

NAUCLEFINE ET NAUCLETINE DEUX NOUVEAUX ALCALOÏDES DE TYPE INDOLOQUINOLIZIDINE ISOLES DU *NAUCLEA LATIFOLIA*

FRANÇOISE HOTELLIER et PIERRE DELAVEAU

Laboratoire de Phytopharmacologie, UER des Sciences pharmaceutiques et biologiques, Université de Paris V,
4, avenue de l'Observatoire, 75006 Paris, France

et

JEAN-LOUIS POUSSET

Laboratoire de Pharmacognosie, UER mixte de Médecine et de Pharmacie, Université de Poitiers,
34, rue du Jardin des Plantes, 86000 Poitiers, France

(Reçu le 2 mai 1974)

Key Word Index—*Nauclea latifolia*; Rubiaceae; alkaloïds; nauclefine; nauclefine.

Abstract—From the root bark of *Nauclea latifolia* several indoloquinolizidine alkaloïds were isolated. Two are known compounds: angustine and angustoline. The other two, nauclefine and nauclefine, are new products.

Résumé—De l'écorce de racine du *Nauclea latifolia* Sm. (Rubiaceae) ont été isolés plusieurs alcaloïdes de structure indoloquinolizidine. Deux d'entre eux sont identiques respectivement à l'angustine et à l'angustoline; deux autres, la nauclefine et la nauclefine, sont nouveaux.

INTRODUCTION

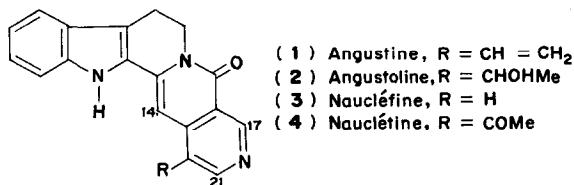
Au cours d'une étude portant sur diverses Rubiacées d'Afrique sahélienne, le *Nauclea latifolia* Sm. a été retenu en raison de sa réputation de plante fébrifuge. Du *Nauclea diderrichii* Merrill ont été isolés déjà plusieurs alcaloïdes de structure indolopyridinique [1].

RESULTATS ET DISCUSSION

Des écorces de racines (10 kg) sont extraites par le CHCl_3 en milieu alcalin. Par addition d'HCl à l'extrait chloroformique, un volumineux précipité de chlorhydrates d'alcaloïdes se forme. Séparé et décomposé à l'état de base puis recristallisé, celui-ci fournit un produit, appelé alcaloïde A. Les eaux mères du précipité contiennent, outre une petite quantité de chlorhydrate de A, les sels des autres alcaloïdes, en particulier B-D solubles dans l'eau.

Après passage à l'état de base, ces quatre alcaloïdes sont séparés par CCM préparative sur silice.

Ils sont remarquables par leur faible solubilité à l'état de base dans le CHCl_3 . Leurs spectres UV présentent des absorptions intenses aux environs de 370-380 et de 390-400 nm, caractéristiques d'un chromophore fortement conjugué. Leurs spectres de RMN obtenus dans le $\text{DMSO}-d_6$ comportent: deux triplets de deux hydrogènes aux environs de 3,10 et 4,40 ppm correspondant aux groupes $=\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}-$, un système complexe entre 7 et 7,80 ppm, correspondant aux protons benzéniques et enfin des signaux entre 8 et 10 ppm attribués à des protons pyridiniques.



Ces données nous permettent de rapprocher ces alcaloïdes de ceux déjà isolés du *Strychnos angusti-*

flora Benth. (Loganiaceae) [2]. L'alcaloïde A, produit jaune possède un P.F. supérieur à 300° et présente un seul pic important dans son spectre de masse M^+ à m/e 313 correspondant à une formule brute $C_{20}H_{15}N_3O$. Son spectre de RMN possède à 3,18 et 4,48 ppm deux triplets de 2 protons (J 6 Hz) correspondant au groupe déjà décrit plus haut, entre 5,6 et 7,25 ppm se trouve un signal complexe (J 18, J 11, J 2 Hz) dû à un système vinylique; entre 7 et 7,8 ppm un multiplet de 4 protons benzéniques et à 7,30, 8,95 et 9,30 ppm, trois singulets correspondant respectivement aux protons 14, 21 et 17. Toutes ces données permettent d'attribuer à l'alcaloïde A majoritaire une structure identique à celle de l'angustine (**1**) déjà isolée du *Strychnos angustiflora*. L'alcaloïde B qui ne diffère dans son spectre de RMN que par l'absence du système vinylique et la présence du groupement $-\text{CH}=\text{OH}-\text{CH}_3$ possède la structure de l'angustoline (**2**). Nous avons vérifié l'identité des alcaloïdes angustine et angustoline avec ceux isolés par le Professeur E. J. Shellard. Les R_f de ces deux alcaloïdes sont identiques aux produits de référence.

Par contre l'alcaloïde C est nouveau; il possède un P.F. 285–290°. Son spectre UV est identique à celui de l'alcaloïde A. Son spectre de masse possède un pic à m/e 286 très important qui est dû à la perte d'un hydrogène. L'analyse confirme la structure brute. Le spectre de RMN ne présente par rapport à l'alcaloïde A que l'absence du groupement vinylique. Nous avons donc affaire à la structure indoloquinolizidine la plus simple. Cet alcaloïde a été dénommé nauléfine (**3**). Pour confirmer cette formule, la synthèse de la nauléfine a pu être menée à bien à partir de l'harmaline et du chlorure de l'acide nicotinique. Cependant contrairement à la synthèse décrite [3], la condensation dans le CHCl_3 des deux produits fournit directement la nauléfine sans qu'une photooxydation soit nécessaire (rendement 10%).

Un quatrième alcaloïde D, appelé nauléteine (**4**) a pu être isolé en faible quantité par CCM préparative. Son spectre de RMN ne diffère de celui de la nauléfine que par un singulet supplémentaire de 3 protons à 2,90 ppm correspondant à un groupement $-\text{CO}-\text{Me}$. Dans le spectre IR existe aussi une absorption supplémentaire à 1700 cm^{-1} . Par hydrogénation de la nauléteine par le borohydrure en milieu méthanolique, on obtient un produit voisin de l'angustoline mais dont le spectre IR diffère

légèrement. En raison de la trop faible quantité du produit, il ne nous a pas été possible de déterminer la structure exacte de la nauléteine.

Le *Nauclea diderrichii* et le *N. latifolia* possèdent des alcaloïdes où figurent à la fois un noyau indole et un noyau pyridine. La structure indoloquinolizidine trouvée pour les alcaloïdes du *Nauclea latifolia* fait donc apparaître une nouvelle catégorie d'alcaloïdes pour cette espèce. La nature chimique de ces alcaloïdes rencontrés simultanément dans les familles des Rubiacées et des Loganiacées ne surprend pas étant donné la proximité taxonomique de ces deux familles botaniques.

PARTIE EXPERIMENTALE

Origine des matières premières. Les échantillons d'écorce de racine et de tige ont été récoltés à Rufisque (Sénégal) et à Deo-longo près de Ouagadougou (Haute Volta).

Extraction des alcaloïdes totaux. Les écorces de racine (10 kg) pulvérisées et traitées par CHCl_3 en milieu neutre, sont, après alcalinisation par NH_4OH , extraites par CHCl_3 à chaud dans un appareil à extraction continue. Le solvant est chassé par distillation et laisse un résidu de 10,66 g d'alcaloïdes totaux bruts. 5 g de ces alcaloïdes sont transformés en chlorhydrates par addition de 50 ml d' HCl 0,5 N. Ils précipitent partiellement par refroidissement et on les sépare par filtration sur verre fritté (1,29 g). Le précipité des chlorhydrates est décomposé par addition d' NH_4OH diluée (50 ml) jusqu'à pH 10 et les bases obtenues sont extraites par CHCl_3 (200 ml 5 fois). Les extraits chloroformiques réunis sont lavés à l'eau, séchés sur Na_2SO_4 et le solvant est chassé par distillation, laissant 1,08 g de résidu. Par dissolution dans le CHCl_3 à chaud, puis refroidissement, un produit cristallise (400 mg). Par recristallisation dans MeOH, on obtient l'alcaloïde A (369 mg). Les eaux-mères sont réunies et les alcaloïdes bases sont séparés par CCM préparative sur silice (solvant: CHCl_3 -MeOH, 19:1). Les alcaloïdes A, B, C et D sont élués au moyen de MeOH. Après filtration sur verre fritté, la solution est évaporée, le résidu est dissous dans CHCl_3 .

Isolément des alcaloïdes. Alcaloïde A (angustine). Obtenu par dissolution dans MeOH- CHCl_3 (1:1) et après élimination du CHCl_3 , cristallisé dans MeOH résiduel (369 mg). Produit jaune. P.F. > 300°. UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 220 (log ϵ : 4,24) 254 (3,96) 292 (3,80) 305 (3,83) 380 (4,36) 398 (4,36) nm. IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3300 3100, 1650, 1600, 1580, 830 et 750 cm^{-1} . RMN: δ (DMSO- d_6) 3,18 (2H, t, J 6 Hz =C- CH_3) 4,48 (2H, t, J 6 Hz, -N- CH_3) entre 5,6 et 7,25 (m , -CH=CH₂) 7–7,80 (4H, m, 4H benzéniques) 7,35 (1H, s, H 14) 8,95 (1H, s, H-21) 9,30 (1H, s, H-17). Analyse élémentaire: H: 4,83, N: 13,41 calculé pour $C_{20}H_{15}N_3O$ trouvé: H: 4,85, N: 13,15. Spectre de masse M^+ 313 (54%) 312 (100%).
Alcaloïde B (angustoline). Obtenu par dissolution dans EtOA MeOH (1:1) et après élimination du MeOH cristallisé dans EtOAc résiduel (21 mg). Produit jaune. P.F.: 285–287°. UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 219 (log ϵ : 4,40) 252 (4,13) 290 (3,84) 300 (3,84) 375 (4,54) 394 (4,56) nm. IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3400–3100, 1650, 1610, 1590, 810 et 750 cm^{-1} . RMN: δ (DMSO- d_6) 1,55 (3H, d, J 6,5 Hz-CH-OH- CH_3) 3,14 (2H, t, J 6,5 Hz=C- CH_3) 4,42 (2H, t, J 6,5 Hz, -N- CH_3) 7,10 7,80 (4H, m, 4 H benzéniques) 8,77 (1H, s, H-21) 9,24 (1H, s, H-17). Analyse élémentaire: H: 5,17, N: 12,68 calculé pour $C_{20}H_{17}N_3O_2$ trouvé: H: 5,1, N: 12,3. Spectre de masse M^+ 331 (100%).
Alcaloïde C (nauléfine). Obtenu dans les mêmes conditions que

pour B (38 mg). Produit jaune. P.F. 285–290°. UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 222 (log ϵ : 4,11) 251 (3,88) 290 (3,49) 300 (3,51) 372 (4,22) 390 (4,22) nm. IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3500–3150, 1660, 1610, 845, 800 et 735 cm^{-1} . RMN: δ (DMSO- d_6) 3,20 (2H, t, J 6,5 Hz =C–CH₂) 4,50 (2H, t, J 6,5 Hz, –N–CH₂) 7–7,80 (6H, m, 4 H benzéniques, H-14, H-20) 8,72 (1H, d, J 5 Hz H-21) 9,40 (1H, s, H-17). Analyse élémentaire H: 4,96, N: 13,76 calculé pour C₁₈H₁₃ON₃, H₂O trouvé H: 4,82, N: 13,65. Spectre de masse: M^+ 287 (21%) 286 (100%). *Alcaloïde D (nauclefine)*. Obtenu dans les mêmes conditions que A (14,8 mg). Produit orange. P.F.: 310°. UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 216 (log ϵ : 4,26) 260 (3,97) 312 (3,72) 404 (4,26) nm. IR: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3350–3150, 1700, 1650, 1600, 830 et 750 cm^{-1} . RMN: δ (DMSO- d_6) 2,90 (3H, s, –CO–CH₃) 3,10 (2H, t, J 6,5 Hz, =C–CH₂) 4,42 (2H, t, J 6,5 Hz –N–CH₂) 7–7,80 (4H, m, 4H benzéniques) 7,95 (1H, s, H-14) 9,35 (1H, s, H-17) 10,80 (1H, s, H-21). Analyse élémentaire: H: 4,6, N: 12,77 calculé pour C₂₀H₁₅N₃O₂ trouvé H: 4,6, N: 12,6. Spectre de masse: M^+ 329 (100%) m/e 301 (64%).

Réduction de la nauclefine. L'alcaloïde D (10 mg) dissous dans MeOH (50 ml) est additionné peu à peu de KBH₄ (150 mg) sous agitation continue 4 h. L'excès de KBH₄ est décomposé par HCl dilué jusqu'à pH acide. MeOH est chassé par distillation sous pression réduite. La solution alcalinisée par NH₄OH est extraite par CHCl₃ (3 \times 25 ml) et le solvant est chassé par distillation laissant 7,5 mg de résidu. Ce produit est recristallisé selon le protocole utilisé pour l'alcaloïde B. Le rendement est très faible. Produit brun. P.F.: > 300°. Spectre de masse identique à celui de l'angustoline le spectre IR comparé à celui de B est proche mais des différences apparaissent dans les zones de 1200 à 800 cm^{-1} .

Synthèse de la nauclefine. Le procédé utilisé pour la synthèse de l'harmaline a déjà été décrit [4]; toutefois la purification finale a été obtenue par cristallisation dans CH₂Cl₂ ce qui élève le rendement par rapport à celui indiqué précédemment par sublimation (Rdt 78%). 4,7 g d'harmaline cristallisé sont

obtenus à partir de 6,5 g de tryptamine base. Le chlorure de l'acide nicotinique est obtenu par réaction de l'acide nicotinique (5 g) avec SOCl₂ (30 ml) dans CHCl₃ (20 ml), à la température de l'ébullition (4 h). L'excès de SOCl₂ est chassé par évaporation en présence de CHCl₃. L'harmaline (1,6 g) dissous dans CHCl₃ (50 ml) est additionné du chlorure d'acide nicotinique (5 g) mis en suspension dans CHCl₃. Après 12 hr de contact sous agitation, la solution est neutralisée avec une solution aqueuse de NaHCO₃ à 10 p 100 puis lavée à l'eau; Elle est deshydratée par addition de Na₂ SO₄ et le solvant est chassé par distillation laissant un produit huileux. Celui-ci est purifié par chromatographie sur colonne d'alumine. Les fractions éluées par Et₂O–MeOH (19:1) fournissent 150 mg d'un produit cristallisant dans le MeOH. Les caractéristiques PF, UV, IR, RMN, sont identiques à celles du produit C, nauclefine naturelle.

Remerciements—Il nous est agréable de remercier ici M. J. Kharro, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar ainsi que MM. A. Bognounou et E. Randrianjohany de leur aide si précieuse pour la récolte et l'acquisition des matières premières. Nous remercions aussi le Professeur E. J. Shellard de l'envoi d'un échantillon d'angustine et d'angustoline

BIBLIOGRAPHIE

1. Murray, D. G., Szakolcai, A. et McLean, S. (1972) *Can. J. Chem.* **50**, 1486.
2. Au, T. Y., Cheung, H. T. et Sternhell, S. (1973) *J.C.S. Perkin Trans I*, **1**, 13.
3. Ninomiya, I., Takasugi, H. et Naito T. (1973) *J.C.S. Chem. Commun.* **19**, 732.
4. Spath, E. et Lederer, E. (1930) *Chem. Ber.* **63**, 120.