

ALCALOÏDES DES ÉCORCES DE *NEISOSPERMA GLOMERATA*

ELISABETH SEGUIN, FRANÇOISE HOTELLIER, MICHEL KOCH

Département de Pharmacognosie de l'Université René Descartes. ERA/CNRS No. 950. Faculté des Sciences
Pharmaceutiques et Biologiques. 4, avenue de l'Observatoire 75270 PARIS Cedex 06, France

et THIERRY SEVENET

ICSN du CNRS, 91190 Gif-sur-Yvette, France

ABSTRACT.—Two new alkaloids have been isolated from the bark of *Neisosperma glomerata*. These are tetraphylline pseudoindoxyle (2) and 10-methoxycorynantheol- α -methochloride (3). Evidence is presented for the occurrence of four other new alkaloids that could not be separated: 3,4,5,6-tetrahydroochroposinine (4), 3,4,5,6,18,19-hexadehydroochroposinine (5), 10-methoxy-3,4,5,6-tetrahydro-18,19-dihydrocorynantheol (6), and 10-methoxy-3,4,5,6-tetrahydrocorynantheol (7). Eighteen other known alkaloids were also isolated. Most of them belong to the heteroyohimbane series.

Dans le cadre de notre contribution à l'étude des alcaloïdes des Ochrosiinées (sous-tribu appartenant à la tribu des Rauwolfiées, sous-famille des Plumérioidées, Apocynacées) nous avons précédemment décrit les alcaloïdes des feuilles de *Neisosperma glomerata* (Blume) Fosberg et Sachet, ochrosiinée indonésienne. Celles-ci ne contiennent pas d'alcaloïdes du groupe de l'ellipticine, absents de tous les *Neisosperma* étudiés à ce jour, mais se caractérisent par la présence de dérivés nouveaux de l' α -yohimbine (1). Il paraissait dès lors intéressant d'étendre cette étude aux écorces de cette espèce.

Le présent travail porte sur un lot d'écorces de tronc récolté par l'un de nous (TS) dans la région de Bogor.

Les écorces séchées et pulvérisées sont tout d'abord traitées par NH_4OH et extraites par Et_2O puis CH_2Cl_2 . Après purification selon le procédé habituel, on obtient des bases tertiaires ("Bases T_1 ") avec un rendement de 0,29%. Les marcs séchés sont ensuite épuisés par MeOH . Les solutions extractives sont distillées, diluées à l'aide de HCl N et filtrées. Le filtrat alcalinisé par NH_4OH et épuisé par CH_2Cl_2 fournit de nouveau des bases tertiaires ("Bases T_2 ") avec un rendement de 0,05%. Il est ensuite acidifié et ajouté à la solution aqueuse acide provenant d'une nouvelle lixiviation de la poudre végétale par une solution de HCl N . Par addition d'un excès de réactif de Mayer à pH 2, les alcaloïdes quaternaires précipitent sous forme d'iodomercurates qui sont recueillis et transformés en chlorures par passage sur résine échangeuse d'ions. On obtient ainsi les chlorures de bases quaternaires ("Bases Q") avec un rendement de 0,10%.

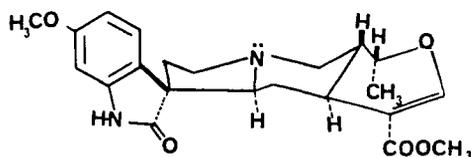
Le traitement des trois groupes de bases ainsi extraites, par chromatographies successives sur colonnes de silice et d'alumine, a permis d'isoler au total 20 alcaloïdes ainsi qu'un mélange inséparable de quatre autres alcaloïdes. Cependant, l'examen des alcaloïdes totaux par chromatographie sur couche mince révèle la présence de traces d'autres alcaloïdes, de polarité très voisine, qui n'ont pas pu être isolés et étudiés.

Parmi les vingt-quatre alcaloïdes obtenus, 18 sont des composés connus qui ont été identifiés par leurs constantes physiques et leurs caractéristiques spectrales.

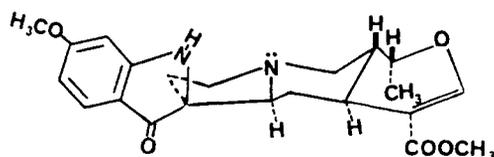
Seize d'entre eux appartiennent aux "bases T_1 " qui renferment quatre alcaloïdes majoritaires: tétraphylline (15%)¹ (2, 3) et tétraphyllinine (7%)¹ (2, 3) qui appartiennent au groupe de l'hétéroyohimbane, périvine (10%)¹ (2, 3) de type acyl-2 indole et ochrolifuanine A (8%)¹ (3), alcaloïde bisindolomonoterpénique classiquement rencontré chez les *Neisosperma*.

¹Rendements exprimés par rapport aux "Bases T_1 ".

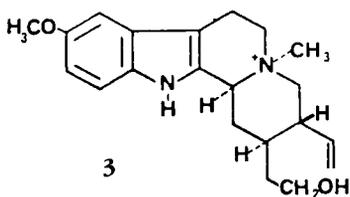
Les autres alcaloïdes du groupe "T₁" n'existent qu'en faible proportion: harmane (2), normacusine B (2, 3), akuamidine (2, 3), ochropposinine (3, 4), diméthoxy-10,11 dihydro-18,19 sitsirikine (16S) (4), raufloridine (3), réserpine (2, 3), isoréserpine (2, 3), iso-3 ajmalicine (3), diméthoxy-10,11 ajmalicine (3) et tétraphylline oxindole-A (1). Ce dernier alcaloïde antérieurement préparé par hémisynthèse (5) est ici rencontré pour la première fois à l'état naturel.



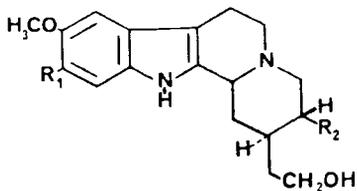
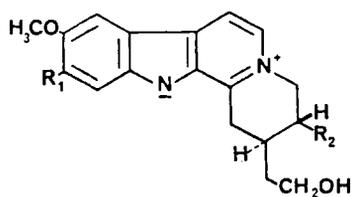
1



2



3



	R ₁	R ₂
4	OCH ₃	CH ₂ -CH ₃
5	OCH ₃	CH=CH ₂
6	H	CH ₂ -CH ₃
7	H	CH=CH ₂

	R ₁	R ₂
8	OCH ₃	CH ₂ -CH ₃
9	OCH ₃	CH=CH ₂
10	H	CH ₂ -CH ₃
11	H	CH=CH ₂

Les deux autres alcaloïdes connus sont des alcaloïdes monoterpéniques, isolés des "bases T₂": cantleyine (6) et vénoterpine (6). Les autres alcaloïdes sont nouveaux.

A l'alcaloïde (2), isolé des "bases T₁", a été attribuée la structure de pseudoindoxyle de la tétraphylline. Cet alcaloïde présente un sm avec un ion moléculaire à m/z 398 et un ion de base à m/z 222 caractéristique de la fragmentation des pseudoindoxyles (7). Son spectre de ^{1}H -rmn, proche de celui de la tétraphylline, présente cependant des modifications dans les déplacements chimiques des protons aromatiques dues à la proximité

d'un groupement carbonyle et un proton échangeable contre D₂O vers 5 ppm (NH amide).

Le spectre uv (cf. partie expérimentale) est proche de ceux de pseudoindoxyle d'alkaloïdes voisins (7, 8). La structure de l'alkaloïde **2** a été confirmée par corrélation chimique avec la tétraphylline, selon un procédé antérieurement décrit (9): la tétraphylline, oxydée par le tétraacétate de plomb conduit à son acétoxy-indolénine qui se transpose en milieu alcalin pour donner son pseudoindoxyle A (10) identique à **2**.

Les autres alcaloïdes nouveaux ont été isolés des "bases Q".

L'alkaloïde **3**, très majoritaire (80% des "bases Q"), présente des caractéristiques spectrales proches de celles du perchlorate du méthoxy-10 N₄-β-méthylcorynanthéol (11). On observe cependant des différences, principalement entre les spectres de rmn-¹H des deux composés. En effet, outre un déplacement chimique différent du groupement N-méthyle (3,15 ppm pour **3** au lieu de 3,00 ppm pour le méthoxy-10 N₄-β-méthylcorynanthéol) d'autres différences inexplicables s'observent au niveau du déplacement chimique et de la nature des signaux attribués aux protons vinyliques (11). C'est pourquoi, afin de lever toute ambiguïté, le spectre de rmn-¹H de **3** a été comparé avec celui d'un modèle préparé à partir du corynanthéol. Celui-ci, traité par CH₃I en solution dans Me₂CO conduit à un mélange des deux diastéréoisomères en N₄ α et β dans les proportions 3:2, ainsi que cela a été antérieurement décrit (12). A l'exception de la zone des protons aromatiques et du signal du méthoxyle en 10, les signaux observés sur le spectre de l'alkaloïde **3** sont absolument identiques à ceux de l'iodure de N₄-α-méthylcorynanthéol. La configuration en **4** et donc la structure **3** ont été confirmées par dichroïsme circulaire (12).

Une autre fraction alcaloïdique (8 mg d'un produit homogène en ccm) présente un spectre uv, de type anhydronium (λ max nm, EtOH neutre et acide 236, 271, 313, 330 ép, 394; EtOH alcalin 248, 290, 332). L'analyse des spectres de masse et de rmn montre qu'il s'agit, en réalité, d'un mélange de quatre alcaloïdes: **4**, **5**, **6** et **7**. Le sm présente en effet des signaux groupés par deux: 354 (M⁺ alcaloïde **4**), 352 (M⁺ alcaloïde **5**), 324 (M⁺ alcaloïde **6**), 322 (M⁺ alcaloïde **7**), ainsi que d'autres fragments présentant les mêmes différences de masse. Sur le spectre de rmn-¹H, on observe à la fois un triplet d'une chaîne éthyle et des signaux de protons vinyliques, des singulets de méthoxyles aromatiques et une zone aromatique complexe. Afin de confirmer la structure des quatre alcaloïdes, leur mélange est réduit par le borohydrure de potassium dans MeOH. On obtient le mélange des quatre composés **8**, **9**, **10**, et **11** qu'il n'a pas été possible de séparer en raison de leur trop faible quantité. Ce mélange, soumis à une hydrogénation catalytique, en présence de palladium sur CaCO₃, conduit à deux alcaloïdes qui ont pu être séparés et identifiés par leurs constantes physiques et leurs caractéristiques spectrales au méthoxy-10 dihydrocorynanthéol (**10**) (13) et à l'ochroprosinine (**8**) (comparaison directe avec un échantillon authentique).

Si la tétraphylline est, comme dans le cas des feuilles, un alcaloïde majeur des écorces de *N. glomerata*, ces dernières présentent une composition alcaloïdique très différente de celle des feuilles avec une teneur en alcaloïdes totaux beaucoup plus faible, une grande diversité d'alkaloïdes et l'absence de dérivés de la yohimbine qui sont abondants chez les feuilles.

Cependant, d'un point de vue chimiotaxonomique, il est surtout important de constater, comme chez les feuilles, l'absence de l'ellipticine ou de ses dérivés, ce qui confirme une nouvelle fois la parfaite concordance existant entre ce critère chimique et les critères botaniques retenus par Boiteau et Fosberg pour scinder les genres *Neisosperma* et *Ochrosia* (14, 15). Il existe d'ailleurs une certaine analogie entre la composition alcaloïdique des écorces de *N. glomerata* et celle des écorces d'*Ochrosia nakaiana* Koidz (11), récemment révisé en *Neisosperma nakaiana* (Koidzumi) Fosberg et Sachet (15).

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Les points de fusion (non corrigés) ont été déterminés sur microscope Reichert et les pouvoirs rotatoires mesurés sur un polarimètre Perkin-Elmer 141. Les spectres ont été enregistrés sur les appareils suivants: absorptions dichroïques; Jouan Roussel, type III; uv, Unicam SP 1700; ir; Unicam SP 1100; masse; VG Micromass 70-70 F à 70 eV; rmn-¹H; Bruker WH 270.

MATERIAL VEGETAL.—Les écorces de tronc de *N. glomerata* ont été récoltées en Indonésie près de Bogor. Un échantillon d'herbier a été déposé au Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris, sous le numéro Sévenet 1808.

EXTRACTION ET ISOLEMENT DES ALCALOÏDES.—Les écorces de tronc (4,4 kg), réduites en poudre fine, puis humectées par la moitié de leur masse de NH₄OH à 10%, sont lixiviées par Et₂O (7 × 7 litres). La solution étherée est épuisée par HCl N jusqu'à réaction de Valser-Mayer négative. La phase aqueuse acide est alcalinisée et extraite par Et₂O. Après lavage à H₂O puis séchage sur Na₂SO₄ anhydre, les solutions étherées sont distillées sous pression réduite et fournissent un résidu alcaloïdique pesant 8,5 g (rendement partiel: 0,19%). Les marcs sont ensuite extraits de la même manière à l'aide de CH₂Cl₂. On obtient un nouveau résidu alcaloïdique pesant 4,3 g (rendement partiel: 0,10%). L'ensemble de ces bases tertiaires constitue les "bases T₁."

La poudre végétale séchée est ensuite lixiviée par du MeOH. Après évaporation sous pression réduite d'une partie du MeOH, dilution à l'aide de HCl N, filtration, puis alcalinisation, on extrait par du CH₂Cl₂. Le résidu alcaloïdique obtenu pèse 2,1 g et constitue les "bases T₂" (rendement partiel 0,05%).

La phase aqueuse acidifiée est ensuite réunie à celle résultant d'une nouvelle lixiviation de la poudre végétale par de HCl N. Par addition d'un excès de réactif de Mayer, à pH=2, les alcaloïdes quaternaires précipitent sous forme d'iodomercurates. Le précipité, lavé à H₂O chaude, est redissous dans un mélange Me₂CO-MeOH-H₂O (6:2:1). La solution traitée par passage à travers une colonne de résine échangeuse d'anions (Amberlite IRA 410, en phase Cl⁻), puis distillée jusqu'à siccité, fournit les chlorures d'alcaloïdes quaternaires ("bases Q" - rendement: 0,10%).

La teneur en alcaloïdes totaux est donc de 0,44%.

Les divers alcaloïdes sont ensuite séparés par chromatographies successives sur colonne de silice et d'alumine.

Les données spectrales de tous les composés connus isolés sont conformes à celles antérieurement décrites. La tétraphylline, la tétraphyllinine, l'ochrolifuanine A, l'ochropposinine, la raufloridine, la réserpine, l'isoresérpine, l'iso-3 ajmalicine et la cantleyine ont, de plus, été identifiées par comparaison avec des échantillons de référence.

Pseudoindoxyle de la tétraphylline (2): uv, λ (EtOH) (log ε) 230(3,55), 247(3,54), 282(3,19), 377(2,73) nm; ir, (KBr) ν max 3440, 1710, 1620, 1450 cm⁻¹; sm *m/z* (%) 399(12), 398(46)M⁺, 381(21), 224(11), 223(74), 222(100), 176(12); rmn-¹H (270 MHz, CDCl₃, TMS) δ 7,47 (d, 1H, J=8,5 Hz, C₉-H), 7,40 (d, 1H, J=1,5 Hz, C₁₀-H), 6,18 (d, 1H, J=2 Hz, C₁₂-H), 5,08 (s, 1H éch. D₂O, NH), 4,33 (m, 1H), 3,82 (s, 3H, Ar-OCH₃), 3,55 (s, 3H, COOCH₃), 3,04 (d, J=8 Hz), 1,11 (d, 3H, J=7 Hz, CH₃-18).

Méthoxy-10 Nb -α- méthylcorynanthéol (3): f=237° (MeOH); [α]²⁰_D=+45° (MeOH, C=1); dc λ nm (Δε), EtOH 230 (-1,8), 268 (+1,6), 300 (-0,7); uv, λ (EtOH) (log ε) 210(5,52), 271(4,94), 296(4,69), 307(4,61) nm; ir, (KBr) ν max 3460, 1630, 1610, 1500, 1450, 1230, 950, 910, 830 cm⁻²; sm *m/z* (%) 342(7), 341(20)M⁺, 340(32), 339(18), 328(12), 327(34), 326(61), 325(39), 281(11), 252(11), 251(100), 215(10), 200(20), 199(14), 186(14); rmn-¹H (270 MHz, DMSO, TMS) δ 11,20 (s, 1H éch., D₂O, NH), 7,24 (d, 1H, J=8 Hz, C₁₂-H), 7,00 (d, 1H, J=2 Hz, C₉-H), 6,77 (dd, 1H, J=8 et 2 Hz, C₁₁-H), 5,55 (m, 1H, -CH=CH₂), 5,26 (d large, 2H, -CH=CH₂), 4,73 (dd, 1H, J=12 et 4 Hz), 4,48 (t, 1H éch. D₂O, J=5 Hz, OH), 4,20 (m, 1H), 3,75 (s, 3H, Ar-OCH₃), 3,15 (s, 3H, N-CH₃).

Alcaloïdes 4, 5, 6, 7: uv λ (EtOH) 236, 271, 313, 330 (ép), 394 nm; λ EtOH alcalin 248, 290, 332 nm; sm *m/z* (%) 354(29)M⁺ 4, 352(21)M⁺ 5, 339(33), 337(23), 325(22), 324(80)M⁺ 6, 323(25), 322(49)M⁺ 7, 321(10), 310(19), 309(81), 308(13), 307(46), 295(15), 293(14), 291(13), 281(19), 280(25), 279(100), 278(16), 277(49), 265(16), 263(14), 252(14), 251(54), 250(11), 249(23), 237(27); rmn-¹H (270 MHz, CDCl₃, TMS) δ 7,00→7,82 (m, aromatiques), 5,51 (m, -CH=CH₂, 6 et 7), 6,22 (m, CH=CH₂, 6 et 7), 4,00 (s, Ar-OCH₃), 3,93 (s, 2 Ar-OCH₃), 0,95 (t, CH₃-18 4 et 5).

REMERCIEMENTS

Nous exprimons nos remerciements au Docteur I. Lubis (Treub Laboratories, Kebum Raya, Bogor, Indonésie) pour son aide lors de la récolte du matériel végétal.

Nous tenons également à remercier Madame le Professeur L. Le Men (Faculté de Pharmacie, F. 51100 Reims) à qui nous sommes redevables d'un échantillon de référence de tétraphylline oxindole A. Monsieur

le Professeur A. Cavé (Faculté de Pharmacie, F.92290 Chatenay Malabry) pour la fourniture de spectres de référence de diméthoxy-10,11 picraphylline et Monsieur le Professeur J. Poisson (Faculté de Pharmacie, F.92290 Chatenay Malabry) pour la fourniture de spectres de référence de Normacusine B.

BIBLIOGRAPHIE

1. E. Seguin, M. Koch et T. Sévenet, *J. Nat. Prod.*, **45**, 738 (1982).
2. M. Hesse, "Indolalkaloide in Tabellen," vol. I, Berlin: Springer-Verlag, 1964, et vol. II, 1968, et références citées.
3. B. Gabetta et G. Mustich, "Spectral Data of Indole Alkaloids." Milan: Inverni della beffa, 1975, et références citées.
4. A. Ahond, H. Fernandez, M. Julia-Moore, C. Poupat, V. Sanchez, P. Potier, S. K. Kan et T. Sévenet, *J. Nat. Prod.*, **44**, 193 (1981).
5. F. Titeux, L. Le Men-Olivier et J. Le Men, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1473 (1976).
6. G. A. Cordell, "The monoterpene alkaloids," vol. 26, in: "The Alkaloids." Ed. by R.H.F. Manske, New York: Academic Press, 1977, p. 431.
7. N. Finch, I.H.C. Hsu, W.I. Taylor, H. Budzikiewicz et C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 2620 (1964).
8. J.D. Phillipson et N. Supavita, *Phytochemistry*, **22**, 1809 (1983).
9. N. Finch, C.W. Gemenden, I.H.C. Hsu, A. Kerr, G.A. Sim et W.I. Taylor, *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 2229 (1965).
10. N. Finch, W.I. Taylor et P.R. Ulshafer, *Experientia*, **19**, 296 (1963).
11. S. Sakai, N. Aimi, K. Takahashi, M. Kitagawa, K. Yamaguchi et J. Haginiwa, *Yakugaku Zasshi*, **94**, 1274 (1974).
12. G. Tóth, F. Hetényi et O. Clauder, *Liebigs Ann. Chem.*, 1096 (1978).
13. N.J. Dastoor, A.A. Gorman et H. Schmid, *Helv. Chim. Acta*, **50**, 213 (1967).
14. P. Boiteau, L. Allorge, T. Sévenet et P. Potier, *Adansonia*, **14**, 485 (1974).
15. F.R. Fosberg, P. Boiteau et M.H. Sachet, *Adansonia*, (Ser. 2) **17**, 23 (1977).

Received 15 December 1983