

procedures.⁴⁻⁶ These C-glycosylflavones were minor constituents, the major flavonoids being as yet uncharacterized biflavones. This is the first report of C-glycosylflavones in the cycads.

EXPERIMENTAL

The plant material was furnished by the Fairchild Tropical Gardens, Miami, Florida, U.S.A. (accession Nos. 58545 and 59958). The air dried leaflets were thoroughly extracted with 80% EtOH. The extract was concentrated, filtered through celite, and the aqueous filtrate was exhaustively extracted with EtOAc. The EtOAc was removed under vacuum, the residue dissolved in a small amount of MeOH and chromatographed on a polyamide column (H₂O, 80% MeOH, and MeOH); each fraction was chromatographed one dimensionally on paper (15% HOAc); finally, each 1-dimensional band was purified by 2-dimensional chromatography on paper (TBA and 15% HOAc). UV-visible spectra were determined according to Mabry *et al.*⁴ The compounds were refluxed in acid according to Wallace *et al.*⁶ and the products were chromatographed on 0.25 mm Avicel (TG-101) plates using TBA and 15% HOAc. Cochromatography was on Avicel plates using 80% isopropyl alcohol; 1% HOAc; 15% HOAc; BAW, TBA; and Benz: HOAc: H₂O (6:7:3; organic phase).

⁴ T. J. MABRY, K. R. MARKHAM and M. B. THOMAS, *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer-Verlag, New York (1970).

⁵ J. W. WALLACE, T. J. MABRY and R. E. ALSTON, *Phytochem.* 8, 93 (1969).

⁶ J. W. WALLACE and T. J. MABRY, *Phytochem.* 9, 2133 (1970).

Key Word Index—*Dioon spinulosum*; cycadales; flavone-C-glycosides.

Phytochemistry, 1972, Vol. 11, pp. 843 to 846. Pergamon Press. Printed in England.

ANGIOSPERMAE DICOTYLEDONAE

APOCYNACEAE

ALCALOÏDES DES FEUILLES D'*HOLARRHENA MITIS**

M. LEBOEUF†, A. CAVÉ‡, G. P. WANNIGAMA§ et R. GOUTAREL‡

(Reçu le 4 juin 1971)

Holarrhena mitis est une espèce endémique dans l'île de Ceylan où elle est connue sous les noms de kiri-walla et kiri-mawara;^{1,2} on la trouve dans les régions sèches jusqu'à une altitude de 500 m. L'écorce, vendue sous le nom de 'kalinda' est utilisée en médecine locale dans le traitement des fièvres et de la dysenterie.

C'est un arbre grand et frêle, à écorce lisse et blanchâtre; les rameaux sont grêles, lisses, de couleur pourpre. Les feuilles, courtement pétiolées, mesurent de 4 à 9 cm; elles sont oblongues-lancéolées, glabres, minces. Les fleurs apparaissent en Avril en corymbes peu

* Partie CXXXIII dans la série "Alcaloïdes Stéroïdiques". Pour Partie CXXXII J. EINHORN, C. MONNERET et Q. KHUONG-HUU (sous presse).

† Laboratoire de Matière Médicale, Faculté de Médecine et de Pharmacie, 25-Besançon.

‡ Institut de Chimie des Substances Naturelles du C.N.R.S., 91-Gif s/Yvette.

§ Université de Ceylan, Peradeniya.

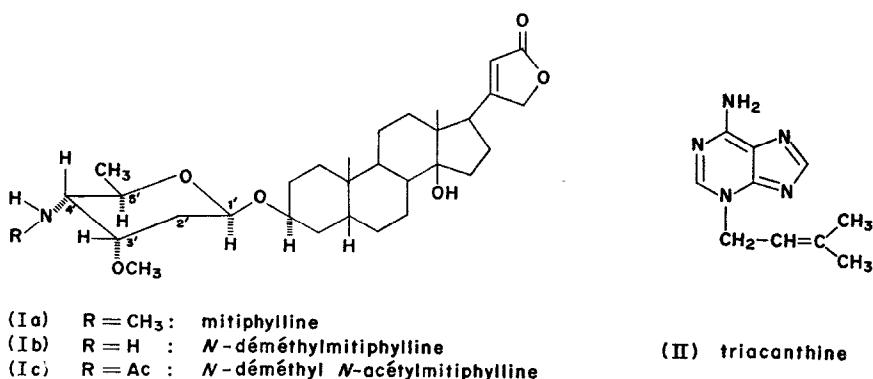
¹ TRIMEN, *A Handbook to the Flora of Ceylon* Part III, p. 131, Dulau, London (1895).

² KIRTIKAR et B. D. BASU, *Indian Medicinal Plants* (edited by L. M. BASU), Vol. II, p. 1573, Allahabad, India (1935).

compacts; elles possèdent un pédoncule assez long et pubescent; les bractées sont petites et aciculaires. Les pièces du calice sont aiguës; la corolle forme un tube d'environ 1 cm de long terminé par des lobes en forme de lanière de 15 mm de long. Le fruit est constitué par deux follicules de 35 à 40 cm, fins, cylindriques, glabres. Les graines, étroites, sont munies d'une touffe de poils fauves dont la longueur est double de celle de la graine.

A partir de l'écorce d'*Holarrhena mitis*, de la conessine a été isolée et des bases stéroïdiques déméthylées de la série de la conessine ont été mises en évidence.³ De nouvelles recherches ont montré que ces écorces sont riches en alcaloïdes oxygénés du type de l'holarrhimine.⁴

Nous avons précédemment décrit^{5,6} l'isolement, à partir d'un échantillon de feuilles d'*Holarrhena mitis* récoltées à Ceylan, de la mitiphylline (Ia) premier exemple d'un aminoglyco-cardénolide naturel. Sa structure résulte de l'union d'un cardénolide, identifié à la digitoxigénine, et d'un sucre aminé, le désoxy-4' méthylamino-4' D-cymaropyrannose ou N-méthylholosamine.



Disposant d'une quantité plus importante de feuilles d'*H. mitis*, nous avons repris l'étude des constituants alcaloïdiques, afin d'isoler les autres alcaloïdes existant à côté de la mitiphylline. L'extraction des bases alcaloïdiques, effectuée selon une méthode classique, a conduit à un rendement en alcaloïdes totaux de 2,3 g%. La chromatographie sur colonne d'alumine a permis d'isoler, en plus de la mitiphylline, 2 autres alcaloïdes.

Le premier, de polarité très légèrement supérieure à celle de la mitiphylline, est identifié à la N-déméthyl mitiphylline, (Ib). Son spectre de RMN est en effet pratiquement superposable à celui de la mitiphylline; seul est absent le singulet à δ 2,35 ppm provenant du N-CH₃ en 4' de la mitiphylline. Son spectre de masse confirme la formule brute C₃₀H₄₇O₆N (M⁺ = 517) et est surtout caractérisé par un ion à m/e 73 (pic de base) correspondant à H₂N⁺=CH-ĊH-OCH₃, prouvant la filiation avec la mitiphylline dans laquelle l'ion correspondant CH₃HN⁺=CH-ĊH-OCH₃ se trouve à m/e 87.⁵

Comme la mitiphylline, la N-déméthylmitiphylline est une base amorphe; l'acétylation conduit à une N-déméthyl N-acétylmitiphylline (Ic) cristallisée (méthanol aqueux), dont le spectre de masse présente un pic moléculaire M⁺ 559 et dont le pic de base à m/e 115 correspond à l'ion radicalaire AcHN⁺ = CH-ĊH-OCH₃.

³ V. P. BHAVANANDAN et G. P. WANNIGAMA, *J. Chem. Soc.* 2368 (1960).

⁴ G. P. WANNIGAMA et A. CAVÉ, *Ann. Pharm. Fr.* (à paraître).

⁵ M.-M. JANOT, M. LEBOEUF, A. CAVÉ, R. O. B. WIJESKERA et R. GOUTAREL, *Compt. Rend.* 267 C, 1050 (1968).

⁶ R. GOUTAREL, *Kémiai Közlemények* 34, 155 (1970).

Le deuxième alcaloïde isolé s'est révélé identique à la triacanthine (II) γ,γ diméthylallyl-3 amino-6 purine, d'abord retirée des feuilles de *Gleditsia triacanthos*⁷ et d'autres légumineuses Césalpiniees,⁸ puis retrouvée dans les feuilles de deux Apocynacées africaines du genre *Holarrhena*, *H. floribunda* et *H. febrifuga*.^{9,10}

La triacanthine ne semble pas jusqu'ici avoir été trouvée dans les feuilles d'*Holarrhena* asiatiques autres que *H. mitis*. Il faut cependant noter que la présence de triacanthine ne semble pas spécifique ni de l'espèce botanique, ni de l'origine géographique, mais dépend surtout de l'époque de la récolte.^{7,10}

Dans le cas des feuilles d'*H. mitis*, nous confirmons cette variabilité de la teneur en triacanthine. Le premier échantillon étudié par nous en 1968 renfermait les 3 principaux alcaloïdes selon les pourcentages suivants (exprimés par rapport aux alcaloïdes totaux): mitiphylline: 65%, *N*-déméthylmitiphylline: 10%, triacanthine: 20% (ces 2 derniers évalués selon l'importance de leurs taches en CCM). Dans le nouveau lot de feuilles étudié actuellement, les pourcentages de ces alcaloïdes sont: mitiphylline: 40%, *N*-déméthylmitiphylline: 9%, triacanthine: 45%. Il semble que le taux maximal de triacanthine soit observé pendant les périodes de floraison et de fructification.

En dehors de ces 3 alcaloïdes principaux, les feuilles d'*H. mitis* ne renferment que des traces de 2 autres alcaloïdes de polarité très voisine de celle de la mitiphylline et qui n'ont pu être isolés. On doit noter que les amines stéroïdiques du type de l'holamine et de l'holaphyllamine, caractéristiques des feuilles des *Holarrhena* africains, semblent être absentes des feuilles de cet *Holarrhena* asiatique.

EXPERIMENTALE

Extraction des alcaloïdes totaux. 12 kg de feuilles d'*H. mitis* sont traités au Soxhlet par de l'éther de pétrole. La poudre séchée est alcalinisée par de l'ammoniaque diluée et extraite au Soxhlet par du chlorure de méthylène; la solution extractive est concentrée sous pression réduite jusqu'à siccité. Le résidu gommeux est repris par un litre de méthanol acétique à 10%; le titre alcoolique est abaissé par addition progressive de 1,2 l. d'eau et le précipité qui apparaît est éliminé par filtration. La solution méthanolique acide est lavée à l'éther de pétrole, puis extraite de nombreuses fois par du CHCl_3 après alcalinisation par l'ammoniaque et dilution à l'eau; cette extraction est longue par suite de la solubilité non négligeable des bases alcaloïdiques dans l'eau. La solution CHCl_3 est lavée à l'eau, séchée sur Na_2SO_4 et tirée à sec sous pression réduite; elle laisse un résidu brut d'alcaloïdes totaux pesant 28 g, soit un rendement de 2,3 g %.

Isolement des alcaloïdes. 23 g d'alcaloïdes totaux sont dissous dans le minimum de CHCl_3 et triturés avec de l'alumine 'Merck' d'activité II-III. Le solvant est chassé sous vide, et le résidu introduit à la partie supérieure d'une colonne renfermant 750 g d'alumine 'Merck' (activité II-III) dans du benzène.

(1) L'élution par le mélange benzène- CHCl_3 (1:1), puis par du CHCl_3 pur, permet d'isoler 9,55 g de mitiphylline, (Ia), dans un degré de pureté satisfaisant. Les constantes physicochimiques de la mitiphylline ont été décrites dans des publications antérieures.^{5,6}

(2) L'élution par du CHCl_3 renfermant des quantités croissantes d'éthanol (2%, puis 5%) fournit 2,35 g de *N*-déméthyl mitiphylline (Ib) légèrement impure; un échantillon est purifié par une deuxième chromatographie sur alumine: produit amorphe, blanc; $[\alpha]_D^{20} = +9^\circ$ (CHCl_3).

Spectre de RMN:* de la partie stéroïdique: CH_3 18, s à 0,87 ppm; CH_3 19, s à 0,93; H 17, m à 2,74; H 3a, m à 3,99; CH_2 21, m à 4,86; H 22, t à 5,85. De la partie amino-sucre: CH_3 6', d à 1,23 (J = 6Hz); OCH_3 3', s à 3,39; H 1', dd à 4,67; H 3', m à 3,73; H 5', m à 3,50.

Spectre de masse: pic moléculaire M^+ à 517; pics à $m/e = 73$ (pic de base), 339, 357.

N-acétyl *N*-déméthylmitiphylline (Ic). 500 mg de *N*-déméthylmitiphylline (Ib) sont acétylés par 0,5 cm³ d'anhydride acétique dans 5 cm³ de méthanol, selon la méthode classique. Après extraction, le résidu,

* Les spectres de RMN ont été réalisés dans le deutériochloroforme avec un Varian A-60 (référence O, tétraméthylsilane); les déplacements chimiques sont exprimés en ppm et les constantes de couplage en Hz. Les spectres de masse ont été réalisés sur un spectrographe MS 9.

⁷ A. S. BELIKOV, A. I. BANKOWSKY et M. V. TSAREV, *Zhur. Obshchei. Khim.* 24, 914 (1954).

⁸ X. G. MONSEUR et E. L. ADRIENS, *J. Pharm. Belg.* 279 (1960).

⁹ M.-M. JANOT, A. CAVÉ et R. GOUTAREL, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 896 (1959).

¹⁰ A. CAVÉ, *Thèse Doctorat ès-Sciences*, Paris (1962).

535 mg, est purifié par chromatographie sur 18 g de gel de silice 'Merck'. Le dérivé *N*-acétylé (Ic) élué, homogène en CCM, est repris par du méthanol aqueux; la cristallisation, longue et difficile, livre 140 mg de cristaux, F (peu net) 253–256°; $[\alpha]_D^{20} = +16^\circ$ (CHCl₃).

Spectre de RMN. Semblable à celui de Ib; on note seulement en plus la présence à 1,98 ppm du singulet provenant de NH–CO–CH₃ en 4', et le déplacement du CH₃ 6' de 1,23 à 1,16 ppm.

Spectre de masse. Pic moléculaire M⁺ à 559; pics à *m/e* = 115 (pic de base), 339, 357, 515.

(3) L'élution par du CHCl₃ renfermant 5%, puis 10%, puis 50% d'éthanol, livre 10,20 g de triacanthine (II). Un échantillon est cristallisé dans le méthanol: F231°; ses constantes physicochimiques et ses données spectrales sont identiques à celles d'un échantillon de référence.

Remerciements—Nous remercions le Professeur M.-M. Janot pour l'intérêt qu'il a porté à ces recherches et les Laboratoires ROUSSEL pour une généreuse subvention accordée à l'un de nous (G.P.W.).

Key Word Index—*Holarrhena mitis*, Apocynaceae; steroidal alkaloids; mitiphylline; *N*-desmethyl-mitiphylline; triacanthine.

Phytochemistry, 1972, Vol. 11, pp. 846 to 847. Pergamon Press. Printed in England.

ALCALOÏDES D'*OCHROSIA BALANSAE**

JEAN BRUNETON et ANDRÉ CAVÉ

Laboratoire de Matière Médicale, Faculté de Pharmacie de Paris, Paris, France

(Reçu le 21 avril 1971)

DIVERSES études ont montré que certaines espèces appartenant au genre *Ochrosia* (Apocynacées) contenaient des alcaloïdes du groupe de l'ellipticine doués de propriétés antitumorales.¹

Le genre *Ochrosia* est répandu en zones tropicales et subtropicales, en particulier en Australie et dans les îles de l'Océan Indien et du Pacifique. Un certain nombre d'espèces sont propres à la Nouvelle-Calédonie, c'est le cas d'*Ochrosia balansae* Guill. qui fait l'objet de cette étude, dans le cadre d'un examen systématique des *Ochrosia* de Nouvelle-Calédonie.

Ochrosia balansae Baill. ex. Guill. = *Excavatia balansae* Guill.² est un arbuste ou un arbre pouvant atteindre 6–8 m de hauteur. Les feuilles ovales-lancéolées (7–12 cm × 2–5 cm) pétiolées, sont coriaces, pointues; les nervures latérales, peu visibles, sont très serrées et presque à angle droit. Les inflorescences sont axillaires, dichotomes; les fleurs, faiblement pédicellées, possèdent une corolle d'environ 1,4 cm, à lobes tordus, presque aussi longs que le tube, des étamines insérées à la partie supérieure du tube. Les fruits, d'abord ailés, sont ensuite fortement comprimés, à bords aplatis à péricarpe très aminci, à endocarpe ligneux sur la face externe. L'échantillon étudié a été récolté dans les forêts du Boulinda, sur massifs peridotitiques.

Des écorces de tronc, ont été isolés quatre alcaloïdes: l'ellipticine (I), l'aricine (II), l'isorésérpine (III) et la résérpine (IV).

* Partie VI dans la série "Plantes de Nouvelle-Calédonie". Pour Partie V, H. MEHRI, M. PLAT et P. POTIER, *Ann. Pharm. Fr.* **29**, 291 (1971).

¹ G. H. SVOBODA, G. A. POORE et M. L. MONTFORT, *J. Pharm. Sci.* **57**, 1720 (1968).

² A. GUILLAUMIN, *Bull. Soc. Bot. Fr.* **LXXXVIII**, 362 (1941).

³ M. SHAMMA et J. M. RICHEY, *J. Am. Chem. Soc.* **85**, 2507 (1963).