

ALCALOÏDES DU *PETCHIA CEYLANICA*

ANDRÉ CAVÉ,* NICOLE KUNESCH,

UA 496 CNRS, Faculté de Pharmacie, rue J.B. Clément, 92296 Châtenay-Malabry Cedex, France

JEAN BRUNETON,

Faculté de Pharmacie, Boulevard Daviers, 49000 Angers, France

ROBERT GOUTAREL,

ICSN CNRS, 91190 Gif-sur-Yvette, France

and GLADWIN PERCY WANNIGAMA

Université de Peradeniya, Peradeniya, Sri Lanka

Petchia ceylanica (Wight) Livera est un genre monospécifique endémique de Sri Lanka, appartenant à la famille des Apocynacées, tribu des Rauwolfiées (1,2). C'est un petit arbuste qui pousse dans les territoires humides de l'ouest et du sud à une altitude inférieure à 700 m. Les feuilles, glabres et luisantes sont habituellement disposées en verticille de trois, elles sont lancéolées et mesurent environ 8 cm de long. Les fleurs sont de couleur blanc crème. Les fruits, jaune orangé à maturité, sont moniliformes, les étranglements séparant deux à quatre graines. Ces fruits ont la réputation d'être toxiques. La présence d'alcaloïdes ayant été signalée dans cette espèce (3,4), une étude plus approfondie a été effectuée.

Les tiges feuillées, pulvérisées et dégraissées à l'éther de pétrole sont extraites par l' Et_2O ou de préférence par le C_6H_6 après alcalinisation à l'ammoniaque. Les alcaloïdes totaux sont obtenus avec un rendement de 0,53%, après purification sous forme de chlorhydrates en solution aqueuse suivie d'une nouvelle extraction par le C_6H_6 en milieu alcalin. En raison de la fragilité des alcaloïdes, les opérations d'isolement doivent être menées rapidement, en évitant une trop longue exposition à la lumière et l'utilisation de solvant chloré. Par chromatographies sur colonnes d'alumine ou de silice, six alcaloïdes ont été obtenus.

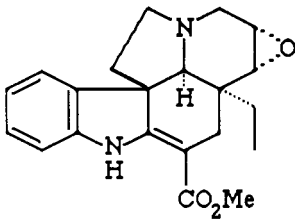
Le présent mémoire décrit l'isolement

des alcaloïdes de *P. ceylanica* et fournit les données spectrales (uv, ir, et $\text{rmn } ^1\text{H}$) des composés nouveaux qui n'ont pas été publiés dans la note préliminaire consacrée à la détermination de leur structure par $\text{rmn } ^{13}\text{C}$ (5).

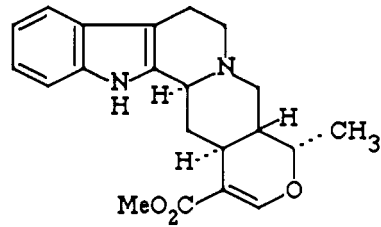
Les trois premiers d'entre eux sont des alcaloïdes indoliques monomères et existent dans la plante en assez faible pourcentage. Ils ont été identifiés respectivement à la lochnéricine [1] (6,7), l'ajmalicine [2] (8), et à la vincorine [3] (9) par examen de leurs données physiques et spectrales et comparaison à des échantillons authentiques. La quantité de lochnéricine [1] isolée a permis l'enregistrement de son spectre de $\text{rmn } ^{13}\text{C}$ et la détermination de la stéréochimie du groupement époxyde (α) par comparaison avec les données de $\text{rmn } ^{13}\text{C}$ publiées pour la pachysiphine [époxy (β)-14,15 tabersonine] (10).

Les trois autres alcaloïdes existent en quantité notable; ce sont des dimères indoliques nouveaux. Les deux alcaloïdes majoritaires, se trouvant en pourcentage à peu près identique, ont été dénommés peceyline [4], peceylanine [5], et le troisième, pelankine [6]. Ces alcaloïdes se sont révélés particulièrement sensibles à la lumière, aux solvants chlorés. Ils donnent même rapidement des dérivés très colorés en milieu alcoolique et en solution dans l' Et_2O .

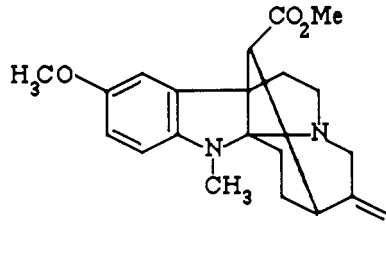
La peceyline [4] répond à la formule brute $\text{C}_{42}\text{H}_{48}\text{O}_6\text{N}_4$ déduite de l'analyse à haute résolution du pic moléculaire du



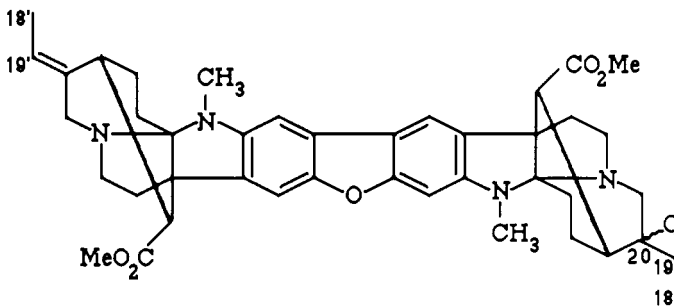
1 lochnérine



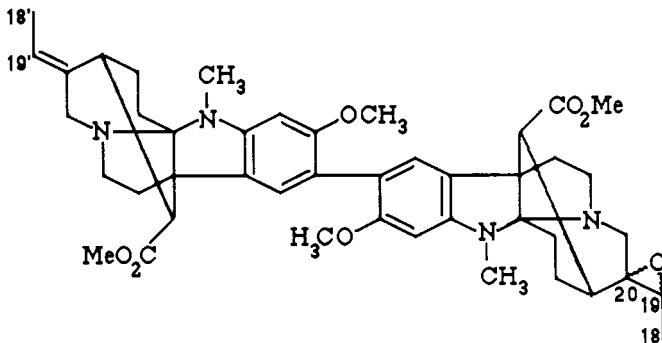
2 ajmalicine



3 vincorine



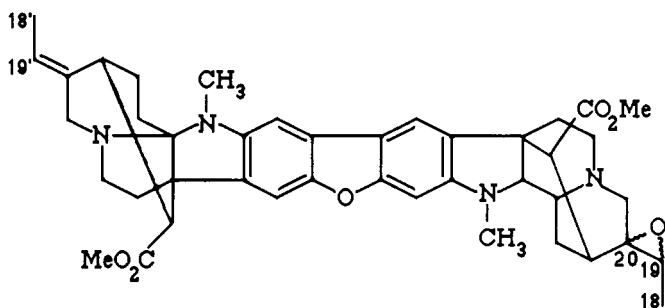
4 peceyline



5 peceylanine

spectre de masse. Son spectre uv présente trois bandes principales d'absorption à 245, 294, et 366 nm, la troisième étant très intense et laissant envisager un chromophore particulièrement con-

jugué. En milieu acide, le spectre uv subit un déplacement hypsochrome à 236, 282, et 352 nm caractéristique de l'enchaînement ϕ -N-C-N (11,12) analogue à celui observé pour la vin-



6 pelankine

corine [3]. Le spectre ir présente une bande à 1740 cm^{-1} indiquant la présence d'un groupe ester comme dans la vincorine. L'hypothèse d'un dimère composé d'une ou deux unités de type vincorine est étayée par l'examen du spectre de rmn du ^1H indiquant deux COOCH_3 , à 3,88 et 3,85 ppm, une seule chaîne éthylidène ($=\text{CH}-$, q, $J_{\text{HH}}=8\text{ Hz}$, 5,55 ppm; CH_3 , d, $J_{\text{HH}}=8\text{ Hz}$, 1,63 ppm). La présence d'un doublet de trois protons à 1,32 ppm qui couple avec un quadruplet de un proton à 3,05 ppm est en faveur d'une chaîne portant un époxyde à la place de la double liaison 19,20 de la vincorine. La partie aromatique paraît plus perturbée et ne présente que quatre singulets (6,36, 6,62, 7,40, et 7,56 ppm) indiquant sans ambiguïté que la jonction des deux parties monomères de type vincorine s'effectue par deux liaisons au niveau des cycles aromatiques, ceci expliquant l'aspect inusuel du spectre uv. Celles-ci forment vraisemblablement un cycle comme permet de le supposer le calcul des insaturations et cycles d'après la formule brute et impliquent donc des liaisons C-C et C-O-C. Ces éléments ont permis de proposer la formule 4 pour la peceyline et celle-ci a été confirmée par une analyse approfondie par rmn ^{13}C , sans qu'il soit possible de préciser la stéréochimie de l'époxyde. Les positions respectives de l'époxyde en 19, 20 et de la double liaison en 19', 20' peuvent être interchangées (5).

La pelankine [6] répond à la même formule brute que la peceyline [4], mais

son spectre de masse présente des fragmentations différentes. Leurs spectres uv sont identiques en milieu neutre mais différent en milieu acide, laissant supposer une différence au niveau d'une des parties monomériques. Les spectres de rmn ^1H sont pourtant très proches et laissent envisager la même substitution au niveau des parties aromatiques (4s, 6,65, 6,75, 7,45, et 7,48 ppm) et les mêmes chaînes éthylidène ($=\text{CH}-$, q, $J_{\text{HH}}=8\text{ Hz}$, 5,60 ppm; $-\text{CH}_3$, d, $J_{\text{HH}}=8\text{ Hz}$, 1,68 ppm) et méthoxyiranne (CH_3 , d, $J_{\text{HH}}=6,5\text{ Hz}$, 1,35 ppm, $-\text{CH}-\text{O}-$, q, $J_{\text{HH}}=6,5\text{ Hz}$, 3,15 ppm). C'est l'analyse du spectre de rmn ^{13}C qui a permis d'attribuer la structure 6 à la pelankine par utilisation des données de la vincorine (13) et de la cabucraline (14,15). Comme dans le cas de la peceyline [4], les positions de l'époxyde et de la double liaison peuvent être interchangées (5).

Le dernier alcaloïde, la peceylanine [5] semble être plus stable que les alcaloïdes précédents. Il possède la formule brute, $\text{C}_{44}\text{H}_{54}\text{O}_7\text{N}_4$, déduite de l'analyse du pic moléculaire du spectre de masse à haute résolution. Son spectre uv est différent de ceux de 4 et de 6, mais montre également un effet hypsochrome en milieu acide. Son spectre de rmn ^1H présente, outre les signaux les plus caractéristiques de la peceyline (deux carbométhoxyles, deux *N*-méthyles, un éthylidène, et un méthoxyiranne) deux singulets de trois protons à 3,74 et 3,78 ppm attribués à des méthoxyles portés par un cycle aromatique. Le calcul, à

partir de la formule brute, indique une insaturation ou un cycle de moins que pour les deux autres dimères laissant penser qu'il n'existe vraisemblablement qu'une liaison C-C entre les cycles aromatiques. Là encore, c'est l'analyse du spectre de $\text{rmn } ^{13}\text{C}$ qui a permis d'attribuer à la peceylanine, la structure 5.

Ces trois alcaloïdes forment donc un groupe original et homogène que l'on peut raisonnablement penser issu du couplage oxydatif de *O*-10 désméthylvincorine ou de ses dérivés.

PARTIE EXPERIMENTALE

APPAREILLAGE.—Les points de fusion sont mesurés sur microscope Kofler et ne sont pas corrigés. Les pouvoirs rotatoires sont déterminés sur polarimètre Schmidt-Haensch Polartronic 1. Les spectres uv sont enregistrés sur spectrophotomètre Unicam SP 1800, les spectres ir sur spectrophotomètre Perkin-Elmer 257. Les spectres de masse ont été exécutés sur spectrographe AEI, type MS9 à 70 eV et les analyses ont été déterminées par haute résolution. Les spectres de rmn ont été réalisés à 240 MHz sur un appareil prototype IEF240 (16); les abréviations utilisées sont: s=singulet, d=doublet, q=quadruplet.

MATÉRIEL VÉGÉTAL.—Les tiges feuillées ont été récoltées, en deux lots, en 1971 et 1978, à Sri Lanka, près de Kalutara, à 40 km au sud de Colombo. Un échantillon d'herbier est conservé au "Royal Botanical Garden of Peradeniya" sous le n° B 404.

EXTRACTION ET ISOLEMENT DES ALCALOÏDES.—La première extraction a été faite de façon classique par CH_2Cl_2 , dans un appareil de type Soxhlet, après alcalinisation de la drogue pulvérisée par une solution de Na_2CO_3 à 20%. Après avoir noté la fragilité des alcaloïdes en présence des solvants chlorés, les extractions suivantes ont été effectuées par le C_6H_6 immédiatement après la récolte. Les alcaloïdes totaux ont été obtenus avec un rendement identique pour les deux lots étudiés (0,53%). Une première chromatographie sur colonne d'alumine, en utilisant du C_6H_6 avec des pourcentages croissant de MeOH, a permis d'isoler la peceyline qui cristallise dans un mélange MeOH/ Et_2O . Les autres alcaloïdes ont été obtenus purs par des chromatographies successives sur colonnes de silice en utilisant comme solvant d'élution le mélange cyclohexane-Me $_2\text{CO}$ (3:1), ou d'alumine en utilisant le C_6H_6 avec des pourcentages croissants de MeOH. Les séparations sont suivies par ccm {Me $_2\text{CO}$ /cyclohexane (3:2), EtOAc- C_6H_6 -

EtOH (12:12:1)], les révélations étant effectuées par HNO_3 (peceyline: vert, pelankine: bleu foncé, peceylanine: bleu clair) ou le sulfate cérique (lochnericine: jaune entouré de bleu, vincorine: orangé, ajmalicine: jaune, peceyline: bleu-roi, peceylanine: bleu entouré de vert, pelankine: vert). L'ajmalicine, la vincorine, et la lochnericine existent en très faible pourcentage (de l'ordre de 1% des alcaloïdes totaux). Les alcaloïdes dimères sont majoritaires, peceyline (40%), pelankine (20%), et peceylanine (25%).

Peceyline [4].— $\text{C}_{42}\text{H}_{48}\text{O}_6\text{N}_4$, sm hr 704,3578 (calculé 7045,3574); m/z 704 (M^+), 687, 659, 644, 352, 144, 129; $F=310^\circ$ (décomp.) (MeOH/ Et_2O); $[\alpha]_D=-355^\circ$ (CHCl_3 , $c=1$); ir CHCl_3 ν cm^{-1} 1740, 1630; uv λ (EtOH) max nm (log ϵ) 218 (4,42), 245 (4,38), 294 (4,20), 340 ép. (4,15), 366 (4,41); λ (EtOH+HCl) max nm 236, 282, 330 ép., 352; $\text{rmn } ^1\text{H}$ (CDCl_3 , TMS) δ ppm 1,32 (3H, d, $J_{\text{HH}}=6,5$ Hz, CH_3 -18'), 1,63 (3H, d, $J_{\text{HH}}=8$ Hz, CH_3 -18), 2,72 (6H, s, N- CH_3), 3,05 (1H, q, $J_{\text{HH}}=6,5$ Hz, H-19'), 3,85 (3H, s, COOCH_3), 3,88 (3H, s, COOCH_3), 5,55 (1H, q, $J_{\text{HH}}=8$ Hz, H-19), 6,36 (1H, s, Ar-H), 6,62 (1H, ls, Ar-H), 7,40 (1H, s, Ar-H), 7,56 (1H, s, Ar-H); $\text{rm } ^{13}\text{C}$, voir Kunesch *et al.* (5).

Peceylanine [5].— $\text{C}_{44}\text{H}_{54}\text{O}_7\text{N}_4$, sm hr 750,3989 (calculé 750,3992), sm m/z 750 (M^+), 736, 735, 704, 691, 375, 110; $F=157$ - 158° (MeOH); $[\alpha]_D=-237^\circ$ (CHCl_3 , $c=1$); ir CHCl_3 ν cm^{-1} 1740, 1615; uv λ (EtOH) max nm (log ϵ) 218 (4,51), 255 (4,10), 275 ép. (3,94), 325 (4,03); λ (EtOH+HCl) max nm 245, 314; $\text{rmn } ^1\text{H}$ (CDCl_3 , TMS) δ ppm 1,24 (3H, d, $J_{\text{HH}}=6,5$ Hz, CH_3 -18'), 1,61 (3H, d, $J_{\text{HH}}=8$ Hz, CH_3 -18), 2,55 (3H, s, N- CH_3), 2,65 (3H, s, N- CH_3), 3,05 (1H, q, $J_{\text{HH}}=6,5$ Hz, H-19'), 3,65 (3H, s, COOCH_3), 3,66 (3H, s, COOCH_3), 3,74 (3H, s, OCH_3), 3,78 (3H, s, OCH_3), 5,41 (1H, q, $J_{\text{HH}}=8$ Hz, H-19), 5,92 (1H, s, Ar-H), 6,14 (1H, s, Ar-H), 7,01 (2H, s, Ar-H); $\text{rmn } ^{13}\text{C}$, voir Kunesch *et al.* (5).

Pelankine [6].— $\text{C}_{42}\text{H}_{48}\text{O}_6\text{N}_4$, sm hr 704,3570 (calculé 704,3574); m/z 704 (M^+), 686, 660, 645, 552, 508, 494, 210, 184, 182, 134, 125; amorphe; $[\alpha]_D=-214^\circ$ (CHCl_3 , $c=0,44$); ir CHCl_3 ν cm^{-1} 1740, 1635; uv λ (EtOH) max nm (log ϵ) 218 (4,34), 238 (4,29), 285 (4,08), 330 (4,05), 358 (4,19); λ (EtOH+HCl) max nm 280, 350; $\text{rmn } ^1\text{H}$ (CDCl_3 , TMS) δ ppm 1,35 (3H, d, $J_{\text{HH}}=6,5$ Hz, CH_3 -18'), 1,68 (3H, d, $J_{\text{HH}}=8$ Hz, CH_3 -18), 2,81 (3H, s, N- CH_3), 2,83 (3H, s, N- CH_3), 3,15 (1H, q, $J_{\text{HH}}=6,5$ Hz, H-19'), 3,91 (6H, s, COOCH_3), 5,60 (1H, q, $J_{\text{HH}}=8$ Hz, H-19), 6,65 (1H, s, Ar-H), 6,75 (1H, s, Ar-H), 7,45 (1H, s, Ar-H), 7,48 (1H, s, Ar-H); $\text{rm } ^{13}\text{C}$, voir Kunesch *et al.* (5).

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Professeur Balasubramaniam, Département de botanique, Université de Peradeniya, pour l'identification du matériel végétal ainsi que le Docteur D.M. Sirisena, de l'Université de Peradeniya pour les travaux préliminaires.

BIBLIOGRAPHIE

1. "Flora of Ceylon," H. Trimmen-Dulau & Co Ed., 1885.
2. "A Revised Handbook to the Flora of Ceylon," Apothecaries Ed., Colombo, 1972, vol. 1, part 1, p. 16.
3. Y.A.G.P. Gunawardena, S. Kandiah, S. Kesavamoorthy, D.M. Sirisena, R.C. Wijesundera, et G.P. Wannigama, *Proc. Sri Lanka Assoc. Adv. Sci.*, **29**, 151 (1973).
4. M.U.S. Sultranbawa, G.P. Wannigama, W.M. Bandaranayake, V. Kumar, A.A. Leslie Gunatilaka, F.A. Marikar, S. Balasubramaniam, et S.N. Arsecularatne, *J. Nat. Prod.*, **41**, 597 (1978).
5. N. Kunesch, A. Cavé, E.W. Hagaman, et E. Wenkert, *Tetrahedron Lett.*, **21**, 1727 (1980).
6. M. Gorman, N. Neuss, G.H. Svoboda, A.J. Barnes, et N.J. Cone, *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, **48**, 256 (1959).
7. B.K. Moza, J. Trojáněk, A.K. Bose, K.G. Das, et P. Funke, *Lloydia*, **27**, 416 (1964).
8. E. Wenkert, B. Wickberg, et C.L. Leicht, *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 5037 (1961).
9. M. Mansour, L. Le Men-Olivier, J. Lévy, et J. Le Men, *Phytochemistry*, **13**, 2861 (1974).
10. Y. Rolland, N. Kunesch, J. Poisson, E.W. Hagaman, F.M. Schell, et E. Wenkert, *J. Org. Chem.*, **41**, 3270 (1976).
11. H.F. Hodson et G.F. Smith, *J. Chem. Soc.*, 1877 (1957).
12. J. Lévy, J. Le Men, et M.M. Janot, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1658 (1961).
13. B.C. Das, J.P. Cosson, G. Lukacs, et P. Potier, *Tetrahedron Lett.*, 4299 (1974).
14. L. Douzoua, M. Mansour, M.M. Debray, L. Le Men-Olivier, et J. Le Men, *Phytochemistry*, **13**, 1994 (1974).
15. S. Mamatas-Kalamaras, T. Sévenet, C. Thal, et P. Potier, *Phytochemistry*, **14**, 1637 (1975).
16. S.K. Kan, P. Gonord, M. Fan, M. Sauzade, et J. Courtieu, *Rev. Sci. Instrum.*, **49**, 785 (1978).

Received 6 July 1987