

LA CRIOCERINE: NOUVEL ALCALOIDE ISOLE DES TIGES DE *Crioceras dipladeniiflorus*

JEAN BRUNETON, CHRISTIANE KAN-FAN* et ANDRÉ CAVÉ

U.E.R. de Chimie Thérapeutique, Centre d'Etudes Pharmaceutiques de Châtenay, rue J. B. Clément,
92290-Châtenay-Malabry, France

et *Institut de Chimie des Substances Naturelles, C.N.R.S., 91190-Gif-sur-Yvette, France

(Reçu le 17 juillet 1974)

Key Word Index—*Crioceras dipladeniiflorus*; Apocynaceae; indole alkaloids; criocerine.

Abstract—Seven indolic alkaloids have been isolated from the stem bark of *Crioceras dipladeniiflorus*. One of them is new and has been called criocerine. Its structure, 7, has been established by use of physical data and chemical correlation with [Δ^{14}]-vincamine.

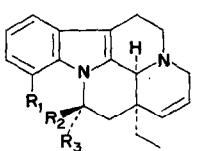
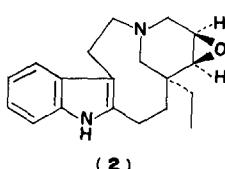
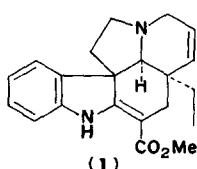
Résumé—Des écorces de tiges du *Crioceras dipladeniiflorus* ont été isolés sept alcaloïdes indoliques. L'un de ceux-ci est nouveau et a été dénommé Criocérine. Sa structure, 7, est établie par l'utilisation des méthodes physiques et corrélation avec la [Δ^{14}]-vincamine.

Après avoir étudié les alcaloïdes des écorces de racines [1] et des feuilles [2] du *Crioceras dipladeniiflorus* (Stapf) K. Schumann il nous a semblé intéressant de voir si la composition alcaloïdique des écorces de tiges en différait considérablement.

Les écorces de tiges contiennent 0,43% d'alcaloïdes totaux et sept alcaloïdes ont pu être isolés. Six d'entre eux avaient précédemment été isolés des écorces de racines, tabersonine (1) (2 à 3%), voaphylline (2) (3-4%), [Δ^{14}]-vincamine (3) (20%), épi-16-[Δ^{14}]-vincamine (4) (20 à 25%), méthoxy-12-[Δ^{14}]-vincamine (5) (traces) et apo (16,17)-[Δ^{14}]-vincamine (6) (traces). Le septième s'est avéré être spécifique des écorces de tiges et a été retrouvé dans tous les lots étudiés. Il s'agit d'un alcaloïde nouveau que nous avons dénommé criocérine (7).

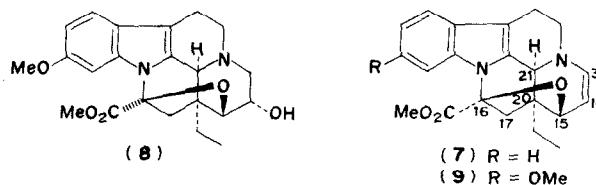
La criocérine représente environ 1% du totum alcaloïdique. Elle cristallise dans le méthanol, F 161°-162°, $[\alpha]_{D}^{27} - 27^{\circ}$ (CHCl_3 , *c* 0,85). Sa formule brute, $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_3\text{N}_2$ est confirmée par SM: $M^+ = 350$. Le spectre UV [EtOH, λ_{nm} (log ϵ)]: 227 (4,51), 269 (3,96), 281 (3,86) et 291 (3,59) révèle l'existence d'un chromophore indolique, il est presque superposable à celui de la [Δ^{14}]-vincamine (3). Le spectre de masse laisse apparaître peu de fragmentations; le pic de base, à $m/e = 170$, indique cependant, la présence, dans la molécule, du squelette tetrahydro β carboline [3]; des pics à m/e 335, 321 et 291 (M-15, M-29, M-59) révèlent l'existence d'une chaîne éthyle et d'un groupe carbométhoxy.

L'étude du spectre de RMN confirme la présence de la chaîne éthyle (*t*, 1,05 ppm, *J* 7 Hz; *m* 1,50 ppm), le groupe carbométhoxyle (*s* 4,06 ppm) et la non-substitution du noyau indolique (*m* de quatre protons de 7,00 à 7,50 ppm). La partie du spectre comprise entre 1 et 4,5 ppm est très proche de celle que l'on observe dans le cas de l'épi-16-[Δ^{14}]-vincamine (4); même système AB à 2,41 et 2,80 ppm, *J* 12,5 Hz dû aux deux protons inéquivalents d'un CH_2 , même singulet à 4,33 ppm caractéristique des *cis*-quinolizidines [4]. La présence d'un doublet dédoublé à 4,6 ppm (*J* 8 Hz, *J'* 5,5 Hz) et d'un doublet à 5,9 ppm (*J* 8 Hz) indique la présence d'une insaturation probablement située en position énamine. Par la technique de



- (3) $R_1 = H$; $R_2 = OH$; $R_3 = \text{CO}_2\text{Me}$
(4) $R_1 = H$; $R_2 = \text{CO}_2\text{Me}$; $R_3 = H$
(5) $R_1 = \text{OMe}$; $R_2 = OH$; $R_3 = \text{CO}_2\text{Me}$
(6) $R_1 = H$; $R_2 = \text{CO}_2\text{Me}$; $\Delta^{16,17}$

double irradiation, on montre en outre qu'il n'y a qu'un seul proton allylique (*dd*, 4,2 ppm, *J* 5,5 Hz, *J'* 2 Hz). Enfin, l'absence de proton échangeable dans le spectre conduit à penser que le troisième atome d'oxygène est engagé dans un pont étheroxyde. Compte tenu de la similitude de la [Δ^{14}]-vincamine (3), de son épimère en 16 (4), et de la criocérine, on est amené à postuler pour cette dernière l'hypothèse de structure 7, hypothèse qui fait de la criocérine un dérivé apparenté à la vincarodine (8) [5].



A ce stade de nos travaux, nous avons eu connaissance de l'isolement d'un alcaloïde de structure voisine: la craspidospermine (9), isolée par Husson *et al.* [6] d'une Apocynacée malgache, *Craspidospermum verticillatum*, la criocérine ne différant de la craspidospermine que par l'absence du méthoxyde en 11.

La preuve de la structure et la stéréochimie des centres asymétriques sont fournies par l'hémisynthèse de la criocérine à partir de la [Δ^{14}]-vincamine (3), par la méthode utilisée par Husson *et al.* [7] pour corrélérer la craspidospermine à la [Δ^{14}]-vincine. Le dérivé *N*-oxyde de la [Δ^{14}]-vincamine est traité par l'anhydride trifluoroacétique (Réaction de Polonovski). On obtient ainsi un composé analogue par toutes ses constantes physiques, y compris le pouvoir rotatoire, à la criocérine naturelle. Ceci permet donc d'établir sans ambiguïté la structure de la criocérine et en particulier la configuration β du pont étheroxyde.

Ayant ainsi étudié toutes les parties de la plante, un certain nombre de remarques peuvent être énoncées. La teneur en alcaloïdes totaux des écorces de racines (1,35% de moyenne) est largement supérieure à celle des écorces de tiges. Les écorces de racines sont toujours proportionnellement plus riches en [Δ^{14}]-vincamine et épi-16-[Δ^{14}]-vincamine que les écorces de tiges. Qualitativement, les seuls alcaloïdes différenciant les écorces de racines des écorces de tiges sont la vobtusine constante dans les racines et la criocérine

constante dans les tiges. Les alcaloïdes des feuilles (criophylline, andrangine et méthoxy-12 voaphylline) n'ont jamais pu être mis en évidence ni dans les écorces de racines, ni dans les écorces de tiges. Enfin, les graines quant à elles ne contiennent qu'un seul alcaloïde, la tabersonine.

PARTIE EXPERIMENTALE

205 g d'écorces de tiges broyées sont alcalinisées (NH_4OH 1/2). L'extraction est réalisée dans un Soxhlet (CH_2Cl_2). La solution organique est extraite par une solution aqueuse HCl 10%. Les phases aqueuses réunies sont extraites (CHCl_3) après alcalinisation (NH_4OH). La soin CHCl_3 des bases, séchée (Na_2SO_4) est distillée à sec (*p* 887 mg). Le résidu est chromatographié sur 35 g d'alumine (Merck II-III).

Le benzène élue successivement:

Tabersonine (1). Amorphe. Cl^- : F 196°. $[\alpha]_D -310^\circ$ (MeOH) $M^+ 336$.

Voaphylline (2). Purifiée par CCM (CHCl_3 -MeOH- NH_4OH 95-5-0,25) cristallise dans MeOH. F 164-166°. $[\alpha]_{578} +28^\circ$, $M^+ 296$. Ces deux alcaloïdes sont identifiés par comparaison avec des échantillons authentiques (PF mélangés, R_f en CCM, IR).

Criocérine (7). Cristallise dans le MeOH. F 161-162°. $[\alpha]_{578} -27^\circ$ (CHCl_3 , *c* 0,85). (*Anal.*: C, 71,31%; H, 6,29%; N 8,05% (Calc. pour $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_3\text{N}_2$ C, 71,98%; H, 6,33%; N, 8,0%). UV [EtOH λ_{max} (log ϵ)]: 277 (4,51), 269 (3,96), 281 (3,86), 291 (3,59). IR (KBr) ν cm^{-1} : 1760, 1630. SM: *m/e* 350 (M^+), 335, 321, 291, 263, 170 (100%). RMN (CDCl_3 , TMS 0): *t* 1,13 ppm (*J* 7 Hz); CH_3-CH_2- , syst. AB 2,41 et 2,8 ppm (*J* 12,5 Hz); $-\text{CH}_2-$ 17; *s* 4,06 ppm $-\text{CO}_2\text{Me}$; *s* 4,33 ppm: H_{21} ; *dd* 4,2 ppm (*J* 5,5 Hz, *J'* 2 Hz) H_{15} ; *dd* 4,6 ppm (*J* 8 Hz, *J'* 5,5 Hz); H_{14} ; *d* 5,9 ppm (*J* 8 Hz); H_3 ; *m* 7,0/7,5 ppm $\text{H}_{9,10,11,12}$.

N oxyde de [Δ^{14}]-vincamine. 200 mg de 3 dans 20 ml de CHCl_3 -EtOH (1:1), 1 ml de H_2O_2 , sont laissés 48 hr au bain-marie à 55°. L'excès d' H_2O_2 est détruit par agitation avec du charbon palladié à 10%. Après filtration et distillation à sec, le résidu est cristallisé (MeOH). F 210-211°. $[\alpha]_{578} +80^\circ$ (CHCl_3 , *c* 1).

Réaction de Polonovski sur le N oxyde de [Δ^{14}]-vincamine. 150 mg N oxyde de [Δ^{14}]-vincamine, 20 ml CH_2Cl_2 , 1 ml ($\text{CF}_3\text{CO}_2\text{O}$) sont agités durant 3 hr sous N_2 . Après réaction, la solution est distillée à sec, le résidu repris par MeOH et noyé par une soin de Na_2CO_3 . On extrait (Et_2O) et on récupère 122 mg. Par dissolution dans MeOH et concentration, 3 cristallise. Les eaux-mères sont soumises à une CCM (Silice, CHCl_3 -MeOH, 19:1): 30 mg de 7 identiques au produit naturel (PF, $[\alpha]_{578}$, IR, RMN).

Est également élue au C_6H_6 le mélange séparé par CCM de *apo*(16,17)-[Δ^{14}]-vincamine 6 amorphe, $[\alpha]_{578} +150^\circ$ (CHCl_3 , *c* 1,13) et méthoxy-12 [Δ^{14}]-vincamine 5 qui cristallise dans C_6H_6 . F 210-211°. $[\alpha]_D +96^\circ$ (CHCl_3 , *c* 1). 5 et 6 sont identifiés par rapport à des échantillons de référence (PF, IR, RMN).

Le mélange $\text{C}_6\text{H}_6-\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 19:1 élue la [Δ^{14}]-vincamine 3 F 218°. $[\alpha]_D +116^\circ$ (CHCl_3 , *c* 0,75) et CH_2Cl_2 élue l'épi-16-[Δ^{14}]-vincamine 4 F 185°. $[\alpha]_D +30^\circ$ (CHCl_3 , *c* 1,2). 3 et 4 sont identiques à des échantillons de référence (PF, IR, RMN, SM).

BIBLIOGRAPHIE

1. Bruneton, J., Bouquet, A. et Cavé, A. (1973) *Phytochemistry* **12**, 1475.
2. Bruneton, J., Bouquet, A. et Cavé, A. (1974) *Phytochemistry* **13**, 1963.

3. Budzikiewicz, H., Djerassi, C. et Williams, D. H. (1964) *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry*, Vol. 1, Holden Day, San Francisco.
4. (a) Trager, W. F., Lee, C. H. et Beckett, A. M. (1967) *Tetrahedron Lett.* 365; (b) Uskokovic, M., Bruderer, H., von Planta, C., Williams, T. et Brossi, A. (1964) *J. Am. Chem. Soc.* **86**, 3364.
5. Neuss, N., Boaz, H. E., Occolowitz, J. L., Wenkert, E., Schell, F. M., Potier, P., Kan-Fan, C., Plat, M. et Plat, M. (1973) *Helv. Chim. Acta* **56**, 2660.
6. Husson, H.-P., Kan-Fan, C. et Potier, P. (1975) à paraître.
7. Husson, H.-P., Chevrolot, L., Kan-Fan, C. et Potier, P. (1975) à paraître.