

ALCALOÏDES DES ÉCORCES DE TIGES DE *STRYCHNOS DINKLAGEI*

SYLVIE MICHEL, FRANÇOIS TILLEQUIN et MICHEL KOCH

Laboratoire de Pharmacognosie, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de
l'Université René Descartes 4, avenue de l'Observatoire, F.—75006 PARIS (France)

LAURENT AKE ASSI

Centre National de Floristique, B.P. 4322—ABIDJAN (Côte d'Ivoire)

ABSTRACT.—Ten alkaloids have been isolated from the stem barks of *Strychnos dinklagei*. Six of them are known compounds, two monoterpene alkaloids: gentianine (3) and venoterpine (4), and four pyrido [4,3b] carbazoles: ellipticine (1), N_b-oxy-ellipticine (5), 3,14-dihydroellipticine (6) and 3,14,4,21-tetrahydroellipticine (7). The four other alkaloids are new natural ellipticine derivatives: 17-oxoellipticine (2), 10-hydroxyellipticine (8), N_b-oxy 17-oxoellipticine (9) and 18-hydroxyellipticine (10). Their structures have been established by spectral analysis and chemical correlations. In addition three neutral products have been isolated and identified: methyl syringate (12), liriouresinol A (13) and liriouresinol B (14).

Le *Strychnos dinklagei* Gilg (Loganiacées) est une liane assez largement répandue en Afrique tropicale, notamment en Côte d'Ivoire.

Nous avons précédemment isolé l'alkaloïde majeur des écorces de tige de cette espèce, l'ellipticine (1) (1) et l'oxo-17 ellipticine (2) (2). L'isolement et l'identification des autres alcaloïdes de ces écorces font l'objet de la présente publication.

RÉSULTATS

Les écorces de tige de *Strychnos dinklagei* renferment 0,3% d'alcaloïdes totaux. Après chromatographies successives, dix alcaloïdes ont été isolés. L'examen de leurs spectres uv permet de les diviser en deux groupes: alcaloïdes monoterpéniques (3) et dérivés du pyrido [4,3b] carbazole (4).

Les deux alcaloïdes monoterpéniques ont été identifiés par leurs constantes physiques et leurs caractéristiques spectrales à la gentianine (3) (5) et à la venoterpine (4) (6, 7).

Quatre alcaloïdes dérivés du pyrido [4,3b] carbazole ont été identifiés à des produits connus: ellipticine (1) (8, 9, 10), N_b-oxy ellipticine (5) (9, 11), dihydro-3,14 ellipticine¹ (6) (9, 14, 15, 16), tétrahydro-3,14,4,21 ellipticine (7) (9). Les quatre autres alcaloïdes n'ont pas encore été rencontrés à l'état naturel.

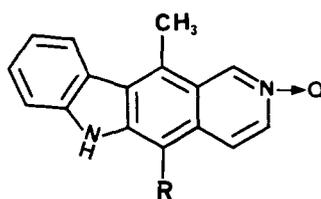
La détermination de structure du premier d'entre eux, l'oxo-17 ellipticine (2) a fait l'objet d'une communication préliminaire (2). Cette identification avait été confirmée par oxydation régiospécifique de l'ellipticine (1) conduisant à l'oxo-17 ellipticine (2). Inversement, la réduction de l'oxo-17 ellipticine 2 selon la technique de Wolf-Kischner modifiée (17) conduit quantitativement à l'ellipticine (1).

Le second cristallise d'un mélange chloroforme méthanol en prismes jaune-orangé, F > 300°, $[\alpha]^{20}_D = 0^\circ$ (CHCl₃). Son spectre de masse présente un ion moléculaire M⁺ = 262 permettant de lui assigner la formule brute C₁₇H₁₄N₂O et seulement trois importants ions de fragmentation à m/z = 261 (M-1), 247 (M-15) et 245 (M-17). Les deux premiers caractérisent la série ellipticine, le troisième peut être attribué à la perte de OH. Le spectre ir présente des vibrations caractéristiques des groupements OH et NH. Le spectre de rmn du ¹H se distingue de celui de l'ellipticine par une modification des signaux attribuables au système benzénique. A 6,95 ppm un doublet dédoublé (J = 8 Hz, J' = 1 Hz) est attribuable au H₁₁. A 7,31 ppm, un doublet (J = 8 Hz) caractérise le H₁₂. A 7,71 ppm, apparaît le signal de H₉ sous forme d'un doublet (J = 1 Hz). Enfin, à 9,06 ppm, un singulet échangeable contre D₂O indique la présence d'un hydroxyle phénolique.

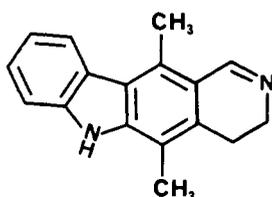
¹La numérotation des ellipticines adoptée ici est de type biogénétique selon réf. (12, 13).



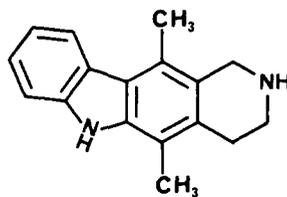
- 1 R₁ = R₂ = CH₃, R₃ = H
2 R₁ = CHO, R₂ = CH₃, R₃ = H
8 R₁ = R₂ = CH₃, R₃ = OH
10 R₁ = CH₃, R₂ = CH₂OH, R₃ = H
11 R₁ = CH₃, R₂ = CH₂OCOCH₃, R₃ = H



- 5 R = CH₃
9 R = CHO



6

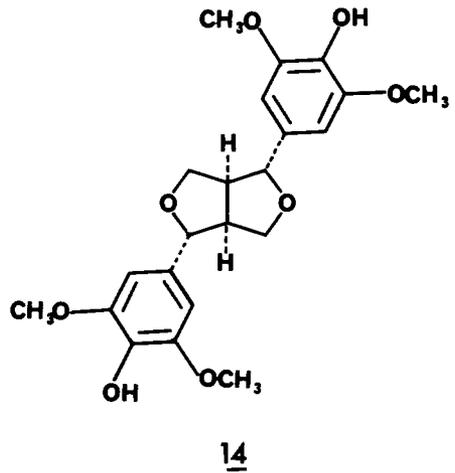
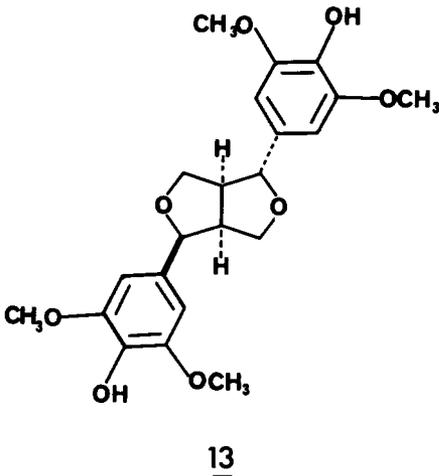
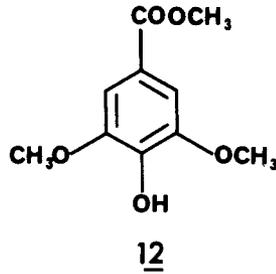
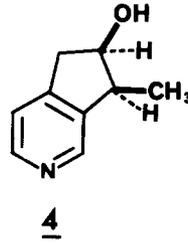
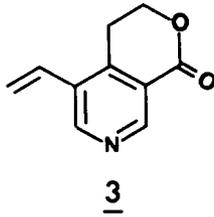


7

L'ensemble de ces données permet d'attribuer à cet alcaloïde une structure d'hydroxy-10 ellipticine **8**. Cette identification est confirmée par comparaison directe avec un échantillon authentique d'hydroxy-10 ellipticine de synthèse (18).

Le troisième alcaloïde, isolé en très faible quantité, n'a pu encore être obtenu à l'état cristallisé. Son spectre de masse présente un ion moléculaire $M^+ = 276$ dont l'analyse à haute résolution permet de lui assigner la formule brute $C_{17}H_{12}N_2O_2$. Ce spectre présente par ailleurs d'importants ions de fragmentation. A $m/z = 260$, un ion de formule brute $C_{17}H_{12}N_2O$ correspondant à la perte d'un oxygène est en faveur de la présence d'un groupement *N*-oxyde (19, 20, 21). A $m/z = 232$ et 231, apparaissent deux ions qui révèlent la perte de CO et de CHO et indiquent la présence d'une fonction aldéhydique. L'examen du spectre de rmn du 1H permet de préciser la position en 17 du groupement aldéhydique. En effet, dans la région des protons aliphatiques, apparaît un seul singulet de trois protons à 3,28 ppm attribuable au méthyle 18 (18) tandis que le proton aldéhydique résonne sous forme d'un singulet à 10,90 ppm. L'ensemble de ces données conduit à attribuer à cet alcaloïde une structure de *N*₅-oxy-oxo-17 ellipticine (9). Cette identification est confirmée par corrélations chimiques. La *N*₅-oxy-oxo-17 ellipticine (9) traitée par la limaille de fer en milieu acide conduit à l'oxo-17 ellipticine (2). La *N*₅-oxyellipticine (5), oxydée par le réactif de Jones fournit la *N*₅-oxy-oxo-17 ellipticine (9) identique au produit naturel.

Le dernier alcaloïde, isolé en très faible quantité, n'a pu encore être obtenu à l'état cristallisé. Son spectre de masse présente un ion moléculaire $M^+ = 262$ dont l'analyse à haute résolution permet de lui assigner la formule brute $C_{17}H_{14}N_2O$. Deux ions de fragmentation à $m/z = 245$ ($C_{17}H_{13}N_2$) et 244 ($C_{17}H_{12}N_2$) correspon-



dent à la perte d'OH et d'H₂O et indiquent la présence d'une fonction alcool. Le spectre de rmn du ¹H, très voisin de celui de l'ellipticine (1), s'en distingue d'une part par la disparition du signal attribuable au méthyle 18, d'autre part, par l'apparition d'un singulet de deux protons à 5,48 ppm et d'un signal élargi d'un proton échangeable contre D₂O à 5,44 ppm. Ces éléments conduisent à attribuer à cet alcaloïde une structure d'hydroxy-18 ellipticine (10). La présence de la fonction alcool est confirmée par l'acétylation de l'alcaloïde qui conduit à un dérivé monoacétylé (11) présentant sur son spectre de masse un ion moléculaire M⁺=304 et des ions de fragmentation caractéristiques à m/z=261 et 245.

Au cours de l'extraction des alcaloïdes, trois produits neutres ont été entraînés. Ils ont pu être isolés et identifiés par leurs caractéristiques physiques et spectrales à un ester d'acide phénol, le syringate de méthyle 12 (22) et à deux lignanes: le liriorsinol A (13) (23, 24, 25) et le liriorsinol B (14) (23, 24, 25, 26).

DISCUSSION

La présence, dans les écorces de tiges de *Strychnos dinklagei*, d'alcaloïdes

monoterpéniques et de lignanes n'est pas surprenante. En effet, le bakankoside (27, 28) et le cantleyine (23) d'une part, et le liriorséinol B (30) d'autre part, ont déjà été isolés d'autres *Strychnos*. En revanche, la présence d'alcaloïdes du groupe de l'ellipticine est tout à fait remarquable et revêt un grand intérêt chimio-taxonomique. En effet, tous les alcaloïdes précédemment isolés de *Strychnos* constituent un groupe très homogène, issu biogénétiquement de la corynanthéine et (ou) de l'akuammicine, à une exception près: la (+)-tubotaïwine (31). Cependant, si l'on se réfère à l'hypothèse biogénétique de Potier et Janot (13), les alcaloïdes du type ellipticine sont reliés aux précédents mais résultent d'une biogénèse plus complexe, reflet d'une plus grande évolution. Le *Strychnos dinklagei* se distingue donc nettement des autres espèces par rapport auxquelles il apparaîtrait plus évolué. Par ailleurs, la présence chez un *Strychnos* (Loganiacées) d'alcaloïdes du groupe de l'ellipticine révèle une parenté chimique avec la sous-tribu des Ochrosiées (Apocynacées) dont certaines espèces (genre *Neisosperma*) ne renferment que des alcaloïdes du type corynane, tandis que d'autres (genre *Ochrosia*) renferment en plus des alcaloïdes de type ellipticine (32, 33). Cependant, le *Strychnos dinklagei* se distingue nettement des *Ochrosia* par la présence d'hydroxy-10 ellipticine et l'absence de méthoxy-10 ellipticine. Il se caractérise également et surtout par la présence d'un nouveau type de dérivés de l'ellipticine, fonctionnalisés au niveau des groupements méthyle.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

MATÉRIEL VÉGÉTAL.—Le matériel végétal utilisé se compose de deux lots d'écorces de tiges récoltés sur le rocher de Brafoüé (Côte d'Ivoire) par la mission Bouquet (O.R.S.T.O.M., 1962) (Leeuwenberg n°3706) et par l'un d'entre nous (L.A.A.) (1979, n°14790).

EXTRACTION ET ISOLEMENT DES ALCALOÏDES.—Les écorces de tiges séchées de *Strychnos dinklagei* (2,5 kg) réduites en poudre fine sont humectées par la moitié de leur masse d'ammoniaque à 10% puis lixiviées par le dichlorométhane (5 x 5 litres). La solution extractive obtenue est épuisée par l'acide chlorhydrique N jusqu'à réaction de Valser-Mayer négative. Les solutions aqueuses acides sont réunies, alcalinisées par l'ammoniaque, puis extraites par le dichlorométhane (5 x 2 litres). La solution organique obtenue, lavée à l'eau, séchée sur Na₂SO₄ anhydre et distillée sous pression réduite jusqu'à siccité, fournit un résidu alcaloïdique pesant 5,4 g (Rdt = 0,22%).

Le marc provenant de l'extraction précédente est séché puis lixivié par le méthanol (3 x 5 litres). La solution méthanolique est concentrée au demi puis additionnée d'un volume égal d'acide chlorhydrique N. Elle est ensuite filtrée, puis distillée sous pression réduite jusqu'à élimination complète du méthanol. La solution aqueuse ainsi obtenue est alcalinisée et les alcaloïdes extraits par le dichlorométhane (3 x 2 litres). La solution organique est lavée à l'eau, séchée sur Na₂SO₄ anhydre et distillée sous pression réduite jusqu'à siccité. La chromatographie sur couche mince du résidu obtenu révèle la présence de produits neutres accompagnant les alcaloïdes. Une nouvelle purification des alcaloïdes sous forme de chlorhydrates puis de bases permet de séparer 2,2 g (0,09%) d'alcaloïdes et 4,0 g (0,16%) de produits neutres. Le rendement global en alcaloïdes totaux est donc de 0,31%.

Les différents alcaloïdes et produits neutres sont ensuite isolés par chromatographies successives sur colonnes de silice.

Les données spectrales des composés **1**, **2**, **3**, **4**, **5**, **6**, **7**, **8**, **11**, **12** et **13** sont conformes à celles précédemment décrites. Les composés **1**, **3** et **8** ont de plus été comparés à des échantillons de référence.

DESCRIPTION DES PRODUITS NOUVEAUX.²—Les alcaloïdes nouveaux **9** et **10** ont été obtenus en très faibles quantités, homogènes en ccm, ils n'ont pu être cristallisés; leurs spectres uv ont donc seulement été enregistrés qualitativement.

Oxo-17 ellipticine (**2**). Décrite précédemment, voir référence (2).

Hydroxy-10 ellipticine (**8**). Cristallise d'un mélange chloroforme-méthanol en prismes orangés, $f > 300$; C₁₇H₁₄N₂O; sm: m/z (%): 262 (M⁺) (100), 261 (33), 247 (21), 245 (6); uv: λ max nm (log ϵ) (EtOH): 245 (4,07), 277 (4,28), 294 (4,35), 310 (ép.) (4,12), 338 (3,53), 352 (3,26), 400 (3,19); (EtOH+HCl): 225 (3,85), 245 (4,03), 263 (4,04), 278 (4,01), 317 (4,36), 356 (3,37), 366 (3,46); (EtOH+KOH): 260 (4,23), 272 (ép.) (4,17), 298 (4,19), 311 (4,27); ir (KBr): ν max cm⁻¹: 3400, 3100, 1610, 1490, 1420, 1230, 1160, 1040, 830; rmn ¹H: conforme aux données publiées (18).

N₆-oxy oxo-17 ellipticine (**9**): C₁₇H₁₂N₂O₂; sm: m/z (%): 276 (M⁺) (10) (C₁₇H₁₂N₂O₂, hr: calc. 276, 0899; tr: 276, 0891), 261 (22), 260 (100) (C₁₇H₁₂N₂O, hr: calc. 260, 0949; tr: 260, 0937) 232 (30), 231 (36) (C₁₅H₁₁N₂, hr: calc. 231, 0922, tr: 231, 0916); uv: λ max nm (EtOH): 213, 233 (ép.), 287 (ép.), 296, 323 (ép.), 354; (EtOH+HCl): 213, 237 (ép.), 257 (ép.), 298, 310, 354; rmn ¹H (270 MHz, CDCl₃, TMS) δ : 11,17 (1H, d, échangeable contre D₂O, N-H₁), 10,98 (1H, s, CHO-(16)), 9,28

²Les spectres ont été enregistrés sur les appareils suivants: uv Unicam sp 800; ir Beckman 4250; sm vg Micromass 70 eV; rmn Bruker wh 270.

(1H, s, H₂₁), 8,48 (1H, d, *J*=6 Hz, H₃), 8,32 (2H, m, H₉-H₁₄), 7,70 (2H, m, H₁₀-H₁₂), 7,38 (1H, t, *J*=8 Hz, H₁₁), 3,28 (3H, s, CH₃(19)).

Hydroxy-18 ellipticine (10): C₁₇H₁₄N₂O; sm: *m/z* (‰): 262 M⁺(100) (C₁₇H₁₄N₂O, hr: calc. 262, 1106, tr. 262, 1112), 261(21), 260(52), 247(13), 246(17), 245(46), (C₁₇H₁₂N₂, calc. 245, 1076; tr. 245, 1078), 244(3) (C₁₇H₁₂N₂; calc. 244, 1000, tr. 244, 0980), 234(12), 233(53), 231(36), 218(14), uv: λ max nm (EtOH): 278(ép.), 289, 295, 315(ép.); (EtOH+HCl): 309; rmn ¹H (270 MHz, DMSO, d₆, HMDS) δ: 11,33 (1H, s, échangeable contre D₂O, N-H₁), 9,70 (1H, s, H₂₁), 8,33 (2H, m, H₉-H₁₄), 7,88 (1H, m, H₁₄), 7,44 (2H, m, H₁₀-H₁₂), 7,15 (1H, t, *J*=8 Hz, H₁₁), 5,48 (2H, s, CH₂-18), 5,44 (1H, s, échangeable contre D₂O, OH₁₈), 2,73 (3H, s, CH₃(16)).

CORRELATIONS CHIMIQUES

RÉDUCTION DE L'OXO-17 ELLIPTICINE (2) EN ELLIPTICINE (1).—Une solution de 7 mg d'oxo-17 ellipticine (2) dans 2 ml de diéthylèneglycol, est additionnée de 150 mg de KOH puis de 0,1 ml d'hydrate d'hydrazine. Le milieu réactionnel est chauffé à reflux pendant une heure. Après refroidissement, il est dilué à l'eau puis extrait par l'éther éthylique. La phase étherée, lavée à l'eau, séchée sur Na₂SO₄ anhydre et évaporée sous pression réduite fournit un résidu cristallin constitué de 6 mg d'ellipticine (1) (ccm, uv, sm).

RÉDUCTION DE LA N₅-OXY-OXO-17 ELLIPTICINE (9) EN OXO-17 ELLIPTICINE (2).—Une solution de 5 mg de N₅-oxy-oxo-17 ellipticine (9) dans un mélange de 0,1 ml d'AcOH et de 0,1 ml d'H₂O, est additionnée de 10 mg de limaille de fer. Le milieu réactionnel est maintenu 96 heures à la température du laboratoire, puis dilué par 2 ml d'eau et additionné de 20 mg d'acide citrique. Après alcalinisation par l'ammoniaque, le milieu est extrait par CHCl₃. La phase chloroformique, lavée à l'eau, séchée sur Na₂SO₄ anhydre et évaporée sous pression réduite fournit un résidu constitué de 4 mg d'oxo-17 ellipticine (2) (ccm, uv, sm).

OXYDATION DE LA N₅-OXY ELLIPTICINE (5) EN N₅-OXY-OXO-17 ELLIPTICINE (9).—Une suspension de 10 mg de N₅-oxy-ellipticine (5) dans 1 ml d'acétone est additionnée de 0,2 ml de réactif de Jones (CrO₃, H₂SO₄, Me₂CO) selon (34). Le milieu réactionnel est maintenu 72 heures à la température du laboratoire puis évaporé sous pression réduite jusqu'à élimination de l'acétone. Après dilution par 20 ml d'H₂O, le milieu est alcalinisé par l'ammoniaque puis extrait par CHCl₃. La phase chloroformique, lavée à l'eau, séchée sur Na₂SO₄ anhydre et évaporée sous pression réduite fournit un résidu constitué de 6 mg de N₅-oxy-oxo-17 ellipticine (9) (ccm, uv, sm).

ACÉTYLATION DE L'HYDROXY-18 ELLIPTICINE (10).—Une solution de 5 mg d'hydroxy-18 ellipticine (10) dans 0,25 ml de pyridine est additionnée de 0,25 ml d'Ac₂O. Le milieu réactionnel est maintenu 48 heures à la température du laboratoire et à l'obscurité, puis noyé dans 20 ml d'eau glacée, alcalinisé par la soude et extrait par CHCl₃. La phase chloroformique, lavée à l'eau, séchée sur Na₂SO₄ anhydre et évaporée sous pression réduite fournit un résidu constitué de 5 mg d'acétoxy-18 ellipticine (11): sm: *m/z* (‰): 304 (M⁺)(8), 289(15), 261(19), 246(100), 245(57), 231(53).

REMERCIEMENTS

Nous exprimons nos remerciements au Service de rmn de l'Université René Descartes (Professeur B. P. Roques), en particulier à MM. J. Belleney, A. Delbarre et B. Gaugain pour l'enregistrement des spectres à 270 MHz.

Nous sommes redevables du témoin authentique d'hydroxy-10 ellipticine synthétique au Professeur J. B. Le Pecq (Institut Gustave Roussy, Villejuif, France).

Received 13 January 1982.

BIBLIOGRAPHIE

1. S. Michel, F. Tillequin, M. Koch et L. Ake Assi, *J. Nat. Prod.*, **43**, 294 (1980).
2. S. Michel, F. Tillequin et M. Koch, *Tetrahedron Letters*, **21**, 4027 (1980).
3. A. W. Sangster et K. L. Stuart, *Chem. Rev.*, **65**, 69 (1965).
4. G. B. Martini Bettolo et J. Schmutz, *Helv. Chim. Acta*, **42**, 2146 (1959).
5. P. Lavie et R. Taylor-Smith, *Chem. Ind. (London)*, 781 (1963).
6. N. K. Hart, S. R. Johns et J. A. Lambertson, *Aust. J. Chem.*, **22**, 1283 (1969).
7. A. B. Ray et A. Chatterjee, *Tetrahedron Letters*, **23**, 2763 (1968).
8. S. Goodwin, D. F. Smith et E. C. Horning, *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 1903 (1959).
9. J. Bruneton "Alcaloïdes de divers *Ochrosia* de Nouvelle-Calédonie (Apocynacées)—Alcaloïdes de *Crioceras dipladeniiflorus* (Stapf.) K. Schumann (Apocynacées)", Thèse d'Etat es-Sciences, Université Paris XI (1973).
10. R. B. Woodward, G. A. Iocobucci et F. A. Hochstein, *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 4434 (1959).
11. A. Ahond, H. Fernandez, M. Julia-Moore, C. Poupat, V. Sanchez et P. Potier, *J. Nat. Prod.*, **44**, 193 (1981).
12. J. Le Men et W. I. Taylor, *Experientia*, **21**, 508 (1965).
13. P. Potier et M. M. Janot, *C.R. Acad. Sci. Paris*, **276 C**, 1727 (1973).
14. J. Schmutz et F. Hunziker, *Helv. Chim. Acta.*, **41**, 288 (1958).
15. H. Lehner et J. Schmutz, *Helv. Chim. Acta*, **44**, 444 (1961).
16. G. Buchi, D. W. Mayo et F. A. Hochstein, *Tetrahedron*, **15**, 167 (1961).
17. Huang-Minlon, *J. Am. Chem. Soc.*, **68**, 2487 (1946).
18. N. Dat Xuong, M. T. Adeline, P. Lecoïnte et M. M. Janot, *C.R. Acad. Sci. Paris*, **281 C**, 623 (1975).
19. A. Tate Matsu, H. Yoshizumi, E. Hayashi et H. Nakata, *Tetrahedron Letters*, **31**, 2985 (1967).

20. N. Bild et M. Hesse, *Helv. Chim. Acta*, **50**, 1885 (1967).
21. B. Gilbert, A. P. Duarte, Y. Nakagawa, J. A. Joule, S. E. Flores, J. Aguayo Brissollese, J. C. Campello, E. P. Carazzoni, R. O. Owellen, E. C. Blossey, K. S. Brown et C. Djerassi, *Tetrahedron*, **21**, 1141 (1965).
22. C. L. Chen et H. M. Chang, *Phytochemistry*, **17**, 779 (1978).
23. E. E. Dickey, *J. Org. Chem.*, **23**, 179 (1958).
24. I. A. Pearl, D. L. Beyer et E. E. Dickey, *J. Org. Chem.*, **23**, 705 (1958).
25. I. A. Pearl et D. L. Beyer, *J. Org. Chem.*, **26**, 546 (1961).
26. J. Garnier, N. Kunesch, M. Koch et G. Kunesch, *C.R. Acad. Sci. Paris*, **280 D**, 205 (1975).
27. E. Bourquelot et H. Herissey, *C.R. Hebd. Acad. Sci.*, **144**, 575 (1907).
28. E. Bourquelot et H. Herissey, *C.R. Hebd. Acad. Sci.*, **147**, 750 (1908).
29. N. G. Bisset et A. K. Choudhury, *Phytochemistry*, **13**, 265 (1974).
30. E. Kayode Adesogan et F. N. Morah, *Phytochemistry*, **20**, 2585 (1981).
31. L. Bohlin, W. Rolfsen, J. Strömbom et R. Verpoorte, *Planta medica*, **35**, 19 (1979).
32. P. Boiteau, L. Allorge et T. Sevenet, *Adansonia*, **15-2**, 147 (1975).
33. F. R. Fosberg, P. Boiteau et M. H. Sachet, *Adansonia*, **17-2**, 23 (1977).
34. E. A. Braude et J. S. Fawcett, *Org. Synth. Coll. Vol.*, **4**, 698 (1963).