

ALCALOÏDES INDOLIQUES DE *RAUVOLFIA BIAURICULATA*

J. ABAUL,* E. PHILOGÈNE, P. BOURGEOIS,* G. MÉRAULT,

Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, UER des Sciences Exactes et Naturelles,
97167 Pointe-à-Pitre Cédex, Guadeloupe

C. POUPAT,* A. AHOND,* et P. POTIER

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

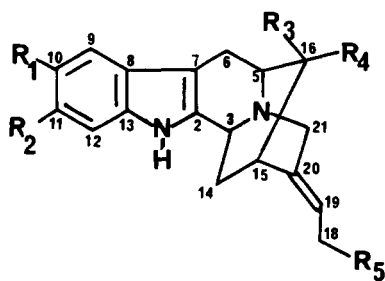
ABSTRACT.—A new alkaloid, 18-hydroxylochnerine (3), has been obtained from leaves, stem, and root barks of *Rauvolfia biauriculata*. Eight other known alkaloids were also isolated: lochnerine (1), lochvinerine (2), 21-hydroxycyclolochnerine (6), vomilenine, perakine, ajmaline, corynanthine, and reserpiline. A tenth alkaloid (7), a yohimbine, has been isolated; the stereochemistry could not be determined, and its exact structure remains unknown.

Plusieurs espèces du genre *Rauvolfia*¹ ayant fourni des alcaloïdes largement utilisés en thérapeutique, de très nombreuses autres espèces ont suscité des travaux chimiques. C'est l'étude chimique d'une espèce américaine, localisée dans les îles médianes de l'arc antillais, *Rauvolfia biauriculata* Muell. Arg. (Apocynacé), qui constitue l'objet de ce travail (1).

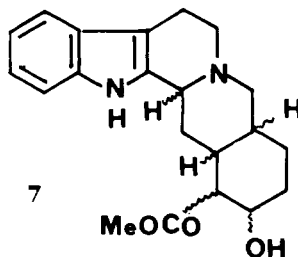
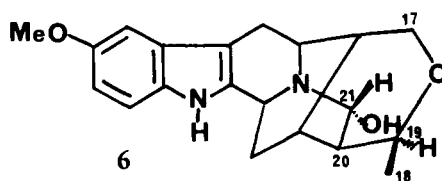
R. biauriculata est un petit arbre des régions montagneuses et humides de la Guadeloupe: décrit, dès 1897, par R.P. Duss (2) puis, plus récemment, par A.S. Rao (3) et J. Fournet (4), son aire de répartition est limitée à la Guadeloupe, la Dominique, la République Dominicaine et, peut-être, Trinidad. Sa richesse en latex est à l'origine de son appellation locale "bois-lait-montagne."

Feuilles, écorces de tiges et de tronc, et écorces de racines ont été étudiées pour leur contenu alcaloïdique.

Les neuf alcaloïdes identifiés sont de type corynane, à squelette yohimbane, hétéroyohimbane ou sarpagane comme la plupart des alcaloïdes déjà décrits dans les *Rauvolfia*. Huit d'entre-eux ont déjà été signalés dans d'autres espèces, un semble nouveau; un dixième n'a été que partiellement caractérisé.



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
1	OMe	H	H	CH ₂ OH	H
2	OMe	H	CH ₂ OH	H	H
3	OMe	H	H	CH ₂ OH	OH
4	H	OMe	CH ₂ OH	H	H
5	H	OMe	CH ₂ OH	H	OH



¹D'après le Code International de Botanique (E.G. Voss, éd. Bohn, Scheltema et Holkema, Utrecht, 1983, art. 73-7) l'orthographe doit être celle choisie par C. Linné (*Species plantarum*, 1753, p. 208) et C.P. Plumier (*Pl. amér.*: 19, icônes, éd. Burmann, Amsterdam, 1755, p. 236) qui avaient latinisé le nom de *Rauwolf* en lui dédiant le nom du genre *Rauvolfia* (substituant un v au w).

La lochnérine (**1**) est, de loin, le constituant majoritaire (14 g/kg soit 58,3% des alcaloïdes totaux dans les écorces de tiges): déméthylée en sarpagine selon une technique déjà décrite (5,6), elle a été identifiée grâce à ses constantes physiques et données spectrales et par comparaison avec un échantillon de référence. Son épimère en 16, la lochvinérine (**2**) a également été identifiée grâce à ses constantes physiques et données spectrales, comparées à celles décrites (7).

Le composé **3**, qui présente des caractéristiques spectrales très proches de celles de la lochnérine (**1**), n'a pu être identifié à aucun composé connu. Son sm présente un pic moléculaire à M^+ 340, c'est-à-dire supérieur de 16 unités à celui de la lochnérine; la présence de fragments à m/z 323 ($M^+ - 17$) et m/z 322 ($M^+ - 18$) est en faveur d'un hydroxyle supplémentaire. Son spectre uv est analogue à celui de la lochnérine: l'absence de déplacement bathochrome en milieu alcalin exclut que cet hydroxyle soit phénolique. L'examen du spectre de ${}^1\text{H}$ rmn, par comparaison avec celui de la lochnérine, laisse présager la même substitution en 10 tandis que la disparition du doublet du méthyle vinylique à 1,63 ppm et le changement du quadruplet à 5,47 ppm du $\text{C}_{19}\text{-H}$ de la lochnérine en un triplet à 5,60 ppm ($J=7$ Hz) laissent prévoir la transformation du CH_3 en 18 en un groupement CH_2OH . L'acétylation de **3** fournit un composé *O,O*-diacétylé; on note sur le spectre ${}^1\text{H}$ rmn de ce composé les deux signaux des deux méthyles d'acétyle à 2,0 et 2,04 ppm et deux doublets de doublets à 4,48 et 4,56 ppm ($J=12$ et 7 Hz) couplant avec le triplet à 5,6 ppm du $\text{C}_{19}\text{-H}$, ce qui confirme la stéréochimie en 16 (identique à celle de la lochnérine) et le groupement CH_2OH en 18. La comparaison du spectre de ${}^{13}\text{C}$ rmn de **3** avec ceux de la lochnérine, de la gardnérine (**4**) et de l'hydroxy-18 gardnérine (**5**) (8) a également confirmé la substitution en 10, la stéréochimie en 16, le groupement CH_2OH en 18 et la configuration *E* de la chaîne en 20 (tableau 1) nous amenant à attribuer à **3** la structure de l'hydroxy-18 lochnérine.

TABLEAU 1. Spectres de Rmn de ${}^{13}\text{C}$ de **1**, **3**, **4**, et **5**^a

C	1	4	5	3
2	137,3	138,3	138,2	138,5
3	49,8	51,2	50,3	49,8
5	54,4	51,2	53,0	54,3
6	27,4	27,9	23,2	26,7
7	102,9	104,1	106,0	102,8
8	127,6	123,0	—	127,7
9	99,8	118,7	118,8	99,9
10	153,0	108,7	108,7	153,2
11	109,8	156,4	156,4	110,0 ^b
12	111,5	96,0	96,0	111,7 ^b
13	131,2	137,8	137,6	131,3
14	33,5	34,4	27,9	33,4
15	27,4	28,4	27,9	27,7
16	44,4	45,3	43,6	43,8
17	63,4	64,7	60,0	63,2
18	12,5	13,0	58,0	56,7
19	114,9	115,2	120,0	122,2
20	140,4	139,2	144,0	140,2
21	55,5	56,6	56,6	55,4
MeO	55,5	55,5	55,6	55,4

^aLes spectres de **1** et **3** ont été enregistrés dans le $\text{DMSO-}d_6$, ceux de **4** et **5** dans la pyridine- d_5 (8).

^bValeurs pouvant être inversées.

Le composé **6**, composé minoritaire, a été identifié à l'hydroxy-21 cyclolochnérine que G. Höfle et collaborateurs ont récemment isolée d'une culture de tissus de *Catharanthus roseus* (9).

Vomilénine, pérakine, ajmaline, réserpine, et corynanthine déjà décrites, soit dans d'autres espèces de *Rauvolfia*, soit dans d'autres Apocynacées, ont également été isolées et identifiées par comparaison de leurs constantes physiques et caractéristiques spectrales avec celles de la littérature, voire par comparaison avec des échantillons de référence.

Le dernier composé, **7**, isolé en très faible quantité, est une yohimbine: les seules données spectrales (cf. Partie expérimentale) n'ont pas permis de fixer la stéréochimie; la quantité disponible est insuffisante pour compléter les résultats par corrélation chimique et la structure demeure donc indéterminée.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Les spectres de $\text{rmn } ^1\text{H}$ ont été enregistrés à 400 MHz sur l'appareil expérimental de l'Institut d'Électronique Fondamentale d'Orsay (10, 11) et les spectres de $\text{rmn } ^{13}\text{C}$ sur appareils Bruker HX 90E à 22,63 MHz ou WP 60 à 15,08 MHz avec le TMS comme référence interne; les spectres de masse ont été exécutés sur spectrographe Kratos MS 50, à 70 eV, sous une tension de 8 kV (i.e.).

MATÉRIEL VÉGÉTAL.—Les feuilles, écorces de tronc et de racines, ont été prélevées sur des arbres de la région des "Mamelles," Petit Bourg (Guadeloupe); des échantillons d'herbier ont été déposés au Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris sous le n° C. Sastre 2609 et à l'INRA-Centre Régional Agronomique des Antilles-Guyane sous le n° J. Fournet 2714.

EXTRACTION ET FRACTIONNEMENT.—Le matériel (feuilles: 2,8 kg, écorces de tronc: 9,2 kg, écorces de racines: 1,27 kg) a été extrait en continu par CHCl_3 en milieu ammoniacal dans un appareil de type Soxhlet; les solutions CHCl_3 ont été concentrées: dans le cas des écorces de racines, on observe, à ce stade, la formation d'un précipité blanc qui, constitué presque exclusivement de lochnérine, est essoré (11 g). Les solutions CHCl_3 ont été extraites par une solution aqueuse de HCl à 2%. Après lavage par Et_2O , les phases aqueuses acides ont été alcalinisées par NH_4OH à 25% et extraites par CHCl_3 . Les rendements en alcaloïdes totaux sont de: 32,2 g/kg pour les écorces de racines, 13,8 g/kg pour les écorces de tronc, et 3,2 g/kg pour les feuilles. Le fractionnement des extraits bruts a été réalisé par filtration sur Séphadex LH20 suivie de chromatographies successives sur colonnes de silice neutre (Merck Art. 9385) sous pression ordinaire ou sous moyenne pression. La purification des alcaloïdes séparés a été le plus souvent obtenue par chromatographies sur couche épaisse de gel de silice (Merck Art. 13895 et 5717). Les données spectrales des composés connus sont conformes à celles déjà décrites.

Les alcaloïdes **3,6**, et **7** ont été obtenus en très faibles quantités: homogènes en ccm., ils n'ont pu être cristallisés; c'est la raison pour laquelle les pouvoirs rotatoires n'ont pas été mesurés et les spectres uv seulement enregistrés qualitativement.

Hydroxy-18 lochnérine (3) ($\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$).—Solide amorphe. Il se colore en beige clair au C. A. S. (12); sm (m/z , %) 340 (M^+ , 32), 339 (8), 323 (35), 322 (34), 321 (11), 309 (13), 267 (10), 215 (51), 214 (51), 202 (45), 201 (29), 188 (17), 138 (72), 91 (100); uv λ_{max} nm (EtOH) 226, 280, 293 (ép.), 309 (ép.) inchangé en milieu alcalin, λ_{max} nm (EtOH + HCl) 273, 296 (ép.), 311; ir (nujol) cm^{-1} 3200, 1625; $\text{rmn } ^1\text{H}$ ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) δ 7,15 (d, 1H, $J=9$ Hz, $\text{C}_{12}\text{-H}$), 6,84 (d, 1H, $J=3$ Hz, $\text{C}_9\text{-H}$), 6,82 (dd, 1H, $J=3$ et 9 Hz, $\text{C}_{11}\text{-H}$), 5,60 (t, 1H, $J=7$ Hz, $\text{C}_{19}\text{-H}$), 3,78 (s, 3H, OCH_3); $\text{rmn } ^{13}\text{C}$ ($\text{DMSO}-d_6$), voir tableau 1.

L'hydroxy-18 lochnérine (**3**) a été diacétylée par Ac_2O en présence de pyridine: $\text{rmn } ^1\text{H}$ du *O,O*-diacétate (CDCl_3) δ 7,18 (d, 1H, $J=9$ Hz, $\text{C}_{12}\text{-H}$), 6,90 (d, 1H, $J=2$ Hz, $\text{C}_9\text{-H}$), 6,80 (dd, 1H, $J=9$ et 2 Hz, $\text{C}_{11}\text{-H}$), 5,60 (t, 1H, $J=7$ Hz, $\text{C}_{19}\text{-H}$), 4,58 et 4,49 (2 dd, $2 \times 1\text{H}$, $J=12$ et 7 Hz, $\text{C}_{18}\text{-H}_{(2)}$), 4,33 (m, 1H, $\text{C}_3\text{-H}$), 4,07 (dd, 1H, $J=11$ et 5 Hz, $\text{C}_{17}\text{-H}$), 3,85 (s, 3H, OCH_3), 3,83 (m, 1H, $\text{C}_{17}\text{-H}$), 3,64 (s. él., 2H, $\text{W}1/2=7$ Hz, $\text{C}_{21}\text{-H}_{(2)}$), 3,13 (dd, 1H, $J=15$ et 5 Hz, $\text{C}_6\text{-H}$), 2,90 (m, 2H, $\text{C}_5\text{-H} + \text{C}_{15}\text{-H}$), 2,63 (d, 1H, $J=15$ Hz, $\text{C}_6\text{-H}$), 2,08 (m, 2H, $\text{C}_{16}\text{-H} + \text{C}_{14}\text{-H}$), 2,06 (s, 3H, COCH_3), 2,01 (s, 3H, COCH_3), 1,81 (d ép., 1H, $J=13$ Hz, $\text{C}_{14}\text{-H}$).

Hydroxy-21 cyclolochnérine (6) ($\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$).—Solide amorphe. Il se colore en beige rosé au C. A. S.; sm (m/z , %) 340 (M^+ , 95), 339 (100), 309 (10), 237 (7), 212 (7), 199 (54), 186 (18); uv λ_{max} nm (EtOH) 228, 280, 292 (ép.), 305 (ép.), λ_{max} nm (EtOH + HCl) 223, 273, 305 (ép.), sans modification sensible en milieu alcalin; ir (KBr) cm^{-1} 3200, 2900, 2840, 1620, 1590, 1140; $\text{rmn } ^1\text{H}$ (CDCl_3) δ 7,07 (d, 1H, $J=8$ Hz, $\text{C}_{12}\text{-H}$), 6,67 (d, 1H, $J=8$ Hz, $\text{C}_{11}\text{-H}$), 6,62 (s, 1H, $\text{C}_9\text{-H}$), 4,82 (s, 1H, $\text{C}_{21}\text{-H}$), 4,07 (q, 1H, $J=7$ Hz, $\text{C}_{19}\text{-H}$), 3,78 (s, 3H, OCH_3), 3,65 (d, 1H, $J=11$ Hz, $\text{C}_{17}\text{-H}$), 3,58 (pseudo t, 1H, $J=5$

Hz, C₅-H), 3,42 (d, $J=11$ Hz, C₁₇-H), 3,17 (dd, 1H, $J=15$ et 5 Hz, C₆-H), 2,55 (d, 1H, $J=15$ Hz, C₆-H), 1,23 (d, 3H, $J=7$ Hz, C₁₈-H).

"Yobimbine" **7** (C₂₁H₂₆N₂O₃).—Solide amorphe, se colore en jaune-vert au C.A.S.; sm (m/z , %) 354 (M^+ , 100), 353 (74), 184 (6), 170 (10), 169 (10), 156 (6); uv λ_{max} nm (EtOH) 227, 283, 291 sans modification sensible en milieu acide ou alcalin; ir (KBr) cm^{-1} 3480, 3250, 2900, 1715; rmn ¹H (CDCl₃+CD₃OD) δ 7,50 et 7,44 (2d, 2×1H, $J=7,5$ Hz, C₉-H et C₁₂-H), 7,20 et 7,13 (2t, 2×1H, $J=7,5$ Hz, C₁₀-H et C₁₁-H), 4,61 (m, 1H), 4,23 (s. ép., 1H, $W_{1/2}=6$ Hz), 3,80 (s, 3H, COOCH₃).

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Dr. S.K. Kan de nous avoir aimablement donné accès à l'appareil expérimental de rmn ¹H à 400 MHz (Institut d'Électronique Fondamentale, Orsay, Université Paris-Sud) et le Professeur G. Höfle (G.B.F., Braunschweig, R.F.A.) pour l'envoi d'un échantillon de référence d'hydroxy-21-cycloclonérine (**6**) ainsi que des spectres de rmn ¹H et ¹³C du composé. Nous remercions également Mrs. C. Blonce et J. Mesdouze pour la récolte du matériel végétal et Mrs. J. Fournet et C. Sastre pour son identification.

BIBLIOGRAPHIE

1. Communication préliminaire, XV Congreso latinoamericano de Quimica, Puerto Rico, 24-29 octobre 1982.
2. R.P. Duss, "Flore phanérogamique des Antilles Françaises (Martinique, Guadeloupe)," Protat Frères éd., Mâcon 1897; réédition par S.D.C., Fort de France, Martinique, **2**, 394 (1972).
3. A.S. Rao, *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **43**, 253 (1956).
4. J. Fournet, "Flore illustrée des Phanérogames de la Guadeloupe et de la Martinique," INRA Ed., Paris, 1978, p. 1232.
5. T.L. Ho et G.A. Olah, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **75**, 4 (1978).
6. T. Morita, Y. Okamoto et H. Sakurai, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, 874 (1978) et références citées.
7. A. Banerji et M. Chakrabarty, *Phytochemistry*, **13**, 2309 (1974).
8. N. Aimi, K. Yamaguchi, S.I. Sakai, J. Haginiwa, et A. Kubo, *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 3444 (1978).
9. W. Kohl, B. Witte, W.S. Sheldrick, et G. Höfle, *Planta Med.*, **50**, 242 (1984).
10. P. Gonord, S.K. Kan, et M.J. Sauzade, *J. Magn. Res.*, **24**, 457 (1976).
11. S.K. Kan, P. Gonord, M. Fan, M. Sauzade, et J. Courtieu, *Rev. Sci. Instrum.*, **49**, 785 (1978).
12. N.R. Farnsworth, R.N. Blomster, D. Damratski, W.A. Meer, et L.V. Cammarato, *Lloydia*, **27**, 302 (1964).

Received 5 February 1986