

APPLICATION DE LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE À L'ÉTUDE DES PRODUITS DE PYROLYSE D'ALCALOÏDES INDOLIQUES

I. OBTENTION DES PYROGRAMMES

G. VAN BINST, L. DENOLIN-DEWAERSEGGER ET R. H. MARTIN

Service de Chimie Organique, Université Libre de Bruxelles,
Bruxelles (Belgique)*

(Reçu le 19 février 1964)

La détermination de structure de substances complexes peu volatiles et de poids moléculaire élevé, et principalement de polymères, peut être effectuée par chromatographie gazeuse de leurs pyrolysats dont les fragments sont identifiés aisément par comparaison à des référents connus (le plus souvent des monomères entrant dans la composition des polymères). Les techniques de pyrolyse utilisées sont variées: le four à induction¹⁻², le four à résistance chauffante³⁻⁵, le filament⁶⁻⁸. Pour la détermination de structure d'alcaloïdes, la pyrolyse est un moyen classique utilisé depuis longtemps. Cette réaction n'a cependant été associée à la chromatographie gazeuse que récemment: plusieurs études ont été entreprises par JANÁK⁹⁻¹¹ sur l'atropine et la cocaïne, par NELSON ET KIRK¹² et par FRANC ET BLAHA¹³. Ces pyrolyses ont été effectuées sur filament.

Pour notre travail, nous avons choisi la technique de pyrolyse en tube capillaire scellé sous vide, plongé dans un bain métallique, telle qu'elle était décrite auparavant¹⁴. Ce moyen de pyrolyse nous a permis de mettre au point les conditions de séparation indépendamment des conditions de pyrolyse tout en présentant l'avantage de permettre le piégeage des fragments en quantité suffisante pour l'identification par spectroscopie I.R. ou U.V.

Les alcaloïdes étudiés sont les suivants (Fig. 1):

Groupe A – Cycle C hexatomique

| | |
|--------------------|-----|
| β -Yohimbine | I |
| Résérpine | II |
| Réscinamine | III |
| Corynanthine | IV |

Groupe B – Cycle C hexatomique ponté

| | |
|------------------------------------|------|
| Voachalotine | V |
| Tombozine | VI |
| Ajmaline | VII |
| Déshydroxyméthyl- voachalotinol | VIII |

* Directeur: Prof. R. H. MARTIN.

Groupe B' – Cycle C hexatomique ponté avec ouverture en 3,4

| | |
|--|----|
| Vobasine | IX |
| N-Cyanoapodésydroxy- méthylvoachalotine | X |

Groupe C – Cycle C heptatomique

| | |
|------------------|------|
| Ibogaine | XI |
| Voacangine | XII |
| N-Méthylibogaine | XIII |

La quantité minimum requise pour l'obtention d'un pyrogramme est de 0.5 mg. L'allure du pyrogramme est peu sensible à la durée de pyrolyse: celle-ci a été fixée à 1 min.

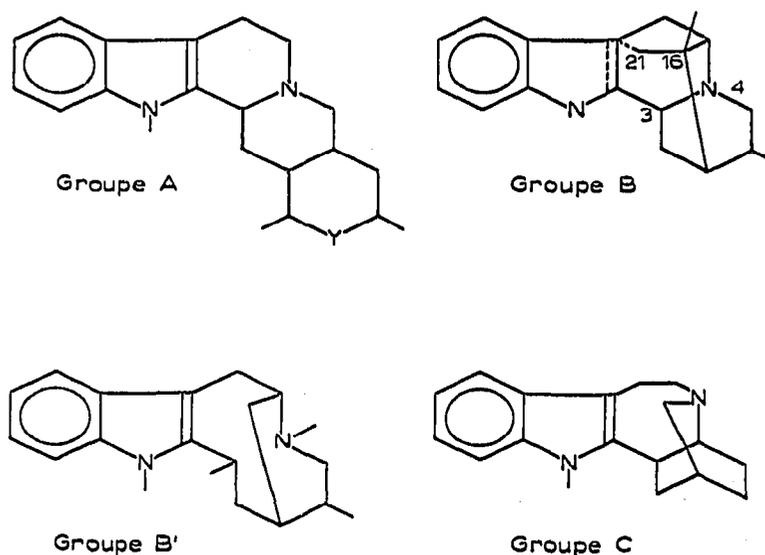


Fig. 1. Structure des alcaloïdes étudiés.

RECHERCHE DES CONDITIONS OPTIMUMS DE PYROLYSE

Dans le domaine de température où l'on observe un pyrogramme, seule l'intensité relative des pics varie, et non leur nature et nous pouvons en déduire que l'interprétation des pyrogrammes ne dépend que très faiblement des conditions de pyrolyse. Nous considérons que la température idéale de pyrolyse est celle pour laquelle le pic de l'alcaloïde inchangé n'apparaît plus et où on remarque des pics intenses aussi bien parmi les substances de temps de rétention courts que parmi celles de temps de rétention longs. Les pyrolyses ont été effectuées de 50 en 50° entre 250 et 450°. Une fois un intervalle fixé de cette façon, celui-ci a été exploré de 10 en 10°.

Les températures optimales trouvées sont les suivantes:

- Alcaloïdes du groupe A: 350°.
- Alcaloïdes du groupe B: 375°.
- Alcaloïdes du groupe C: 425°.

RECHERCHE DES CONDITIONS IDÉALES DE SÉPARATION*

Il apparaît des résultats dans le Tableau I que les deux meilleures phases liquides sont le silicone gum rubber (SE 30) et le diéthylèneglycoladipate (DGA). Malheureusement cette dernière phase ne permet pas de dépasser 225° et ne peut donc servir qu'à identifier les premiers pics des pyrogrammes. Les pyrogrammes complets discutés dans ce qui suit ont donc été obtenus par chromatographie sur une colonne de 1 m de SE 30 à 20 % utilisée en programme de température de 75 à 300° à 4.2° par min, et ensuite à température constante à 300°.

TABLEAU I
CONDITIONS DE SÉPARATION

| Phase liquide | Phase solide | n | Tempé- rature °C | Longueur m | HETP mm |
|--|----------------------------|------|------------------------|---------------|------------|
| Carbowax 3 % + silicone gum rubber SE 30 7 % | Chromosorb P | 200 | 260 | 2 | 10 |
| Apiézon L 20 % | Chromosorb W | 1450 | 300 | 2 | 1.4 |
| Dow Corning QF ₁ 10 % | Gas Chrom P présiliconé | 660 | 200 | 1 | 1.5 |
| Silicone gum rubber SE 30 20 % | Gas Chrom P | 950 | 250 | 1 | 1 |
| Silicone gum nitrile 10 % | Diatoport S | 520 | 250 | 1 | 1.9 |
| Diéthylèneglycoladipate 10 % (DGA) | Chromosorb W | 1200 | 175 | 1 | 0.8 |

DISCUSSION DES PYROGRAMMES

Alcaloïdes à cycle C à 6 atomes pontés (groupe B et B')

Ces alcaloïdes se distinguent entre eux par la présence ou l'absence du groupement N^α-CH₃, par la nature des substituants en C₁₀, par la stéréochimie de ceux-ci au niveau du C₁₀, et, pour l'ajmaline, par la présence d'un noyau dihydroindolique, du groupement OH en C₂₁ et de la chaîne saturée C₂H₅ au lieu de la chaîne éthylidène. Remarquons cependant que la voachalotine se transforme préalablement en dés-hydroxyméthylvoachalotine¹⁵ et qu'en fait la pyrolyse s'effectue sur ce dernier composé.

La comparaison des pyrogrammes (Fig. 2) dont l'allure caractérise très bien ce groupe d'alcaloïdes permet de mettre en évidence deux pics intenses communs aux quatre substances: 14.5 et 15 min. D'autre part, dans le cas des trois alcaloïdes N^α-méthylés, il apparaît un pic à 22 min et un pic à 35 min. Ceux-ci ne se retrouvent pas dans la tombozine, mais, dans le pyrogramme de la tombozine, on observe un pic caractéristique à 30.6 min.

Il est remarquable de constater que l'ajmaline, alcaloïde dihydroindolique, fournit le même pyrogramme que les alcaloïdes indoliques pontés. Il faut donc supposer que l'un des premiers stades de la pyrolyse est la rupture du pont suivie de la formation de la double liaison indolique. A partir de ce moment, le schéma de pyrolyse devient analogue à celui des autres alcaloïdes indoliques pontés. Nous n'avons pu mettre en évidence des différences dues à la présence d'une chaîne éthylidène ou éthyle dans ces alcaloïdes.

* Les pyrogrammes ont été relevés sur des appareils F et M modèles 720 et 1609.

Les pyrogrammes de la N-cyanoapodésyhydroxyméthylvoachalotine (X), produit d'ouverture du cycle C, dérivé de la voachalotine et de la vobasine (IX) de structures semblables, ont été comparés à celui de la voachalotine. Les trois pyrogrammes présentent de nombreuses similitudes ce qui permet de supposer, soit que la liaison 3,4 de la désyhydroxyméthylvoachalotine se rompt au début de la fragmentation, soit

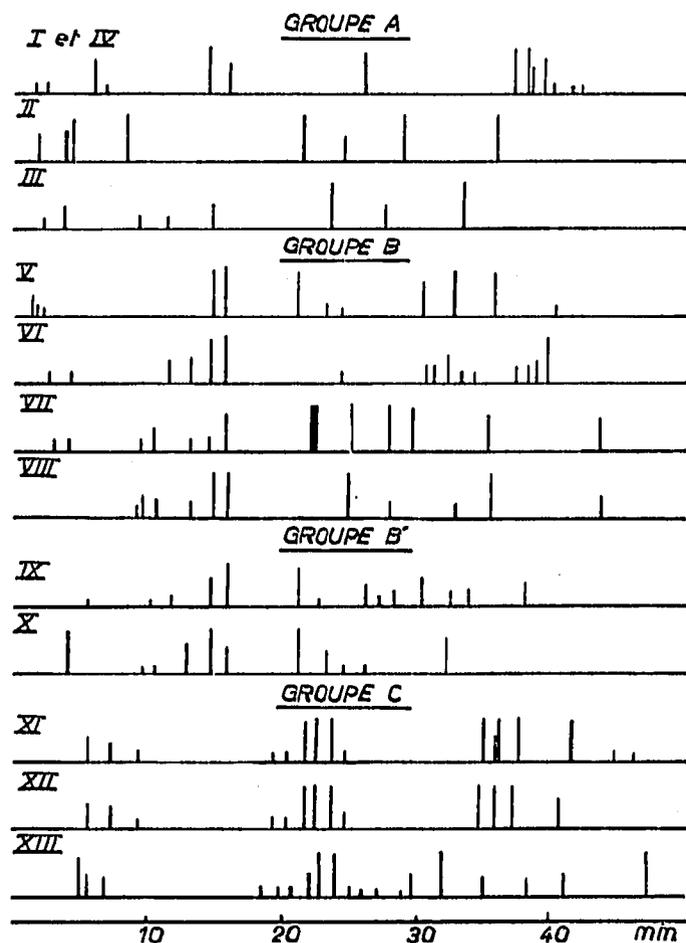


Fig. 2. Schéma des pyrogrammes.

que dans les dérivés de la vobasine une recyclisation a lieu. Dans la vobasine il y a cependant un centre de rupture supplémentaire engendré par la présence de la fonction $C=O$. Aussi, dans le pyrogramme de cet alcaloïde, n'y a-t'il pas de fragments prépondérants : tous les pics sont d'intensité à peu près équivalente.

En conclusion, tous les alcaloïdes apparentés au groupe à cycle C hexatomique ponté, ou leurs dérivés, sont reconnaissables à leur pyrogramme grâce aux pics de temps de rétention : 14.5 ; 15.5 ; 22 ; 24.5 ; 26 et 34 min.

Alcaloïdes à cycle C à 6 atomes du type yohimbine et hétéroyohimbine

Si l'on compare les pyrogrammes (Fig. 2) de ce groupe-ci à ceux du groupe précédent, on remarque immédiatement que les fragments sont moins nombreux. Ceci peut s'expliquer par une diminution de centres de rupture due à l'absence du pont. La β -yohimbine possède en commun avec le groupe précédent les pics à 14.5, 33 et 35.7

min. Par contre, il n'existe aucune similitude entre la β -yohimbine, la réserpine et la rescinaïne. Remarquons toutefois que la rescinaïne est monométhoxylée et que la réserpine est diméthoxylée ce qui justifierait un déplacement des pics vers des temps de rétention plus élevés.

Alcaloïdes à cycle C à 7 atomes

Les trois alcaloïdes que nous avons étudiés dans ce groupe sont monométhoxylés. Leurs pyrogrammes (Fig. 2) sont pratiquement identiques et sont très caractéristiques de ce type de structure. Dans le cas de la N-méthylibogaïne, on remarque cependant un retard d'une minute environ pour les fragments de temps de rétention "moyen" (21, 23 et 24 min) par rapport à ceux de l'ibogaïne et de la voacangine.

CONCLUSIONS

L'étude des pyrogrammes de trois types d'alcaloïdes permet de caractériser avec certitude les alcaloïdes à cycle à 7 atomes et à 6 atomes pontés. Les échantillons du troisième type, les analogues de la yohimbine dont nous disposons actuellement présentent une diversité structurale trop variée pour tirer des règles générales.

Nous poursuivons nos travaux sur un plus grand nombre d'échantillons et l'identification des fragments par spectroscopie I.R. et U.V. est en cours actuellement.

REMERCIEMENTS

Nous remercions Monsieur J. PECHER, chargé de cours associé, pour les discussions fructueuses que nous avons eues avec lui et pour plusieurs échantillons de dérivés de la voachalotine.

Que le Docteur X. MONSEUR (Laboratoire des Recherches Chimiques du Ministère de l'Agriculture à Tervuren), qui nous a remis un échantillon de tombozine, trouve ici l'expression de notre gratitude.

Nous remercions l'Institut pour l'Encouragement à la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture pour la bourse de spécialisation accordée à l'un de nous (L.D.) et le Fonds de la Recherche Fondamentale Collective qui a octroyé un subside au laboratoire.

RÉSUMÉ

Les pyrogrammes permettent de distinguer et de caractériser neuf alcaloïdes indoliques contenant un cycle C à 7 atomes ou un cycle ponté à 6 atomes.

Les structures des quatre alcaloïdes du type yohimbine étudiés jusqu'à présent sont trop différentes pour permettre une comparaison de l'allure des pyrogrammes. L'identification des fragments par spectroscopie IR, UV et spectrométrie de masse est en cours ainsi que la pyrolyse de nouveaux alcaloïdes.

SUMMARY

Nine indole alkaloids containing either a seven-membered or a bridged six-membered C ring can be distinguished and characterized by their pyrograms. The structures of the four yohimbine-type alkaloids studied so far differed too much to allow a reason-

able comparison. Identification of the fragments by I.R., U.V., and mass spectrometry is being studied while work on more alkaloids is in progress.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ F. A. LEHMANN ET G. M. BRAUER, *Anal. Chem.*, 33 (1961) 673.
- ² K. ETTRE ET P. F. VÁRADI, *Anal. Chem.*, 34 (1962) 752.
- ³ C. G. HERVITT ET B. T. WHITHAM, *Analyst*, 86 (1961) 643.
- ⁴ C. G. SMITH, *Analyst*, 86 (1961) 480.
- ⁵ C. G. HERVITT ET B. T. WHITHAM, *Analyst*, 86 (1961) 645.
- ⁶ R. S. LEHRLE ET J. C. ROBB, *Nature*, 183 (1959) 1671.
- ⁷ C. R. JONES, dans R. P. W. SCOTT (Éditeur), *Gas Chromatography*, 1960, Butterworths, London, 1960.
- ⁸ J. STRASSBURGER, G. M. BRAUER, M. TRYON ET A. F. FORZIATI, *Anal. Chem.*, 32 (1960) 454.
- ⁹ J. JANÁK, dans R. P. W. SCOTT (Éditeur), *Gas Chromatography*, 1960, Butterworths, London, 1960.
- ¹⁰ J. JANÁK, *Nature*, 185 (1960) 684.
- ¹¹ J. JANÁK, *Collection Czech. Chem. Commun.*, 151 (1960) 780.
- ¹² D. F. NELSON ET P. L. KIRK, *Anal. Chem.*, 34 (1962) 899.
- ¹³ J. FRANC ET J. BLAHA, *J. Chromatog.*, 6 (1962) 396.
- ¹⁴ R. GOUTAREL, F. PERCHERON ET M. M. JANOT, *Compt. Rend.*, 243 (1956) 1670.
- ¹⁵ N. DEFAY, M. KAISIN, J. PECHER ET R. H. MARTIN, *Bull. Soc. Chim. Belg.*, 70 (1961) 475.

J. Chromatog., 16 (1964) 34-39