

NOUVEAUX ALCALOÏDES DE TYPE ASPIDOFRACTININE FONCTIONNALISÉS EN C-17, EXTRAITS DES ÉCORCES DE TRONC D'UN *KOPSIA* DE MALAISIE¹

C. KAN-FAN, S.K. KAN, J.R. DEVERRE, J.C. QUIRION, H.P. HUSSON,*

Institut de Chimie des Substances Naturelles, CNRS, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex, France

Y.L. ZHOU,

Shanghai Institute of Materia Medica, Yue-Yang Road, Shanghai 200031, China

et K.C. CHAN

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

ABSTRACT.—Three new indole alkaloids of the aspidofractinine group, *N*-carbomethoxy-17 β -hydroxy-kopsinine [2], *N*-carbomethoxy-17 β -hydroxy- Δ -14,15-kopsinine [3], and kopsinone [5], have been isolated from the stem bark of *Kopsia deverrei*. The proposed structures were assigned after detailed analysis of their ¹H and ¹³C nmr spectra.

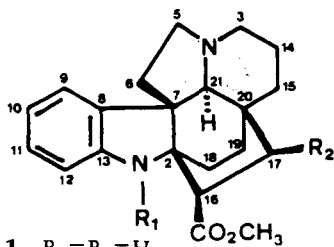
Les plantes du genre *Kopsia* (Apocynacées) sont rencontrées en Chine, Inde, Thaïlande, Philippines, Indonésie, et Malaisie. Dans le cadre d'une étude de ce genre nous avons examiné une espèce chinoise (1) et une espèce malaisienne (2).

Dans ce mémoire nous rapportons l'étude d'une espèce nouvelle *Kopsia deverrei* L. Allorge (3), récoltée en Malaisie par l'un d'entre nous (J.R.D.). *K. deverrei* est un arbre d'environ 8 m de hauteur rencontré dans la région de Johor poussant sur sol sableux en forêt primaire exploitée.

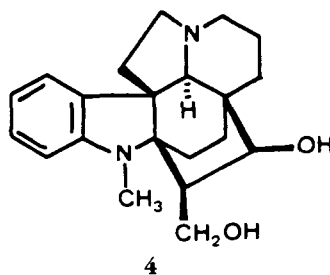
Les écorces de tronc renferment 0,61% d'alcaloïdes totaux comprenant dix alcaloïdes dont cinq appartenant à la série aspidofractinine ont été étudiés au cours de ce travail. Les autres alcaloïdes feront l'objet d'un autre mémoire. Deux alcaloïdes ont été identifiés à la (-)-*N*-méthoxycarbonyl méthoxy-12 kopsinaline (4) et à la (-)-*N*-méthoxycarbonyl méthylènedioxy 11, 12-kopsinaline (4).

La détermination de structures des nouveaux composés 2, 3, et 5 a été réalisée par l'étude des spectres de rmn du ¹H et du ¹³C.

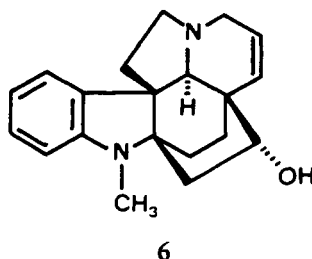
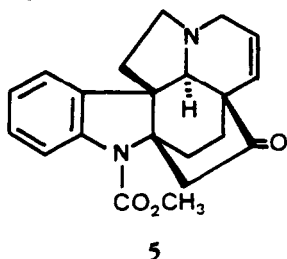
(-)-*N*-CARBOMÉTHOXY-17 β -HYDROXY-KOPSININE [2].—Cet alcaloïde a été obtenu à l'état amorphe. Le spectre uv est de type dihydroindole. La sm indique un pic moléculaire à *m/z* 412 dont l'analyse à haute résolution conduit à la formule C₂₃H₂₈N₂O₅ (calcd 412,1998, trouve 412,2043); les fragments les plus importants sont observés à *m/z* 397 [M - 15]⁺ et 353 [M - 59]⁺ ce qui indique la présence d'un carbométhoxyle dans la molécule.



- 1 R₁=R₂=H
2 R₁=CO₂CH₃, R₂=OH
3 R₁=CO₂CH₃, R₂=OH, Δ ^{14,15}



¹Ce travail s'inscrit dans le cadre d'un programme de recherches en coopération entre l'ICSN/CNRS et l'Université de Malaya à Kuala-Lumpur.



Cette observation est confirmée par une bande d'absorption à 1700 cm^{-1} dans le spectre ir.

Le spectre de rmn du ^1H de ce composé présente un massif mal résolu à 4,8 ppm et un singulet à 3,75 ppm intégrant pour 6 protons. Le spectre de rmn du ^{13}C apporte des renseignements précis sur la structure. On note tout d'abord la présence de deux carbonyles à 174,1 et 154,2 ppm, déplacements caractéristiques d'un ester et d'un carba-mate. La partie aromatique est composée de deux carbones quaternaires et quatre carbones tertiaires. La comparaison des parties aliphatiques de ce composé et de la kopsinine [1] montre de grandes analogies (1) (Tableau 1). On note cependant l'apparition d'un carbone tertiaire à 67,7 ppm et la disparition d'un des carbones secondaires (C-15, C-17, C-18, ou C-19) de la kopsinine, ce qui indique la présence d'une fonction alcool sur l'un de ces carbones. Le fait que les carbones 16 et 20 subissent un déblindage de 8,4 et 6,2 ppm prouve sans ambiguïté que la fonction hydroxyle est située en 17.

TABLEAU 1. Données de Rmn de ^{13}C de la (-)-Kopsinine [1], de la (-)-N-Carbométhoxy-17 β -hydroxy-kopsinine [2], de la (-)-N-Carbométhoxy-17 β -hydroxy- Δ -14,15-kopsinine [3] et de la (+)-Kopsinone [5].

Atome	Composé			
	1	2	3	5
C-2	66,7	68,6	69,1	66,8
C-3	47,6	48,1	49,2	47,8
C-5	50,7	50,2	49,5	51,6
C-6	36,5	37,9	39,8	36,1
C-7	57,9	57,0	52,6	57,0
C-8	140,6	139,0	138,8	139,1
C-9	121,6	123,4	122,8	124,1
C-10	119,7	122,0	121,5	122,3
C-11	126,6	127,7	127,8	127,9
C-12	110,8	115,2	115,5	115,9
C-13	149,0	141,2	141,6	142,2
C-14	17,1	18,0	128,3	125,8
C-15	34,8	29,1 ^a	131,2	128,2
C-16	43,8	52,2	52,0	45,7
C-17	31,8	67,7	65,9	212,9
C-18	33,9	30,4 ^a	29,5	27,2
C-19	33,9	26,2 ^a	23,0	26,2
C-20	31,2	37,5	40,9	46,0
C-21	68,4	69,8	74,5	67,7
C=O	174,3	174,1	173,4	154,2
C=O	—	154,2	154,1	—
O-Me	51,9	52,2	52,6	52,5
O-Me	—	54,2	53,8	—

^aValeurs pouvant être interchangeables.

La stéréochimie des groupements carbométhoxyle et hydroxyle en 16 et 17 est déduite de l'examen du spectre de rmn du ^1H du produit **4** obtenu par réduction avec LiAlH_4 de **2**. Le proton H-17 résonne à 4,49 ppm, sous forme d'un doublet ($J = 6,5$ Hz) couplant avec le H-16 à 2,12 ppm. La constante de couplage est caractéristique d'un proton en position pseudo-axiale couplant avec un autre proton pseudo-axial (5). Cette hypothèse est confirmée par le fait qu'aucun de ces protons ne couple avec l'un des protons H-18 ou H-19, ce qui serait le cas s'ils occupaient une position pseudo-équatoriale (couplage W). On en conclut donc que le carbométhoxyle en 16 et l'hydroxyle en 17 sont tous les deux en position β .

N-CARBOMÉTHOXY-17 β -HYDROXY- Δ -14,15-KOPSININE [3].—Ce composé amorphe présente des caractéristiques spectrales et physiques proches de celles de la *N*-carbométhoxy-17 β -hydroxy-kopsinine [**2**]. En sm le pic moléculaire apparaît à m/z 410, les autres fragments sont identiques à deux unités près à ceux du composé **2**. En rmn du ^1H on note deux massifs de protons éthyléniques à 5,85 et 5,68 ppm. Ces protons couplent entre eux et avec les deux protons H-3 à 3,73 et 2,90 ppm.

En rmn du ^{13}C on note la présence de deux signaux oléfiniques à 131,2 et 128,3 ppm et la disparition de deux carbones secondaires de la partie aliphatique par rapport au composé précédemment décrit (Tableau 1).

L'hydrogénation catalytique de cet alcaloïde fournit un composé en tout point identique à la *N*-carbométhoxy-17 β -hydroxy-kopsinine [**2**] (sm, rmn), ce qui permet d'attribuer la structure **3** au nouvel alcaloïde.

(+)-KOPSINONE [5].—Cet alcaloïde se présente sous forme amorphe. Le spectre uv (EtOH) présente des absorptions maximales caractéristiques d'un noyau dihydroindolique. La sm indique un pic moléculaire à m/z 350, dont l'analyse haute résolution conduit à la formule brute $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$ (calcd 350,1631, trouvé 350,1621). Le spectre ir présente à 1710 et 1700 cm^{-1} les bandes caractéristiques d'un carbamate aromatique et d'une cétone.

En rmn du ^1H , on note la présence de deux protons éthyléniques à 5,98 et 5,70 ppm couplant entre eux et avec deux protons à 3,75 et 3,77 ppm; de plus on observe un singulet intégrant pour trois protons à 3,44 ppm. On retrouve, d'autre part, le système AA'BB' des protons H-5 et H-6 à des déplacements proches de ceux observés pour des composés voisins (1,2).

La rmn du ^{13}C montre la présence de six carbones oléfiniques ou aromatiques tertiaires et d'un pic à 212,9 ppm caractéristique d'un carbonyle de cétone (Tableau 1).

L'ensemble de ces éléments permet de proposer pour ce composé une structure portant une fonction cétone en C-17 ou C-19. Le déblindage important (15 ppm) observé pour le C-20 en rmn du ^{13}C est compatible avec ces hypothèses. Les méthodes spectroscopiques classiques ne permettant pas de déduire la structure exacte de ce composé, nous avons étudié l'alcool **6** obtenu par réduction ($\text{LiAlH}_4/\text{THF}$). La substitution par un hydroxyle des C-17 ou C-19 peut être déduite de l'examen du sm; il est en effet bien connu (6,7) que les alcaloïdes de la série aspidofractinine conduisent à une réaction de type retro-Diels-Alder avec coupure des liaisons C-20-C-19 et C-2-C-18 (Figure 1): le fait que le sm du composé **6** présente des fragments à m/z 280 $[\text{M} - 28]^+$ et 123 prouve sans ambiguïté que le groupement hydroxyle est porté par le C-17.

En rmn du ^1H , le proton H-17 résonne à 3,85 ppm. Il couple avec les deux protons H-16 ($J = 9,5$ et $J = 2$ Hz) et le H-19 équatorial ($J = 2$ Hz) ce qui prouve une configuration β pseudo-équatoriale.

La kopsinone [**5**] est donc la *N*-carbométhoxy-17-oxo aspidofractinine. Des feuilles de *K. deverrei* des dérivés de la kopsinone ont été isolés. Leurs structures feront l'objet d'une publication ultérieure.

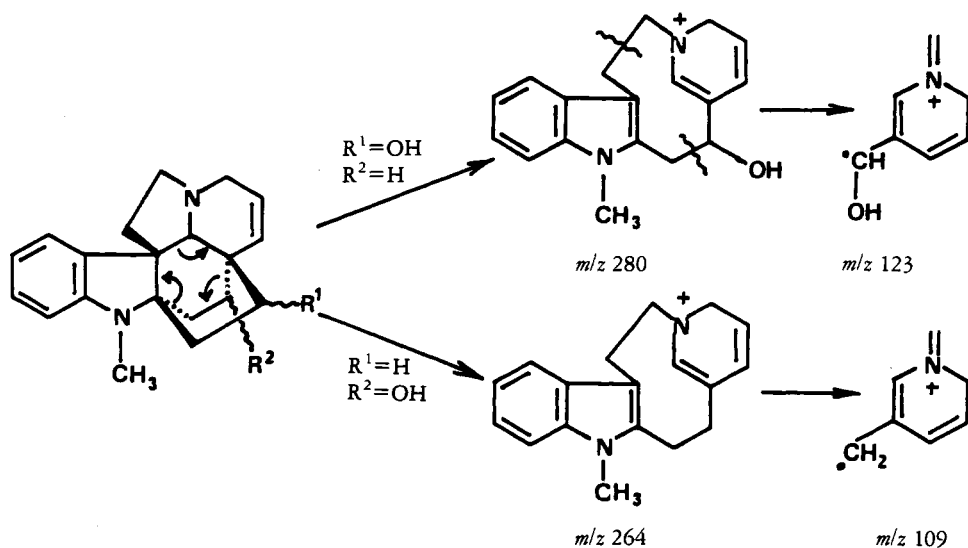


FIGURE 1

Ainsi la mise en évidence des alcaloïdes de *K. deverrei* montre la remarquable homogénéité de cette espèce avec les autres espèces déjà étudiées et souligne l'évolution phylogénétique particulière de ce genre à l'intérieur des Apocynacées. Cette évolution peut d'ailleurs être rapprochée de celle des *Melodinus* autre genre renfermant occasionnellement des alcaloïdes à squelette kopsane.

PARTIE EXPERIMENTALE

APPAREILLAGE.—Les spectres uv ont été réalisés dans EtOH, les spectres de rmn du ¹H ont été enregistrés dans le CDCl₃ à 400 MHz (référence TMS = 0) et ceux de rmn du ¹³C à 22,63 MHz.

MATERIEL VEGETAL.—Les échantillons de *K. deverrei* ont été récoltés par J.R. Deverre à Johor, Malaisie, et déterminés par L. Allorge (3). Un échantillon d'herbier est déposé au Laboratoire de Phanirgamie (Muséum d'Histoire Naturelle, Paris).

EXTRACTION ET ISOLEMENT DES ALCALOÏDES.—Les alcaloïdes ont été extraits par la méthode classique après alcalinisation de la plante (2,1 kg). Les rendements en alcaloïdes totaux sont de 6,1 g/kg pour les écorces de tronc. Les différents alcaloïdes ont été purifiés par chromatographies sur colonne de gel de silice suivies de séparation sur plaques préparatives de silice. On obtient ainsi la (-)-*N*-carbométhoxy-17β-hydroxy-kopsinine [2] [93 mg; R_f 0,5 (Et₂O-hexane-MeOH, 75:20:5)], la *N*-carbométhoxy-17β-hydroxy-Δ-14,15-kopsinine [3] [73 mg; R_f 0,5 (CHCl₃-MeOH, 96:4)] et la kopsinone [5] [29 mg; R_f 0,85 (Et₂O-hexane-MeOH 75:20:5)].

(-)-*N*-CARBOMÉTHOXY-17β-HYDROXY-KOPSININE [2].—[α]_D²⁰ = -132° (c = 0,18, CHCl₃); uv λ max nm (log ε) (EtOH) 245 (4,21), 281 (3,58), 288 (3,55); sm *m/z* (%) 412 (100), 397 (18), 379 (16), 353 (68), 125 (16), 124 (18) (C₂₃H₂₈N₂O₅ sm hr tr 412,2043, calcd 412,1998); ir CHCl₃ ν max cm⁻¹ 3500, 1700, 1450; rmn de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) 7,7-7,0 (4H aromatiques), 4,75 (H-17, m), 3,78 (O-Me, s), 3,09 (H-3) (dt, *J* = 14,0 et *J* = 2,0 Hz), 2,90 (H-3, 2 × H-5, H-21, m), 2,18 (H-6, H-16, m), 2,00 (H-18, H-15, m), 1,80 (H-14, tddd, *J* = 14,0, *J* = 13,5, *J* = 3,5, *J* = 3,0 Hz), 1,58 (H-19, H-15, H-6, m), 1,35 (H-19 ddd, *J* = 14,0, *J* = 3,5, *J* = 2,0 Hz), 1,02 (H-14, dddd, *J* = 14,0, *J* = 13,5, *J* = 3,5, *J* = 2,0 Hz), 0,92 (H-18, td, *J* = 12,0, *J* = 2,0 Hz).

REDUCTION DE LA (-)-*N*-CARBOMÉTHOXY-17β-HYDROXY-KOPSININE [2].—La réduction de 17 mg de (-)-*N*-carbométhoxy-17β-hydroxy-kopsinine dans 2 ml de THF par LiAlH₄ fournit 12 mg de *N*-méthyl-16β-hydroxyméthyl-17β-hydroxy-aspidofractinine [4]: ir film ν max cm⁻¹ 3450; sm *m/z* (%) 340 (100), 339 (66), 312 (13), 309 (13), 294 (15), 281 (25), 265 (21), 238 (66), 188 (37), 170 (63), 124 (92); rmn de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) 7,2-6,5 (4H aromatiques), 4,49 (H-17, d, *J* = 6,5 Hz), 4,30 (H-22, dd, *J* = 10,5, *J* = 4,5 Hz), 4,08 (H-22, t, *J* = 10,5 Hz), 3,17 (H-3, ddd, *J* = 13,0, *J* = 4,0, *J* = 3,0 Hz), 3,08 (H-5, dt, *J* = 7,5, *J* = 7,0 Hz), 3,03 (H-21, s), 3,01 (H-5, td, *J* = 7,0, *J* = 5,0 Hz), 3,00 (H-3, ddd,

$J = 14,0, J = 13,0, J = 1,0$ Hz), 2,69 (NMe, s), 2,40 (H-6, ddd, $J = 13,5, J = 7,5, J = 5,0$ Hz), 2,12 (H-16, ddd, $J = 10,5, J = 6,5, J = 4,5$ Hz), 2,12 (H-15, ddd, $J = 14,0, J = 13,0, J = 4,5$ Hz), 1,95 (H-18, ddd, $J = 12,0, J = 11,0, J = 7,5$ Hz), 1,83 (H-14, dtdd, $J = 14,5, J = 14,0, J = 4,5, J = 3,0$ Hz), 1,65 (H-6, dt, $J = 13,5, J = 7,0$ Hz), 1,47 (H-19, ddd, $J = 13,0, J = 11,0, J = 2,0$ Hz), 1,41 (H-15, ddd, $J = 14,0, J = 13,0, J = 1,0$ Hz), 1,35 (H-19, ddd, $J = 13,0, J = 12,0, J = 7,5$ Hz), 1,05 (H-14, ddd, $J = 14,5, J = 14,0, J = 4,0, J = 1,0$ Hz), 0,97 (H-18, td, $J = 12,0, J = 2,0$ Hz).

N-CARBOMÉTHOXY-17 β -HYDROXY- Δ -14,15-KOPSININE [3].— $[\alpha]^{20}_D - 110^\circ$ ($c = 0,50$, CHCl₃); uv λ max nm (log ϵ) (EtOH) 245 (4,21), 280 (3,63), 288 (3,59); ir CHCl₃ ν max cm⁻¹ 3500, 1700; sm m/z (%) 410 (100), 395 (4), 378 (8), 351 (25), 307 (48), 252 (36); rmn de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) 7,3–6,9 (4H aromatiques), 5,85 (H-14, ddd, $J = 10,0, J = 3,0, J = 2,0$ Hz), 5,68 (H-15, dt, $J = 10$ Hz, $J = 1,5$ Hz), 4,75 (H-17, m), 3,73 (H-3, ddd, $J = 15,0, J = 3,0, J = 1,5$ Hz), 3,71 (O-Me, s), 2,90 (H-3 et 2 \times H-5, m), 2,75 (H-21, s), 2,15 (H-6 et H-16, m), 1,90 (H-18 et H-19, m), 1,53 (H-6, m), 1,40 (H-19, ddd, $J = 13,0, J = 12,0, J = 7,5$ Hz), 1,09 (H-18, td, $J = 12,0, J = 2,0$ Hz).

HYDROGENATION CATALYTIQUE DE LA N-CARBOMÉTHOXY-17 β -HYDROXY- Δ -14,15-KOPSININE [3].—L'hydrogénation catalytique (C/Pd 10%) à température et pression ordinaires de 15 mg de N-carbométhoxy-17 β -hydroxy- Δ -14,15-kopsinine [3] dans le MeOH (10 ml) fournit 13 mg d'un composé identique à la N-carbométhoxy-17 β -hydroxy-kopsinine [2] (ms, $[\alpha]^{20}_D$, ir, rmn).

Kopsinone [5].— $[\alpha]^{20}_D + 87^\circ$ ($c = 1,2$; CHCl₃), uv λ max nm (log ϵ) (EtOH) 241 (4,17), 279 (3,55), 288 (3,51); ir film ν max cm⁻¹ 1710, 1700, 1480; sm m/z (%) 350 (100), 322 (32), 321 (60), 307 (20), 215 (28), 156 (21), 107 (28), 93 (21); C₂₁H₂₂N₂O₃ sm hr tr 350,1621, calcd 350,1631; rmn de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) 7,35 (H-9, d, $J = 7,5$ Hz), 7,24 (H-11, t, $J = 7,5$ Hz), 7,07 (H-10, t, $J = 7,5$ Hz), 5,98 (H-14, ddd, $J = 10,5, J = 3,0, J = 2,0$ Hz), 5,70 (H-15, dt, $J = 10,5, J = 2,0$ Hz), 3,83 (O-Me, s), 3,75 (H-3, dt, $J = 19,0, J = 2,0$ Hz), 3,44 (H-21, s), 3,37 (H-3, ddd, $J = 19,0, J = 3,0, J = 2,0$ Hz), 3,15 (H-16, dd, $J = 19,0, J = 3,0$ Hz), 2,94 (H-5, td, $J = 8,5, J = 3,0$ Hz), 2,73 (H-5, td, $J = 8,5$ et $J = 7,0$ Hz), 2,38 (H-6, ddd, $J = 13,5, J = 7,0, J = 3,0$ Hz), 2,02 et 1,22 (2 \times H-18, m), 1,62 (2 \times H-19 et H-6, m).

REDUCTION DE LA KOPSINONE [5].—La réduction de 10 mg de kopsinone par LiAlH₄ dans 5 ml de THF à reflux pendant 5 h fournit 6 mg de N-méthyl-hydroxy-17 β -déhydro-14,15-aspidofractinine [6]: ir film ν max (cm⁻¹) 3400; sm m/z (%) 308 (100), 280 (13), 268 (10), 265 (9), 172 (97), 158 (32), 135 (16); rmn de ¹H (400 MHz, CDCl₃) 7,1–6,5 (4H aromatiques), 6,00 (H-14, ddd, $J = 10,0, J = 4,5, J = 1,5$ Hz), 5,68 (H-15, dt, $J = 10,0, J = 2,0$ Hz), 3,85 (H-17, dt, $J = 9,5, J = 2,0$ Hz), 3,56 (H-3, ddd, $J = 15,5, J = 4,5, J = 2,0$ Hz), 3,12 (H-3, ddd, $J = 15,5, J = 2,0, J = 1,5$ Hz), 3,01 (H-5, dd, $J = 8,5, J = 6,0$ Hz), 2,80 (H-21, d, $J = 1,5$ Hz), 2,76 (H-6, dd, $J = 12, J = 6$ Hz), 2,63 (N-Me, s), 2,58 (H-5, ddd, $J = 12,0, J = 8,5, J = 4,5$ Hz), 2,39 (H-16, dd, $J = 13,5, J = 10,0$ Hz), 2,27 (H-16, ddd, $J = 13,5, J = 4,5, J = 2,5$ Hz), 1,6–1,2 (H-6, 2 \times H-18, 2 \times H-19, m).

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Mr. T. Sevenet pour l'aide qu'il nous a apportée dans la collaboration entre nos laboratoires.

BIBLIOGRAPHIE

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. Kan-Fan, T. Sevenet, K.C. Chan, et H.-P. Husson, *J. Nat. Prod.*, **48**, 124 (1985).
3. L. Allorge et L.E. Teo, *Phytologia*, **59**, 93 (1986).
4. X.-Z. Feng, C. Kan, P. Potier, S.K. Kan, et M. Lounasmaa, *Planta Med.*, **48**, 280 (1983).
5. E. Pretsch, T. Clerc, J. Seibl, et W. Simon, in: "Tables of Spectral Data for Structure Determination of Organic Compounds." Ed. F.L. Boschke, W. Fresenius, J.F.K. Huber, E. Pungor, G.A. Rechnitz, W. Simon et Th.S. West. Springer-Verlag, Berlin, 1983.
6. C. Djerassi, H. Budzikiewicz, R.J. Owellen, J.M. Wilson, W.G. Kump, D.J. Le Count, A.R. Battersby, et H. Schmid, *Helv. Chim. Acta.*, **46**, 742 (1963).
7. T. Ohnuma, T. Oishi, et Y. Ban, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, 301 (1973).

Received 23 November 1987