ et M. GONZÁLEZ SIERRA, pour leur collaboration technique. Ce travail fut financé par le Departamento de Desarrollo de la Investigación. Dirección General Académica de la Universidad de Chile.