

ALCALOIDES DES FEUILLES DU *CRIOCERAS DIPLADENIIFLORUS*

JEAN BRUNETON, ARMAND BOUQUET et ANDRÉ CAVÉ

U.E.R. de Chimie Thérapeutique, Université Paris-Sud Centre de Châtenay, Rue J.B. Clément,
92-Châtenay-Malabry, France

(Reçu le 7 février 1974)

Key Word Index—*Crioceras dipladeniiflorus*; Apocynaceae; indole and bisindole alkaloids; criophylline; 12-methoxyvoaphylline; andrangine.

Abstract—Three alkaloids have been isolated from leaves of *Crioceras dipladeniiflorus*. Two of them, 12-methoxyvoaphylline and criophylline are new and their structures have been determined. The third has been identified as andrangine an alkaloid isolated recently from another Apocynaceae *Craspedospermum verticillatum*.

Résumé—Des feuilles du *Crioceras dipladeniiflorus* ont été isolés trois alcaloïdes indoliques. Deux d'entre eux sont nouveaux, un monomère, la méthoxy-12 voaphylline un dimère, la criophylline et leur structure a été établie. Le troisième a été identifié à l'andrangine, alcaloïde récemment isolé d'une autre Apocynacée, le *Craspedospermum verticillatum*.

Crioceras dipladeniiflorus est un petit arbuste de la famille des Apocynacées dont seules les écorces avaient fait l'objet d'une étude chimique.¹ Les feuilles étudiées proviennent de divers peuplements localisés dans les forêts du Sud-Ouest de la République Populaire du Congo. Une étude a également été effectuée sur des feuilles provenant de culture réalisée au Phytotron de Gif/Yvette. Une extraction, menée de façon classique, fournit les alcaloïdes totaux avec un rendement moyen de 0,75%. L'utilisation simultanée de chromatographie sur colonne d'alumine et de filtration moléculaire sur gel de Sephadex permet d'isoler trois alcaloïdes.

L'alcaloïde 1 qui représente 3-5% des alcaloïdes totaux est nouveau; cristallisant du méthanol, F 149°, $(\alpha)_{578} = +61^\circ$ (CHCl_3 , C = 1), il répond à la formule $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_2\text{N}_2$ ($\text{M}^+ 326$); il possède un spectre UV caractéristique du chromophore indolique. Le spectre de RMN indique la présence d'une substitution sur le noyau indole: *m* de 3 protons aromatiques de 6,5 à 7,0 ppm et *s* de 3 protons à 3,95 dû à un groupement méthoxyle; ce spectre montre en outre la présence d'une chaîne éthyle (*t*, 0,71 ppm) fixée sur un carbone trisubstitué.

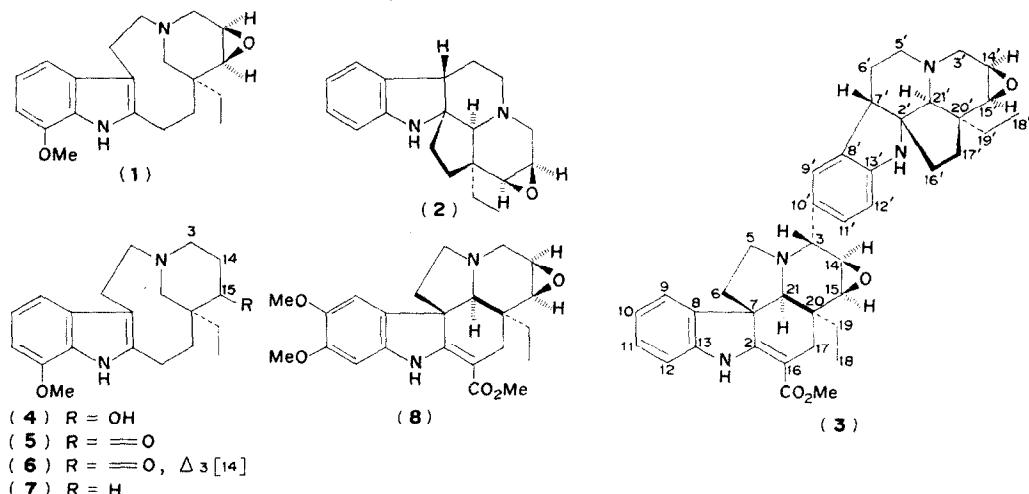
Le spectre de masse confirme ces données (pics à *m/e* 297: $\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5$, *m/e* 173, 174 et 186: indole substitué).³ La présence de pics à *m/e* 122 et 140 permet d'envisager pour l'alcaloïde 1 une structure de type québrachamine dans laquelle un atome d'oxygène supplémentaire est engagé dans une fonction époxyde, c'est-à-dire une structure de type voa-

¹ BRUNETON, J., BOUQUET, A. et CAVÉ, A. (1973) *Phytochemistry* **12**, 1475.

² HALLE, N. (1971) *Adansonia*, Sér. 2, **11**, 301.

³ BUDZIKIEWICZ, H., DJERASSI, C. et WILLIAMS, D. H. (1964) *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry*, Vol. 1, Holden Day, San Francisco.

phylline.⁴ Après comparaison des spectres de masse de la voaphylline* et de l'alcaloïde 1, la structure d'une méthoxy voaphylline peut être proposée pour ce dernier.



L'utilisation des déplacements paramagnétiques induits par les sels d'Europium⁵ ayant donné des résultats intéressants pour placer le méthoxyle d'un des alcaloïdes des écorces de racines,⁶ le spectre de RMN de **1** a été enregistré en présence de quantités croissantes de Eu(DPM)₃. En fait, la complexation se faisant d'abord sur la fonction époxy et tous les protons aromatiques (et le méthoxyle) étant situés à des distances pratiquement identiques par rapport à l'emplacement supposé de l'ion paramagnétique de Eu^{III}, les déplacements subis par ceux-ci sont sensiblement égaux, ce qui ne permet pas de conclure. On peut cependant faire apparaître un système du premier ordre (*d, t, d*) impliquant la présence de trois protons aromatiques vicinaux: la substitution ne peut intervenir qu'en 9 ou en 12. La position 12 semble la plus probable: superposition de la région des protons aromatiques des spectres de RMN de la méthoxy-12 Δ^{14} vincamine (des écorces de racines) et de l'alcaloïde **1**; parenté biogénétique de ces deux types d'alcaloïdes. Cette structure a été démontrée par corrélation avec la méthoxy-12 québrachamine.

La réduction de **1** par AlLiH_4 fournit le méthoxy voaphyllinol **4** qui conduit, après réaction d'Oppenauer, au mélange des cétones **5** et **6**. Une réaction de Wolff Kischner sur la cétone **5** fournit la méthoxy quebrachamine **7**. La comparaison de **7** avec la (+) méthoxy-12 quebrachamine isolée du *Melodinus australis*⁷ s'est révélée impossible. En effet, Linde qui isola cet alcaloïde nous a fait parvenir une communication non publiée du Professeur Pecher établissant, après examen des spectres de RMN que le produit isolé du *Melodinus* est en fait une (+) méthoxy-11 quebrachamine.

Les spectres de masse et UV de 7 sont par contre superposables à ceux de la (-) méthoxy-12 quebrachamine, obtenue par Biemann⁸ à partir de la déhydro desacétyl aspidospermine qui, de ce fait, possède une chaîne éthyle 20β . Le pouvoir rotatoire est de signe opposé et de valeur absolue approximativement analogue compte tenu de la faible précision.

* Cet alcaloïde est présent dans les écorces de racines.

⁴ KUNESCH, N., DAS, B. C. et POISSON, J. (1967) *Bull. Soc. Chim. Fr.* 2155.

⁵ HINCKLEY, C. C. (1969) *J. Am. Chem. Soc.* **91**, 5160.

⁶ BRUNETON, J., CAYÉ, A. et CAYÉ, A. (1973) *Tetrahedron* **29**, 1131.

LINDE, H. H. A. (1965) *Helv. Chim. Acta* **48**, 1822.

⁸ BIEMANN, K. (1960) *Tetrahedron Letters*, 9.

sion de la détermination en raison de la petite quantité isolée: $(\alpha)_{578} = +86^\circ \pm 15$ (dioxane) [(-) méthoxy-12 quebrachamine: $(\alpha)_D = -103^\circ$ (dioxane)]. Il semble donc que l'on puisse choisir pour l'alcaloïde 1 la position 12 pour le groupe méthoxyle. Toute ambiguïté a pu être finalement levée par l'étude du spectre de RMN du ^{13}C qui confirme la position 12 du groupe méthoxyle et la stéréochimie de l'époxyde: (+) méthoxy-12, époxy- $14\beta,15$ quebrachamine (comparaison avec les spectres de RMN de ^{13}C d'alcaloïdes voisins et utilisation des travaux de Parker et Roberts).¹⁴

L'alcaloïde 2 (0,5 à 4% des alcaloïdes totaux) cristallise de l'hexane, F 132°, $(\alpha)_{578} = -42^\circ$ (CHCl_3 , C = 1), il répond à la formule brute $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{ON}_2$ (M^+ 296). Son spectre UV est caractéristique du chromophore dihydroindole. L'examen des différentes données spectrales a permis de l'identifier à un alcaloïde nouveau récemment isolé de *Craspidospermum verticillatum*, l'andrangine, dont la structure a été établie par dégradations chimiques.⁹

L'alcaloïde 3 est nouveau et a été dénommé criophylline. C'est l'alcaloïde majoritaire des feuilles du *Crioceras* dont il constitue environ 60% du total alcaloïdique. La criophylline cristallise dans l'acétone ou le méthanol, F 278° – 280°, $(\alpha)_{578} = -176^\circ$ (CHCl_3 , C = 1,04). Sa formule brute $\text{C}_{40}\text{O}_{46}\text{O}_4\text{N}_4$ a été déterminée par spectrométrie de masse à haute résolution (M^+ 646, 3519).

Il s'agit d'un alcaloïde indolique dimère. L'analyse du spectre UV permet de mettre en évidence la superposition d'un chromophore carboxyméthylène indolénine et d'un chromophore dihydro indolique, ce dernier apparaissant nettement en retranchant le spectre de la tabersonine¹⁰ de celui de la criophylline. Le spectre de RMN confirme la présence du groupement carbométhoxyle, révèle la présence de deux chaînes éthyle et de 7 protons benzéniques. La criophylline résiste à tous les réactifs usuels de coupure (HCl, HCl/Sn, etc.,...), traitée par la potasse éthanolique normale, elle conduit à une descarbométhoxy-criophylline, traitée par le cyanoborohydrure de potassium en milieu acétique, elle conduit à une dihydro-2-16 criophylline.

La présence dans le spectre de masse d'un ion à m/e 432 ($\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_2\text{N}_3$) impliquant l'élimination d'un fragment neutre $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{N}$, confirme la présence de l'enchaînement caractéristique des alcaloïdes du type tabersonine;³ de plus, cet ion implique que la jonction des deux monomères n'intervient pas au niveau du noyau benzénique de la partie indolique. Par contre, la présence de sept protons aromatiques permet de penser que la liaison engage un carbone aromatique de la partie dihydroindolique, l'autre point de jonction pouvant être au niveau des carbones 3, 5, 14, 15 ou 21 de la partie tabersonine.

Le spectre infrarouge de la descarbométhoxy-criophylline ne présentant plus de bande carbonyle à 1680 cm^{-1} , on peut affirmer que les deux oxygènes non encore placés ne sont pas engagés dans un groupe oxo; la présence de deux chaînes éthyle exclut l'existence de ponts éther du type béninine¹¹ ou aspidoalbine;¹² enfin il n'a pas été possible d'acétyler la criophylline par les procédés classiques. Il est donc possible d'envisager la présence d'au moins une fonction époxyde.

Les méthodes classiques ne permettant pas de préciser davantage la structure de la criophylline, il a été fait appel à la spectrométrie de RMN du ^{13}C . Celle-ci a permis de pro-

⁹ KAN, C., HUSSON, H.-P., DAS, B. C. et POTIER, P. *Bull. Soc. Chim.* in the press.

¹⁰ PLAT, M., LE MEN, J., JANOT, M.-M., WILSON, J. M., BUDZIKIEWICZ, H., DURHAM, L. J. et DJERASSI, C. (1966) *Tetrahedron* **22**, 1075.

¹¹ GORMAN, A. A., AGNADA, V., HESSE, M., RENNER, H. et SCHMID, M. (1966) *Helv. Chim. Acta* **49**, 2072.

¹² DJERASSI, C., ANTONNACIO, L. D., BUDZIKIEWICZ, H. et WILSON, J. M. (1962) *Tetrahedron Letters*, 1001.

¹³ CAVÈ, A., BRUNETON, J., AHOND, A., BUI, A.-M., HUSSON, H.-P., LUKACS, G. et POTIER, P. (1973) *Tetrahedron Letters*, 5081.

poser la structure **3** sur la base de l'étude des spectres d'alcaloïdes monomères, l'andrangine **2**, et l'hazuntinine **8**. Les résultats détaillés de cette étude ont été publiés par ailleurs.¹³ Cette structure s'est trouvée confirmée par l'étude des spectres de masse de dérivés déuteriés ou non de la criophylline.

Il est intéressant de constater l'absence, dans les feuilles du *Crioceras*, des alcaloïdes trouvés dans les écorces de tiges et de racines, ceci d'autant plus que andrangine et criophylline représentent des intermédiaires biogénétiques entre la tabersonine et les Δ^{14} vincamines qui sont les alcaloïdes majoritaires de ces parties de la plante. L'existence de l'andrangine confirme l'hypothèse du stade intermédiaire envisagé entre la dihydrotabersonine et la vincamine.¹⁵ La vallesamidine, mise en évidence lors de la synthèse biomimétique de la vincamine¹⁶ représente d'ailleurs une forme stabilisée de l'intermédiaire proposé, décrite avant même l'isolement de l'andrangine [(+)-époxy-14,15 nor-1 vallesamidine].

EXPERIMENTALE

1,5 kg de feuilles broyées sont alcalinisées par NH_4OH 1/2; l'extraction est réalisée dans un appareil de type Soxhlet par CH_2Cl_2 . La solution organique est extraite par une solution aqueuse HCl 10%; les phases aqueuses réunies sont extraites par CHCl_3 après alcalinisation par NH_4OH ; la solution CHCl_3 séchée sur Na_2SO_4 , distillée à sec fournit un résidu de 13,3 g (feuilles provenant de cultures réalisées au Phytotron). En ce qui concerne les feuilles provenant du Congo, les rendements sont voisins. Une différence est observée au niveau de la composition qualitative, les alcaloïdes mineurs (**1** et **2**) étant plus abondants (5 et 4%) dans les feuilles du Phytotron que dans les lots congolais (3 et 0,5%). Les A.T. sont chromatographiés sur 30 fois leur poids d' Al_2O_3 (Merck II, III), les fractions 1-10 (1,55 g) sont cristallisées dans MeOH .

Methoxy-12 voaphylline **1**. $F = 149\text{--}151^\circ$ (α)₅₇₈ = +61° (CHCl_3 , $c = 1$); UV (EtOH): 228 (4,52), 275 (3,75), 292 (3,58); RMN (δ ppm): t : 0,71 (*J* 7): Me en 18; s , 3,98: -OMe en 12; m : 6,5 à 7,0: 3H aromatiques; s , 8,0: N-H. SM: *m/e* 326 (M^+), 297, 279, 186, 174, 173, 140 (100%), 122.

Methoxy-12 voaphyllinol **4**. 110 mg de **1** sont dissous dans 100 ml de Et_2O anhydre et réduits par AlLiH_4 ; après refroidissement et destruction de l'excès d'hydrure, la solution étherée est extraite par une solution aqueuse HCl 2%. Les phases acides, alcalinisées (NH_4OH) sont extraites par CHCl_3 ; après lavage, séchage et distillation à sec, on obtient 102 mg de **4** presque pur, non cristallisé. UV (EtOH): λ_{max} 228, 275, 291; SM: *m/e* 328 (M^+), 140, 122.

Reaction d'Oppenauer sur **4**: *cétone* **5** et **6**. 101 mg de **4**, 200 mg de fluorénone sèche et 200 mg de terbutylate de K sont dissous dans 60 ml de C_6H_6 anhydre. Après reflux sous N_2 (2 hr), le mélange est versé sur de la glace et acidifié par HCIN . La phase acide est lavée (Et_2O), alcalinisée (NH_4OH) et extraite (CH_2Cl_2). Le résidu (78 mg) est chromatographié (Al_2O_3). *Cétone* **5**, élue au C_6H_6 , 33 mg. M^+ 326. UV: λ_{max} 232, 273, 292. *Cétone* **6**, élue par le mélange C_6H_6 - Et_2O (90/10); UV: λ_{max} 232, 273, 292, 332; SM: *m/e* 324 (M^+). RMN: t , 0,88 (*J* 7,5): Me en 18; s , 3,96: -OMe en 12; d , 5,13 (*J* 8): H éthylénique conjugué: m , 6,5-7,0; 3H aromatiques et 1H éthylénique conjugué.

Reaction de Wolf Kischner (mod. Huang Minlon) sur la cétone **6**: *Méthoxy-12 quebrachamine* **7**; 100 mg de Na sont dissous dans 5 ml d'éthylène glycol redistillé, on ajoute 32 mg de **6** puis 0,3 ml d'hydrate d'hydrazine 98%; après 1h à 170° et 5 hr à 200°, le mélange est versé sur de la glace et extrait (Et_2O). Le résidu est soumis à une CCM préparative (silice). **7**: UV: 231, 274, 292; SM: *m/e* 312 (M^+), 297, 283, 240, 187, 174, 173, 156, 138, 124, 110. (α)₅₇₈ = +86° ± 15 (dioxyane $c = 0,7$).

Les eaux-mères de cristallisation de **1** (1,29 g) sont filtrées sur gel de Sephadex LH₂₀, on élue par fractions de 5 ml. Les fractions 49-57 réunies (604 mg) sont cristallisées (MeOH): 1 156 mg. Les eaux-mères sont distillées à sec et reprises par l'hexane; l'alcaloïde **2** cristallise. *Andrangine* **2**: (+)-époxy-14,15 nor-1 vallesamidine: $F = 132^\circ$ (α)_D = -42° (CHCl_3 , $c = 1$); SM: *m/e* 296 (M^+), 130. Identifiée par comparaison avec un échantillon authentique.

Les fractions 11-25 de la chromatographie des A.T. (CH_2Cl_2) reprises par Me₂CO fournissent 4,3 g de **3**. *Criophylline* **3**: $F = 276\text{--}279^\circ$ dec., (α)₅₇₈ = -176° (CHCl_3 , $c = 1,04$); UV (EtOH) 214 (4,26), 228 (c 4,08), 257 (3,93), 299 (4,06), 327 (4,28). SM: *m/e* 646, 3528 (c pour $\text{C}_{40}\text{H}_{46}\text{O}_4\text{N}_2$; 646,3519) 83,8%; 432,2650 (c pour $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3$; 432,2651); 65,9%; 336,2071 (c pour $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{ON}_3$; 336,2076); 100%; autres pics à *m/e* 550, 309, 168, 154, 144, 138 et 108.

¹⁴ PARKER, R. G. et ROBERTS, J. D. (1970) *J. Org. Chem.* **35**, 996.

¹⁵ WENKERT, E. et WICKBERG, B. (1965) *J. Am. Chem. Soc.* **87**, 1580.

¹⁶ (a) MAUPERIN, P., LEVY, J. et LE MEN, J. (1971) *Tetrahedron Letters*, 999.

(b) LEVY, J., MAUPERIN, P., MAINDREVILLE, M.D. de, LE MEN, J. (1971) *Tetrahedron Letters*, 1003.

Descarbométhoxy criophylline: 200 mg de criophylline sont dissous dans 40 ml de KOH/EtOH N et portés à reflux 3 hr 30. Après neutralisation par HCl, le précipité cristallin est essoré, lavé (EtOH) et éliminé. Le filtrat est concentré, dilué à l'eau, alcalinisé (NH₄OH) et extrait (Et₂O). Le résidu (183 mg) est chromatographié sur Al₂O₃. F = 260° (α)₅₇₈ = -63° (CHCl₃, c = 0,74); UV: 212 (4,30), 256 (4,03); SM: m/e 588 (M⁺), 559, 478, 336, 251, 224, 194, 182, 180, 168, 156, 144, 143, 108.

Descarbométhoxy dihydro-2,16 criophylline: 42 mg de descarbométhoxycriophylline sont hydrogénés (EtOH, Pt (Adams), H₂, 2 hr). Le résidu est purifié par chromatographie sur couche mince: UV: 212, 252, 300; M⁺ 590.

Dihydro-2,16 criophylline: 500 mg de criophylline et 500 mg de NaCNBH₃ dans 30 ml de MeCO₂H sont agités pendant trois heures. Après dilution (H₂O) et alcalinisation (NH₄OH), on extrait par CH₂Cl₂. Le résidu est repris par Et₂O et lavé plusieurs fois. On obtient 473 mg de dihydro-2,16 criophylline; amorphe [α]₅₇₈ = -53° (CHCl₃, c = 1) M⁺: 648.

Remerciements—Nous remercions le Dr. C. Kan qui nous a fourni l'échantillon d'andrangine et le Dr. P. Bladon qui nous a effectué le spectre de masse à haute résolution de la criophylline.