

## KOPSIA PAUCIFLORA,<sup>1</sup> I. STRUCTURE ET CONFIGURATION ABSOLUE DE NOUVEAUX ALCALOÏDES INDOLIQUES DIMÈRES DE TYPE ASPIDOSPERMANE-EBURNANE DE LA SÉRIE PLEIOMUTINE-KOPSOFFINE

C. KAN-FAN, T. SEVENET, H.P. HUSSON,\*

*Institut de Chimie des Substances Naturelles du CNRS, 91190 Gif-sur-Yvette France*

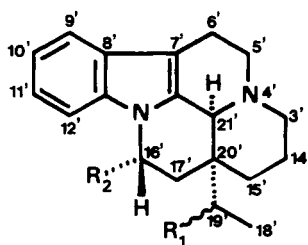
et K.C. CHAN

*Department of Chemistry, University of Malaysia, Kuala-Lumpur Malaysia*

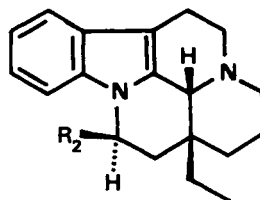
Nous avons isolé récemment de *Kopsia officinalis* (1) Tsiang et P.T. Li un alcaloïde dimère de type aspidospermane-ébournane, la (+)-kopssoffine (**1**) qui présentait la particularité d'avoir la partie ébournane énantiomère de celle équivalente d'un autre dimère, la (-)-pléiomutine isolée d'un *Hunteria* (2) et d'un *Pleiocarpa* (3). Cette particularité, non rencontrée auparavant dans les alcaloïdes indoliques dimères, nous a incités à examiner les alcaloïdes de diverses espèces de *Kopsia* et en particulier de *Kopsia pauciflora* Hook f. (Apocynacées).

Le genre *Kopsia* appartient à la tribu des Rauvolfiées, sous-famille des Plumérioidées, famille des Apocynacées. Australasien, ce genre compte une trentaine d'espèces du sud de la Chine aux Philippines. Le fruit comporte un appendice latéral rhiniforme caractéristique. L'espèce étudiée *K. pauciflora* est un arbrisseau de 1 à 4 m de haut à fleurs blanc-jaunâtre dont le tube de la corolle mesure 3 cm.

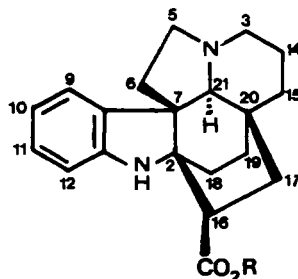
Au cours de cette étude ont été isolés des écorces de tiges de *K. pauciflora* cinq alcaloïdes dimères dont trois nouveaux et cinq monomères dont deux nouveaux (4). Les dimères connus sont la (-)-norpléiomutine (**3**) et la (+)-kopssoffine (**1**) que nous avons précédemment isolée de *K. officinalis* (1). Nous rapportons dans ce mémoire l'étude de la structure de deux dimères nouveaux **2** et **4**.



- 1  $R_1=H, R_2=5$  (position C-10)  
Kopssoffine
- 2  $R_1=OH, R_2=5$  (position C-10)  
Kopssoffinol



- 3  $R_2=5$  (position C-10)  
Norpléiomutine
- 4  $R_2=6$  (position C-10)



- 5 Kopsinine  $R=Me$
- 6 Acide Kopsinique  $R=H$

<sup>1</sup>Recherche réalisée dans le cadre d'un programme de coopération scientifique entre l'Université de Malaisie et le Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS).

Le dimère le plus polaire **4**,  $M^{++}$  602,  $[\alpha]^{20}_D -130^\circ$  ( $CHCl_3$ , C: 0,54%) présente des bandes d'absorption à 3400, 2700, 1640 (carbonyle lié) et 1400

$\text{cm}^{-1}$  dans le spectre ir. On note dans le spectre de rmn de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz, TMS  $\delta=0$ ) la présence d'une chaîne éthyle ( $\tau$ ,  $\delta=0,95$ ) et d'un proton en C-16' (dd,  $\delta=5,0$ ), caractéristique des dimères de type **1** et **3**.

L'absence dans le même spectre du méthyle d'un groupement carbo-méthoxyle et les données ir suggèrent la présence d'une fonction acide. Cette hypothèse est confirmée par l'obtention de la (-)-norpléiomutine (**3**) par méthylation de **4** en solution étherée par  $\text{CH}_2\text{N}_2$ . L'alcaloïde **4** est donc l'acide correspondant à l'hydrolyse de la fonction ester de la norpléiomutine (**3**).

L'isolement d'alcaloïdes indoliques ayant une fonction acide carboxylique en C-16 au lieu d'une fonction ester n'est pas fréquent à notre connaissance. Il est peu probable que ce dimère soit un artefact étant donné que l'on trouve dans la même plante des alcaloïdes sous forme d'ester, ce qui exclut une hydrolyse au cours de l'extraction; de plus, **4** est le plus abondant des dimères.

L'alcaloïde **2**,  $F>250^\circ$  ( $\text{Me}_2\text{CO}$ ,  $[\alpha]^{20}_{\text{D}} +21^\circ$ , ( $\text{CHCl}_3$ , C:1%) présente, dans son spectre de masse, un ion moléculaire à  $\text{M}^{++} 632$ , correspondant à  $\text{C}_{40}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_3$  (haute résolution: calc. 632,3720, tr. 632,3728). De plus, on note en sm les ions caractéristiques d'une partie kopsinine ayant perdu 14 unités de masse par rapport aux fragments observés avec la pléiomutine, comme cela avait été remarqué pour la (+) kopsiffine **1** (1) ou la (-) norpléiomutine **3** (2). Le déplacement de 16 unités de masse des ions caractéristiques de la partie éburnane ( $278 \rightarrow 294$  et  $252 \rightarrow 268$ ) (3) permet de localiser, dans cette moitié, l'atome d'oxygène supplémentaire de **2** par rapport à **1** ou à **3**.

Finalement la présence en rmn de  $^1\text{H}$  d'un doublet de trois protons ( $J=6\text{Hz}$ ,  $\delta=2,2$ ) et d'un quadruplet d'un proton ( $J=6\text{Hz}$ ,  $\delta=3,95$ ) à la place d'une chaîne éthyle rendent compte de la présence d'une fonction alcool secondaire en C-19', sans qu'il soit toutefois possible

d'en déterminer la configuration relative. Les signaux du proton en C-16' (dd,  $\delta=4,95$ ) et des protons aromatiques sont identiques à ceux observés pour la kopsiffine (**1**), ce qui établit la nature de la jonction entre les moitiés kopsinine (**5**) et éburnane. La courbe de dichroïsme circulaire du dimère **2** est identique à celle de la kopsiffine, ce qui fixe la configuration absolue de ce nouveau dimère que nous nommons (+)-kopsiffinol. L'examen du spectre  $^{13}\text{C}$  du kopsiffinol **2** comparé à celui de la kopsiffine (**1**) confirme bien la parenté de ces deux dimères (voir Tableau 1). Il existe peu d'exemples d'alcaloïdes de type éburnane fonctionnalisés en C-19; cependant, nous avons également isolé de la même plante (4) l'hydroxy-19 éburnamine précurseur de la formation du kopsiffinol (**2**) par condensation avec la kopsinine (**5**).

En conclusion, il est remarquable d'observer, dans une même espèce, des alcaloïdes des deux séries pléiomutine et kopsiffine traduisant la présence de la partie éburnane sous forme racémique, avant couplage avec la partie kopsinine au cours de la biosynthèse. Ce fait incite à enregistrer systématiquement les courbes de dichroïsme circulaire de ce type de dimères, le seul examen des spectres de rmn de  $^1\text{H}$  et de  $^{13}\text{C}$  ou du pouvoir rotatoire ne permettant pas de déterminer la configuration absolue de ces alcaloïdes.

L'isolement de ces dimères présente un intérêt chimiotaxonomique certain. En effet, les dimères de type aspidospermane-éburnane étaient jusque-là connus seulement dans la tribu des Carissées, sous-famille des Plumérioidées [*Pleiocarpa* (3) et *Hunteria* (2)]. L'insulopinine, dont la structure proposée est proche de **1** et **3**, vient d'être isolée d'une Carissée proche, *Melodinus insulae-pinorum* de Nouvelle-Calédonie (5).

Le squelette kopsane est principalement rencontré dans les genres *Kopsia*, *Melodinus*, *Aspidosperma*, *Alstonia*, appartenant tous à la sous-famille des

TABLEAU 1. Spectres de rmn de  $^{13}\text{C}$  de la Kopsoffine (1) et du Kopsoffinol (2)<sup>a</sup>

	1	2		1	2
C-2 . . . . .	67,1	66,9	C-2' . . . . .	134,8	133,8
C-3 . . . . .	47,7	47,5	C-3' . . . . .	44,7	44,3
C-5 . . . . .	51,1	50,6 <sup>b</sup>	C-5' . . . . .	51,1	50,9 <sup>b</sup>
C-6 . . . . .	36,6	36,4	C-6' . . . . .	16,8	16,8
C-7 . . . . .	58,4	58,3	C-7' . . . . .	104,9	104,5
C-8 . . . . .	136,9	136,7	C-8' . . . . .	128,8	128,5
C-9 . . . . .	120,4	120,4	C-9' . . . . .	117,8	117,7
C-10 . . . . .	141,8	141,6	C-10' . . . . .	120,4	120,2
C-11 . . . . .	125,8	125,3	C-11' . . . . .	119,2	119,2
C-12 . . . . .	112,5	112,3	C-12' . . . . .	111,3	111,1
C-13 . . . . .	148,9	148,9	C-13' . . . . .	134,3	132,1
C-14 . . . . .	17,2	17,1	C-14' . . . . .	20,9	21,4 <sup>b</sup>
C-15 . . . . .	34,0	33,9 <sup>b</sup>	C-15' . . . . .	24,5	21,8 <sup>b</sup>
C-16 . . . . .	43,9	43,8	C-16' . . . . .	56,2	56,1
C-17 . . . . .	31,8	31,7	C-17' . . . . .	45,3	43,9
C-18 . . . . .	32,4	32,2	C-18' . . . . .	7,6	17,6
C-19 . . . . .	34,0	33,8 <sup>b</sup>	C-19' . . . . .	28,9	78,5
C-20 . . . . .	34,9	35,1	C-20' . . . . .	35,1	37,5
C-21 . . . . .	68,2	68,1	C-21' . . . . .	59,8	60,1
C=O . . . . .	175,1	174,6			
OMe . . . . .	52,1	52,0			

<sup>a</sup>Les spectres ont été enregistrés dans  $\text{CDCl}_3$  avec le TMS comme étalon interne  $\delta=0$ .

<sup>b</sup>Valeurs proches pouvant être interchangeables.

Plumérioidées, tandis que le squelette éburnane, plus répandu, débordé le cadre de cette sous-famille [criophylline (6) de *Crioceras diplandeniiflorus*, sous-famille des Tabernaemontanoïdées].

De telles comparaisons peuvent conduire à réexaminer la parenté possible entre des genres classés en tribus et sous-familles en fonction de la nature du fruit (7,8).

## PARTIE EXPERIMENTALE

Les spectres ir ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer 257, les spectres uv sur un appareil Bausch et Lomb et les courbes de dc sur un dichrographe Jobin Yvon Auto-Dichrographe Mark V. Les spectres de rmn de  $^1\text{H}$  ont été réalisés sur l'appareil I.E.F. 400 (400 MHz) à l'Institut d'Electronique Fondamentale d'Orsay et les spectres de  $^{13}\text{C}$  à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles de Gif-sur-Yvette ainsi que les spectres de masse.

**MATÉRIEL VÉGÉTAL.**—Le matériel végétal a été récolté en octobre 1982 à Silabukan (District de Lahad Datu Sabah-Malaisie). Un échantillon d'herbier No Weber 124 a été déposé à l'Herbier du Département de Chimie de l'Université de Malaisie. La détermination effectuée en Malaisie (J.F. Weber) a été confirmée en juin 1983 par A.J.M. Leeuwenberg à Wageningen (Pays-Bas).

**EXTRACTION ET PURIFICATION.**—Les écorces de tiges séchées et pulvérisées ont été extraites, après alcalinisation par une solution d'ammoniaque, par le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  dans un appareil de Soxhlet. Le rendement en alcaloïdes totaux est de 3,80 g%. Les alcaloïdes "monomères" et "dimères" sont séparés par filtration sur colonne de Séphadex LH-20 d'une solution  $\text{MeOH-CHCl}_3$  (70:30).

Des purifications ultérieures ont été effectuées par chromatographies sur colonne d'alumine suivies de chromatographies préparatives sur couche de silice.

A partir de 5 g d'alcaloïdes totaux, ont été isolés: la kopsoffine (1) (0,070 g), le kopsoffinol (2) (0,120 g), la norpléiomutine (3) (0,145 g) et le dimère acide (4) (0,257 g).

(+)-Kopsoffine (1).— $f=240^\circ$  ( $\text{Me}_2\text{CO-Et}_2\text{O}$ );  $[\alpha]^{20}_D +4^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ , c: 1%); dc  $\Delta\epsilon$  245+8,09,  $\Delta\epsilon$  300+1,93.

(+)-Kopsoffinol (2):  $f>250^\circ$  ( $\text{Me}_2\text{CO}$ );  $[\alpha]^{20}_D +21,1^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ , c: 1%); dc  $\Delta\epsilon$  245+10,79,  $\Delta\epsilon$  300+2,57.

(-)-Norpléiomutine (3): amorphe;  $[\alpha]^{20}_D -54,8^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ , c:3%); dc  $\Delta\epsilon$  245-6,19,  $\Delta\epsilon$  300-1,51.

(-)-Dimère (4):  $f>260^\circ$  ( $\text{Me}_2\text{CO}$ );  $[\alpha]^{20}_D -130^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ , c:0,54).

**MÉTHYLATION DE L'ACIDE (4).**—50 mg de l'acide (4) sont dissous dans 50 ml d' $\text{Et}_2\text{O}$  contenant un excès de  $\text{CH}_2\text{N}_2$ . Après agitation 24 h à

température ordinaire, on amène à sec sous pression réduite. Le produit obtenu est en tous points identique à la (-) norpléiomutine (Rf, [ $\alpha$ ] D, dc, sm, rmn de  $^1\text{H}$ ).

#### REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient M. J.-F. Weber et le Département des Forêts de Sandakan/Sabah (Dr. Liew That Chim et Dr. Aban Gibot) pour la récolte du matériel végétal. Les courbes de dichroïsme circulaire ont été enregistrées par le Dr. Ad. Cavé (Laboratoire de Pharmacologie-Endocrinologie de Montpellier) que nous remercions vivement pour son aide précieuse et le Dr. S.K. Kan (I.E.F. d'Orsay) pour les spectres rmn 400 MHz.

#### REFERENCES

1. X.Z. Feng, C. Kan, H.P. Husson, P. Potier, S.K. Kan, et M. Lounasmaa, *J. Nat. Prod.*, **47**, 117 (1984).
2. C. Lavaud, G. Massiot, J. Vercauteren et Le Men-Olivier, *Phytochemistry*, **21**, 445 (1982).
3. D.W. Thomas, H. Achenbach et K. Biemann, *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 1537 (1966).
4. C. Kan, J.F. Weber, et H.P. Husson, travaux non publiés.
5. F. Barchily, S. Baassou, M. Mehri, M. Plat, T. Sévenet, et J. Pusset, *Ann. Pharm. Fr.*, (submitted for publication).
6. A. Cavé, J. Bruneton, A. Ahond, A.M. Bui, H.P. Husson, C. Kan, G. Lukacs, et P. Potier, *Tetrahedron Lett.*, 5081 (1973).
7. M. Pichon, *Mém. Mus. Nat. Hist. Nat.*, (N.S.), **24**, 111 (1948); *ibid.*, **27**, 153 (1948).
8. L. Allorge, H.P. Husson et C. Sastre, *C. R. Soc. Biogéogr.*, **57**, 112 (1980).

Received 14 May 1984