

NOUVEAUX ALCALOÏDES BIS-BENZYLISOQUINOLEIQUES ISOLES  
DES FEUILLES DE *ARISTOLOCHIA GIGANTEA*<sup>1</sup>DIEGO CORTES,<sup>2</sup> HENRI DADOUN,\*

Laboratoire de Pharmacognosie, UA 496 CNRS, Faculté de Pharmacie, 92296 Châtenay-Malabry Cedex, France

ROSE L. RIBEIRO PAIVA et ALAIDE B. DE OLIVEIRA

Laboratório de Farmacoquímica, Faculdade de Farmácia, UFMG, Av. Olegário Maciel 2360,  
30180 Belo Horizonte (Minas Gerais), Brasil

ABSTRACT.—The alkaloid extract of the defatted leaves of *Aristolochia gigantea* has yielded three new bisbenzylisoquinoline alkaloids with one diphenyl ether link between rings C and C': (–)-pampulhamine [1], (–)-geraldoamine [5], and (–)-pedroamine [6]. Their structures were elucidated by spectroscopic analysis and by preparation of O- and N-methyl derivatives.

*Aristolochia gigantea* Mart., (Aristolochiaceae) est une espèce qui est répandue dans la région Sud-Est du Brésil (Etat du Minas Gerais). Son usage comme plante médicinale possédant des actions abortive, emmenagogue, antiseptique, et contre les morsures de serpent a été reporté par Hoene (1). Dans une publication antérieure (2), nous avons rapporté que l'extrait alcaloïdique des feuilles s'est montré actif vis-à-vis de microorganismes comme *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, et *Pseudomonas aeruginosa*. Nous décrivons ici l'isolement de trois nouveaux alcaloïdes bis-benzylisoquinoléiques la (–)-pampulhamine [1], la (–)-geraldoamine [5], et la (–)-pedroamine [6]. Les alcaloïdes de ce type sont rares dans le genre *Aristolochia*: la (–) curine a été isolé chez *A. indica* (3), la (–)-7'-O-méthyl-cuspidaline chez *A. elegans* (3), et la (+)-tétrandrine chez *A. debilis* (4).

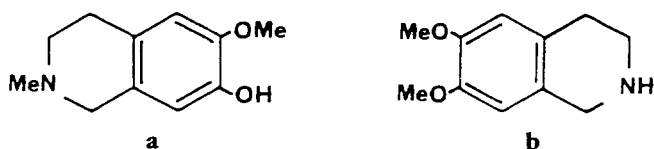
## RESULTATS ET DISCUSSION

Les feuilles de *A. gigantea* ont été dégraissées par l'éther de pétrole (60-80°) et ensuite alcalinisées par de l'ammoniaque 2N. Les alcaloïdes totaux ont été extraits par du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, puis purifiés. Les alcaloïdes 1, 5, et 6 ont été isolés par chromatographie sur colonne.

La (–)-pampulhamine [1], n'a pu être obtenue que sous une forme amorphe. Son spectre uv est caractéristique d'une bisbenzyltétrahydroisoquinoléine (λ max 233 et 290 nm), et présente un effet bathochrome en milieu alcalin indiquant la présence de groupements phénoliques. Le spectre de <sup>1</sup>H-rmn montre la présence d'un seul groupement N-méthyle, de trois groupements O-méthyle et de 11 protons aromatiques (quatre singulets entre δ 6,30 et 6,69; un système ABX et un système A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>: voir Figure 1). Le smie présente un pic de base à m/z 192; en smic on observe le pic moléculaire à (M+1)<sup>+</sup> 597 et les fragments m/z 192 (100) et 405 (12). Ces données sont en accord avec une structure bisbenzyltétrahydroisoquinoléique biscoclaurine comportant un seul oxygéné entre les cycles C et C' (5-8). La présence d'un seul pic à m/z 192 en smie et celle d'un pic à m/z 405 en smic est attribuée à la double coupure benzylique (1-α) et (1-α'). La présence d'un seul N-méthyle en <sup>1</sup>H-rmn à δ 2,49 laisse supposer que les moitiés isoquinoléiques possèdent les structures a et b. Le fragment à m/z 405 correspond à une

<sup>1</sup>Ce travail est dédié à la mémoire des Professeurs Geovanne Geraldo de Oliveira de l'Institut des Sciences exactes (ICEX) et Pedro Alves dos Santos, ex-Directeur de la Faculté de Pharmacie de l'UFMG de Belo Horizonte.

<sup>2</sup>Adresse actuelle: Departamento de Farmacognosia y Farmacodinamia, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, Av. Blasco Ibañez-13, 46010 Valencia, Espagne.



structure ABCC' ou A'B'C'C possédant une fonction phénolique sur la partie benzylque. L'éthérisation par le  $\text{CH}_2\text{N}_2$  de la (-)-pampulhamine [**1**] conduit à la (-)-*O,O*-diméthylpampulhamine [**2**], confirmant ainsi la présence de deux groupements phénoliques.

Le sm de **2** présente en ie un pic de base à  $m/z$  206 et en ic un pic moléculaire  $(M+1)^+ \cdot 625$  (+28 uma) ce qui nous permet de localiser un premier groupement phénolique sur la moitié isoquinoléique portant le *N*-méthyle c'est à dire en 6,7 ou 6',7'. Le deuxième groupement phénolique est donc en 12 sur le cycle C.

L'examen du spectre de  $^1\text{H}$ -rmn de la pampulhamine [**1**] (voir Figure 1) montre la présence de trois groupements OMe portés par des cycles aromatiques ( $\delta$  3,87, 3,85, et 3,81). Ces valeurs sont caractéristiques de groupements OMe portés par les carbones 6,6', et 12 d'une structure bisbenzyltetrahydroisoquinoléine *N*-méthylée à un seul pont éther (6,8), alors que des groupements OMe portés par les carbones 7 et 7' résonnent en général vers  $\delta$  3,5-3,6 (6,8-13). Cependant pour des bisbenzyltetrahydroisoquinoléines portant une amine secondaire, les groupements OMe portés par les carbones en 7 (ou 7') résonnent vers  $\delta$  3,80 (10, 14). Deux des OMe peuvent être placés en 6 et 6' et la troisième en 7' (ou 7); le singulet correspondant à ce dernier est déplacé à  $\delta$  3,62 dans la *N*-méthylpampulhamine [**3**] obtenue après *N*-méthylation (HCHO/ $\text{NaBH}_4$ ) de la pampulhamine [**1**], confirmant ainsi son emplacement en 7 (ou 7') dans la moitié nor-benzyltetrahydroisoquinoléine de la pampulhamine [**1**]. La comparaison

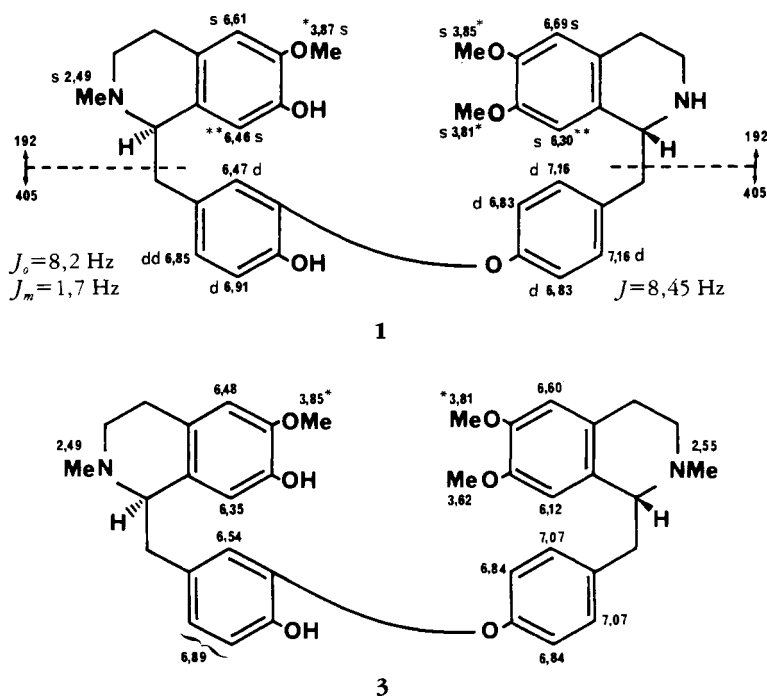
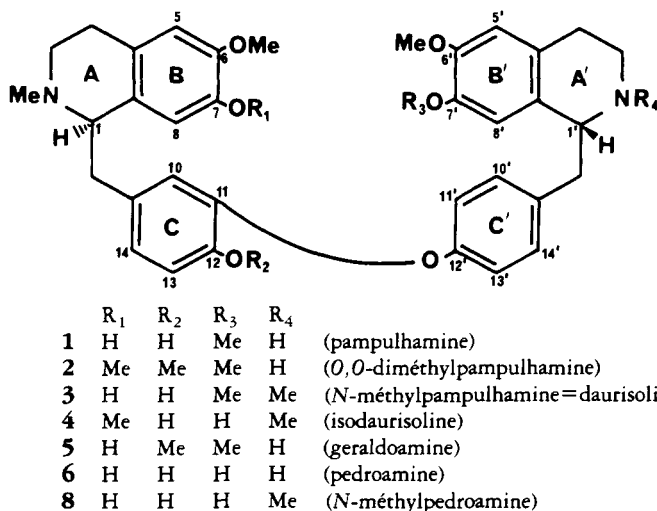


FIGURE 1.  $^1\text{H}$  rmn de la pampulhamine [**1**] et de la *N*-méthylpampulhamine [**3**]



de la *N*-méthylpampulhamine [**3**] (<sup>1</sup>H-rmn, dc) avec la daurisoline et l'isodaurisoline [**4**] (8,10), montre que **3** est identique à la daurisoline. La (-)-*N*-méthylpampulhamine [**3**] a de plus été comparée par ccm et co-ccm à la (-) daurisoline et à la (-) isodaurisoline. Dans les deux systèmes de solvants utilisés [(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-NH<sub>4</sub>OH, 90:10:2) et (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-AcOEt-MeOH-NH<sub>4</sub>OH, 70:20:15:3)] la daurisoline et l'isodaurisoline ont des R<sub>f</sub> très différents. La (-)-*N*-méthylpampulhamine et la (-) daurisoline sont identiques par ccm. Ce résultat permet alors de localiser un des OMe en 7' et l'amine secondaire en 2' et par conséquent d'attribuer à la pampulhamine la structure **1**.

L'analyse de la courbe de dc (voir partie expérimentale) et le signe du pouvoir rotatoire de la (-)-pampulhamine [**1**] permettent de lui attribuer une stéréochimie (1*R*, 1'*R*) (10, 12).

La (-)-geraldoamine [**5**] a été obtenue sous forme amorphe. L'examen de ses caractéristiques spectrales (uv, dc, <sup>1</sup>H rmn, et sm) montre une structure de type bisbenzyl-tétrahydroisoquinoléine dérivée de celle de la pampulhamine [**1**]. La (-)-geraldoamine [**5**], est identifiée à la (-)-*O*-methyl-12-pampulhamine. Par sm, le pic moléculaire n'est observé qu'en ic (M+)<sup>+</sup> à *m/z* 611 (9), et les fragments *m/z* à 192 (100) et 419 (13), fragments caractéristiques d'une bisbenzyl-tétrahydroisoquinoléine à un seul pont diaryl-éther. En <sup>1</sup>H rmn sont observés un seul NMe, quatre OMe et 11 protons aromatiques dont un système ABX à δ 6,49 et 6,87 et un système A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> à 6,86 et 7,27 (voir Figure 2). Par *O*-méthylation de **5** on obtient un dérivé *O*-méthylé identique (ccm, sm) à la *O,O*-diméthylpampulhamine [**2**] décrite plus haut. La courbe de dc et le signe

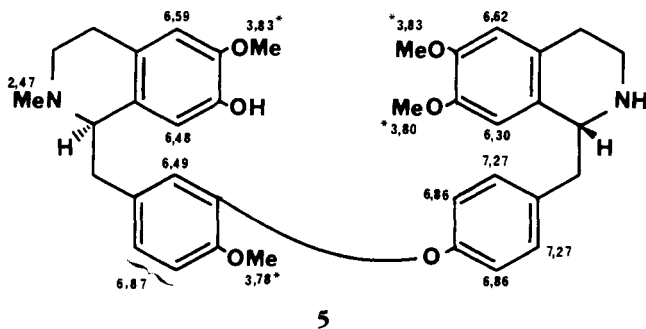


FIGURE 2. <sup>1</sup>H-rmn de la geraldoamine [**5**]

du pouvoir rotatoire de **5** sont semblables à celles de la pampulhamine [**1**], permettant ainsi de lui attribuer la stéréochimie (1*R*, 1'*R*).

La (-)-pedroamine [**6**] a été obtenue sous forme amorphe. Sa structure est également dérivée de la (-)-pampulhamine [**1**]. Son spectre uv présente en milieu alcalin un effet bathochrome. Par sm les fragments observés en ie [ $m/z$  405 (1,7), 192 (100), 178 (75)] et en ic [(M+1)<sup>+</sup>: 583 (72),  $m/z$  192 (100), 178 (69)], sont caractéristiques d'une bis-benzyltétrahydroisoquinoléine à un pont diaryl éther. En <sup>1</sup>H rmn enregistré dans CD<sub>3</sub>OD+CD<sub>3</sub>CN sont observés un seul NMe (δ 2,53), deux OMe (δ 3,83 et 3,90) et 11 protons aromatiques (δ 6,30, -6,82) dont un système ABX à δ 6,50 et 6,64 et un système A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> à δ 6,62 et 6,82. Par *O*-méthylation (CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>/Et<sub>2</sub>O) de **6** on obtient le produit **7** dont le sm en ic présente un pic moléculaire (M+1)<sup>+</sup> à 625 (+42 uma) et les principaux fragments  $m/z$  à 206 (100) et 192 (52), indiquant ainsi la présence de trois groupement phénoliques dans la structure de la (-)-pedroamine [**6**], dont deux d'entre eux situés sur les moitiés isoquinoléiques. Le spectre de <sup>1</sup>H rmn de **7** présente cinq OMe (δ 3,60, 3,80, 3,82, 3,83, et 3,90) dont trois supplémentaires par rapport à la pedroamine [**6**]. Ces valeurs permettent de placer le OMe le plus blindé (δ 3,60) en 7 (ou 7'), indiquant ainsi la présence dans la structure de la pedroamine [**6**], d'un groupement OH en 7 (ou 7') porté par la moitié *N*-méthyle (ou *N'*-méthyle) benzyltétrahydroisoquinoléine.

La *O*,*O*,*O*-triméthylpedroamine [**7**] est identique (co-ccm, <sup>1</sup>H rmn, sm) à la *O*,*O*-diméthylpampulhamine [**2**]. La *N*-méthylpedroamine [**8**], obtenue par *N*-méthylation (HCHO/NaBH<sub>4</sub>) de **6**, présente en <sup>1</sup>H rmn deux NMe (δ 2,47 et 2,53), deux OMe (δ 3,83 et 3,85) et 11 protons aromatiques (δ 6,1-7,2). Les valeurs des δ des OMe excluent la présence de OMe en 7' (absence de signal à δ 3,5-3,6 caractéristique), confirmant ainsi la position de groupements hydroxyles de la pedroamine: en 7, 7', et 12.

L'ensemble de ces résultats nous conduit à attribuer à la (-)-pedroamine la structure **6**. La courbe de dc et le signe du pouvoir rotatoire de **6** sont semblables à celles de la (-)-pampulhamine [**1**] et de la (-)-geraldoamine [**5**], permettant ainsi de lui attribuer la stéréochimie 1*R*, 1'*R*.

En conclusion, l'isolement d'alcaloïdes bisbenzyltétrahydroisoquinoléines *N'*-déméthylés, possédant un seul pont diaryléther 11-12' et présentant la même stéréochimie (1*R*, 1'*R*) est le premier exemple rapporté pour le genre *Aristolochia*. Il est intéressant de remarquer que la (-)-pedroamine [**6**] est le diastéromère de la norberbamunine de configuration 1*R*, 1'*S*, isolée récemment à partir de cultures de cellules de *Berberis stolonifera* (15).

## PARTIE EXPERIMENTALE

Les feuilles de *A. gigantea* ont été récoltées sur le campus universitaire de l'UFMG-Pampulha à Belo Horizonte (Minas Gerais), en septembre 1983. Un échantillon d'herbier (n° 279) est déposé à la Faculté de Pharmacie de l'UFMG de Belo Horizonte. L'identification de cette espèce a été effectuée par le Pr. Mauricio José Ferrari de l'Institut des Sciences Biologiques (ICB) de l'UFMG. L'extraction des alcaloïdes a été réalisée de manière classique (rendement en alcaloïdes totaux non quaternaires, 0.46%).

(-)-PAMPULHAMINE [**1**].—D'un mélange de bisbenzyltétrahydroisoquinoléines d'*A. gigantea* 180 mg sont chromatographiés sur colonne de silice (Si gel H, 5,4 g) et élués par CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-AcOEt-MeOH-NH<sub>4</sub>OH (60:30:10:3). On obtient 60 mg de **1** C<sub>36</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: 596, 2886. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -58° (c=0,18, MeOH); uv λ max MeOH nm (log ε) 233 (4,18), 2,90 (3,75); MeOH+OH<sup>-</sup> 236 (4,08), 296 (3,51), 312 ép. (3,42); <sup>1</sup>H rmn CDCl<sub>3</sub> 500 MHz voir Figure 1; smie  $m/z$  192 (pic base); smic  $m/z$  (%) 597 [M+1]<sup>+</sup>, 405 (12), 192 (100); dc MeOH Δε (nm) 0 (310), -3,1 (289), 0 (256), 0 (248), +0,2 (250), -11,6 (226).

(-)-*O*,*O*-DIMÉTHYLPAMPULHAMINE [**2**].—Préparée à partir de **1** (CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>/Et<sub>2</sub>O), on obtient **2**. <sup>1</sup>H rmn CDCl<sub>3</sub> 80 MHz δ 2,47 (s, 3H, N-Me), 3,61 (s, 3H, OMe), 3,80 (s, 3H, OMe), 3,83 (s, 6H, 2 OMe), 3,86 (s, 3H, OMe), 6,2-7,2 (11H, ArH); smic  $m/z$  625 [M+1]<sup>+</sup>; smie  $m/z$  (%) 624 (0,1), 433 (1,5), 419 (0,5), 206 (100), 192 (23).

(-)-*N*-MÉTHYLPAMPULHAMINE (=DAURISOLINE) [3].—Préparée à partir de **1** par *N*-méthylation (HCHO/NaBH<sub>4</sub>), on obtient **3**; smie *m/z* (%) 610 [M]<sup>+</sup> (0,1), 206 (92), 192 (100); smic *m/z* 611 [M+1]<sup>+</sup> (49), 206 (33), 192 (100); <sup>1</sup>H rmn CDCl<sub>3</sub> 250 MHz voir Figure 1. Identique à la daurisoline par ccm [gel de silice 60F, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-AcOEt-MeOH-NH<sub>4</sub>OH (70:20:15:3)].

(-)-GERALDOAMINE [5].—C<sub>37</sub>H<sub>42</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: 610,3042. Poudre amorphe; [α]<sub>D</sub>-65° (C=0,1, MeOH); uv λ max MeOH nm (log ε) 227 (4,24), 285 (3,80); MeOH+OH<sup>-</sup> 227 (4,24), 285 (3,83), 303 (3,28); <sup>1</sup>H rmn CDCl<sub>3</sub> 250 MHz voir Figure 2; smie *m/z* (%) 419 (0,1), 192 (100); smic *m/z* (%) 611 [M+1]<sup>+</sup> (9), 419 (13), 192 (100), 178 (12); dc MeOH Δε (nm) 0 (310), -4,7 (288), 0 (276), 0,6 (251), 0 (247), -23 (228).

(-)-PEDROAMINE [6].—C<sub>36</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: 582,2689. Poudre amorphe; [α]<sub>D</sub>-74° (C=0,1, MeOH); uv λ max MeOH nm (log ε) 232 (4,32), 287 (3,95); MeOH+OH<sup>-</sup> 232 (4,37), 295 (3,92); <sup>1</sup>H rmn 400 MHz CD<sub>3</sub>OD+CD<sub>3</sub>CN δ 2,53 (s, 3H, NMe), 3,83 et 3,90 (2s, 6H, 2OMe), 6,30, 6,48, 6,55 et 6,57 (4s, 4H, H-8, 8', 5 et 5'), 6,50 (m, 1H, H-10), 6,64 (m, 2H, H-13 et 14), 6,62 (d, 2H J=8,5 Hz, H-11' et 13'), 6,82 (d, 2H, J=8,5 Hz, H-10' et 14'); smie *m/z* (%) 405 (1,7), 192 (100), 178 (75); smic *m/z* (%) [M+1]<sup>+</sup> 583 (72), 192 (100), 178 (69); dc MeOH Δε (nm) 0 (338), -2,6 (289), 0 (254), 0,5 (249), 0 (245), -10,5 (228).

(-)-*O*.*O*.*O*.-TRIMÉTHYLPEDROAMINE [7].—Identique (co-ccm, <sup>1</sup>H rmn, et sm) à la (-)-*O*.*O*.*O*-méthylpampulhamine [2].

(-)-*N*-MÉTHYLPEDROAMINE [8].—<sup>1</sup>H rmn 250 MHz CDCl<sub>3</sub> δ 2,47 (s, 3H, NMe), 2,53 (s, 3H, N'Me), 3,83 et 3,85 (2s, 6H, 2OMe), 6,10-7,20 (11H aromatiques); smic *m/z* (%) (M+)<sup>+</sup> 597 (11), 406 (6), 192 (100), 178 (7), 176 (28).

#### REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Dr. C. Mérienne de l'Institut d'Electronique d'Orsay pour l'enregistrement des spectres de <sup>1</sup>H-rmn à 250 MHz, le Dr. D. Davoust de l'Université Paris-VI pour l'enregistrement du spectre de <sup>1</sup>H-rmn à 500 MHz, le Dr. Becue du Centre Pharmaceutique de Châtenay-Malabry pour l'enregistrement des spectres de masse. Nous remercions particulièrement le Pr. A. Cavé pour l'intérêt porté à ce travail. Les auteurs (H.D.) et (A.B.O.) remercient également le Comité Français d'Evaluation de la Coopération Universitaire avec le Brésil (COFECUB) et le Ministère de l'Education du Brésil (CAPES) pour l'octroi de missions d'études dans les deux pays.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. F.C. Hoehne, "Plantas e Substâncias Vegetais Tóxicas e Mediciniais," Dto. de Botanica de Estado de São Paulo, 1939.
2. E.A. Nunan, L.M. Moreira de Campos, R.L. Ribeiro Paiva, H. Dadoun, et A.B. de Oliveira, *Rev. Farm. Bioquim., B. Horizonte (Brasil)*, **6**, 33 (1985).
3. N. El-Sebakhy et P. Waterman, *Phytochemistry*, **23**, 2706 (1984).
4. G. Rücker et R. Mayer, *Planta Med.*, **51**, 183 (1985).
5. M. Shamma, "The Isoquinoline Alkaloids. Chemistry and Pharmacology," Academic Press, New York, 1972.
6. K.P. Guha, B. Mukherjee, et R. Mukherjee, *J. Nat. Prod.*, **42**, 1 (1979).
7. J. Baldas, I.R.C. Bick, T. Ibuka, R.S. Kapil, et O.N. Porter, *J. Chem. Soc., Perkin I*, 592 (1972).
8. P.L. Schiff, Jr., *J. Nat. Prod.*, **46**, 1 (1983).
9. H. Guinaudeau, B.K. Cassels, et M. Shamma, *Heterocycles*, **19**, 1009 (1982).
10. A. Jossang, M. Leboeuf, P. Cabalion, et A. Cavé, *Planta Med.*, **49**, 20 (1983).
11. D. Cortes, R. Hocquemiller, A. Cavé, et J. Saez, *J. Nat. Prod.*, **49**, 854 (1986).
12. A. Jossang, M. Leboeuf, A. Cavé, et T. Sévenet, *J. Nat. Prod.*, **49**, 1018 (1986).
13. H. Guinaudeau, A.J. Freyer, et M. Shamma, *Nat. Prod. Rep.*, **3**, 477 (1986).
14. R.W. Doskotch et J.E. Knapp, *Lloydia*, **34**, 292 (1971).
15. B.K. Cassels, E. Breitmaier et M.H. Zenk, *Phytochemistry*, **26**, 1005 (1987).

Received 16 March 1987