

ALCALOÏDES MONO-INDOLIQUES DE *CATHARANTHUS OVALIS**

NICOLE LANGLOIS, LUC DIATTA et RATREMANIAINA Z. ANDRIAMALISOA

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

(Reçu le 10 juillet 1978)

Key Word Index—*Catharanthus ovalis*; Apocynaceae; alstonine; vindorosine; pericalline ((-)-apparicine); caberine; epi-16 pleiocarpamine.

Abstract—Twenty four monoindolic alkaloids have been isolated and identified from aerial parts of *Catharanthus ovalis*. Twelve of them had not previously been isolated from a *Catharanthus* species.

Depuis une vingtaine d'années, le genre *Catharanthus* a fait l'objet de nombreux travaux chimiques, à cause de la diversité et de l'intérêt des alcaloïdes qu'il renferme et, en particulier, de la grande activité antitumorale présentée par certains d'entre eux [1]. La description des sept espèces malgaches de ce genre a été revue et complétée par Markgraf [2] et Veyret en a entrepris l'étude biosystématique [3].

Le *Catharanthus ovalis* Mg. est un sous-arbrisseau de 40 cm environ, qui se distingue nettement, par ses tiges à section carrée, des espèces *C. roseus* et *C. longifolius*. Il comprend deux sous-espèces; la sous-espèce *grandiflorus* qui a parfois été confondue avec l'espèce *C. trichophyllus* et la sous-espèce *ovalis*, endémique de la partie sud-orientale des hauts-plateaux malgaches (entre 22 et 24° de latitude sud), qui fait l'objet de cette étude chimique. La plante étudiée a été récoltée dans la région du Betsileo.

La technique d'extraction utilisée (voir Partie expérimentale) dérive de celles mises au point par Svoboda *et al.*

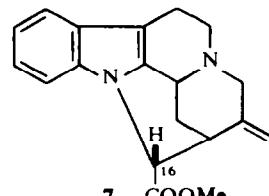
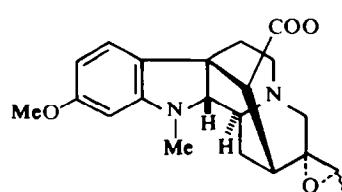
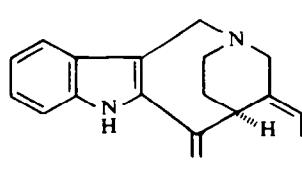
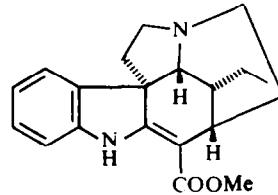
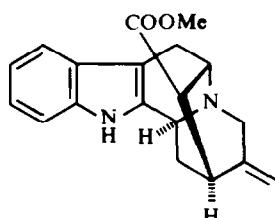
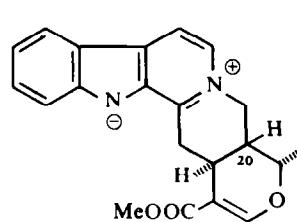
* Plantes malgaches XX, Partie XIX: Etude chimiotaxonomique de deux espèces nouvelles de *Hazunta*, Bui, A.-M., Potier, P. (1979) *Phytochemistry* à paraître.

Tableau 1. Fractionnement sur gel de Sèphadex LH20

Lots* (g)	d'Alcaloïdes bis-indoliques	Fractions (g) Intermediaires	d'Alcaloïdes mono-indoliques
A (12.3)	A ₁ (0.82)	A ₂ (4.94)	A ₃ (5.84)
B ₁ (56.0)	B ₁ -1 (17.5)	B ₁ -2 (10.2)	B ₁ -3 (28.0)
B ₂ (55.5)	B ₂ -1 (12.7)	B ₂ -2 (13.2)	B ₂ -3 (25.0)
B ₃ (66.1)	B ₃ -1 (14.1)	B ₃ -2 (7.8)	B ₃ -3 (41.7)
B ₄ (26.5)	B ₄ -1 (6.7)	B ₄ -2 (4.0)	B ₄ -3 (14.9)
B ₅ (70.0)	B ₅ -1 (24.8)	B ₅ -2 (12.8)	B ₅ -3 (31.9)
C (31.8)	C ₁ (15.8)	C ₂ (5.2)	C ₃ (7.2)

* Voir Partie expérimentale.

[4]: l'extraction des bases faibles par de l'éther de pétrole fournit le lot A. L'extraction à 20° par du méthanol en présence d'acide tartrique à 2% donne une fraction directement soumise à une séparation par gradient de pH [1, 4, 5], ce qui fournit les lots B₁ à B₅ et le lot D, représentant les composés ammoniums quaternaires extraits sous forme de tosylates [6, 7]. Après alcalinisa-



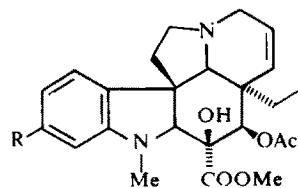
tion de la plante épuisée, l'extraction par du méthanol fournit le lot C. Le rendement en bases tertiaires est d'environ 5.2 g/kg.

Un fractionnement grossier des alcaloïdes en fonction de leurs masses moléculaires, par filtration sur gel de Sephadex LH20 [8, 9], permet de séparer les alcaloïdes 'mono-indoliques' des alcaloïdes 'bis-indoliques' (Tableau 1).

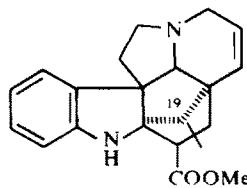
L'utilisation successive de chromatographies sur colonne de silice sous moyenne pression (qui ont récemment remplacé les chromatographies classiques sur colonne d'alumine et de silice) et de chromatographies sur couches épaisses, a conduit jusqu'à présent à l'isolement et la caractérisation de vingt-quatre alcaloïdes mono-indoliques et dix alcaloïdes bis-indoliques dans les fractions étudiées.

Parmi les composés mono-indoliques représentant les trois types principaux, dix-neuf alcaloïdes étaient déjà décrits. Sept appartiennent au type Corynanthe et dérivés: la serpentine 1 [10] et l'alstonine 2 (constituants majoritaires du lot D), la péricyclivine 3, la (+)-tubotaïwine 4

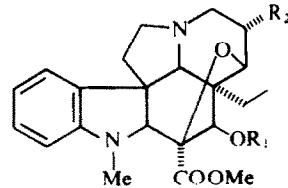
L'hydroxy-15 kopsinine 17 a déjà été signalée dans le *C. longifolius* [9], mais la vénalstonine 15 et la vénalstonidine 16 n'avaient jamais été rencontrées dans le genre *Catharanthus* avant leur isolement en 1972 [10]. Récemment, la présence de vénalstonine a été mentionnée dans les racines de *C. roseus* cultivé à Cuba [22]. Les hydroxy-19R et 19S tabersonines 18 et 19 ont été isolées en faibles quantités; leur hémisynthèse a part de la vindolinine 10 [23] a permis d'en établir sans ambiguïté la configuration au niveau du carbone 19 [12] par la méthode d'Horeau [24]; un des épimères (19S) a été caractérisé récemment parmi les constituants des racines de *C. lanceus* [25]. La structure attribuée à la cathovalinine 20, isomère nouveau de l'hoerhammericine [26], a été précisée par l'analyse aux RX effectuée par Chiaroni et Riche [27]. La structure de deux composés nouveaux appelés kitramine (19R) 21 et kitraline (19S) 22 a été confirmée par corrélation chimique, respectivement avec les alcaloïdes 18 et 19 [12, 23]; il est d'ailleurs possible qu'il s'agisse d'artefacts formés au cours de l'extraction de la plante.



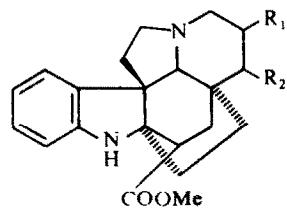
8 R = OMe
9 R = H



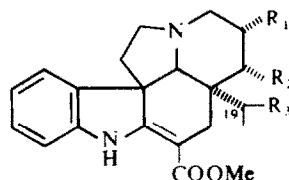
10
11 épi-19 10



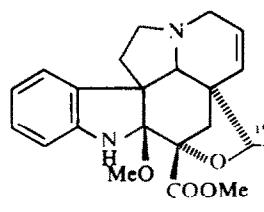
12 R₁ = Ac; R₂ = H
13 R₁ = R₂ = H
14 R₁ = Ac; R₂ = OH



15 R₁ - R₂ = Δ
16 R₁ - R₂ = -O-
17 R₁ = H; R₂ = OH



18 R₁ - R₂ = Δ; R₃ = OH (19R)
19 R₁ - R₂ = Δ; R₃ = OH (19S)
20 R₁ - R₂ = -O-, R₃ = OH (19S)

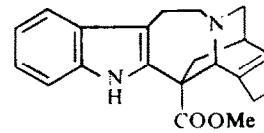


21 (19R)
22 (19S)

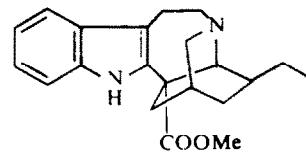
[11], la péricalline ou (-)-apparicine 5 [12] connue pour ses propriétés antivirales [1, 13], la cabérine 6 [14] et l'épi-16 pleiocarpamine 7 [15]; les trois derniers sont isolés pour la première fois dans une espèce du genre *Catharanthus*.

Le type Apisodispermane est le mieux représenté: la vindoline 8 et la vindorosine 9 sont propres au genre *Catharanthus*. L'épi-19 vindolinine 11 accompagne souvent la vindolinine 10, un des alcaloïdes majoritaires du *C. ovalis*; dans la fraction B₂₋₃, elle a pu en être séparée par chromatographie sous moyenne pression. La structure épi-19 vindolinine qui lui a été attribuée d'après l'analyse spectrale [16, 17] a été confirmée récemment par analyse aux RX d'un dérivé [18]. La cathovaline 12, rencontrée pour la première fois dans cette espèce [19], a été isolée aussi des espèces *C. lanceus* [20] et *C. longifolius* [9]; dans le *C. ovalis*, on trouve également deux nouveaux dérivés: la désacétylcathovaline 13 [11] et l'hydroxy-14 cathovaline 14 [11, 21].

Deux alcaloïdes pentacycliques représentent le type Ibogane: la catharanthine 23, propre au genre *Catharanthus*, et la (-)-coronaridine 24 [19], qui appartient à la série antipode [28]. Il est intéressant de souligner la présence de ces deux alcaloïdes dans la même plante.



23



24

Comme ceux des autres espèces du genre *Catharanthus*, les extraits alcaloïdiques du *C. ovalis* se caractérisent par la complexité de leur composition. Bien que certaines fractions n'aient pas encore pu être examinées, la diversité des alcaloïdes mono-indoliques déjà rencontrés

montre que l'espèce *ovalis* est au moins aussi riche que les espèces étudiées antérieurement. L'isolement et la caractérisation des alcaloïdes bis-indoliques feront l'objet d'une publication ultérieure.

PARTIE EXPERIMENTALE

Les points de fusion ont été pris sur bloc Kofler et ont été corrigés. Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés au moyen d'un polarimètre électronique Perkin-Elmer type 141MC. Les spectres de RMN du ¹H (CDCl_3) ont été effectués à 60 MHz sur appareil Varian T60 ou Perkin-Elmer R12A, à 240 MHz sur le prototype IEF 240 MHz fonctionnant en transformée de Fourier à l'Institut d'Electronique d'Orsay [29]. Les courbes de DC ont été enregistrées sur un dichrographe Roussel-Jouan type dichrographe II CD 185.

Les chromatographies sur colonne ont été réalisées sur alumine désactivée [5] ou Merck standardisée, d'activité II-IIII ou sur silice Kieselgel-Merck 60 (0.063-0.200 mm). Les chromatographies liquides sous moyenne pression ont été effectuées sur appareil Jobin-Yvon Chromatospac Prep 100.

Les chromatographies analytiques sur couche mince ont été effectuées sur silice Kieselgel GF 254 + 366 imprégnée ou non de soude à 5% ou sur alumine désactivée et les chromatographies préparatives sur couches épaisses (CCE) avec les mêmes adsorbants. Les révélations ont été faites principalement au réactif CAS [30] ou au réactif Dragendorff ou aux vapeurs d'iode. Les proportions de solvants constituant les systèmes d'élution sont indiquées en volume.

Sauf indications spéciales, les solutions d'alcaloïdes dans les solvants organiques sont manipulées à une température inférieure ou égale à 50°.

Extraction du Catharanthus ovalis Mg. Les parties aériennes de *Catharanthus ovalis* séchées et pulvérisées (70 kg*) sont soumises à deux macérations successives avec de l'éther de pétrole (500 l. puis 400 l.), dans un turboextracteur type 'Tournaire', sous agitation pendant 2 hr. Le solvant enrichi concentré à 16 l. ($t \leq 40^\circ$) est extrait par HCl à 10%, jusqu'à test de Mayer négatif. Les solution aqueuses réunies sont lavées 3 x par de l'éther de pétrole, puis alcalinisées par NH_4OH à 30%, avant d'être extraites par de l'éther jusqu'à test de Mayer négatif. La solution étherée après traitements classiques (lavage à H_2O , séchage sur Na_2SO_4 et évaporation à sec sous pression réduite à $t \leq 50^\circ$) fournit le lot A: 12.7 g.

Après séchage, la plante est imprégnée par une solution aqueuse d'acide tartrique à 2% (0.65 l./kg de plante) et soumise à 5 macérations successives, sous agitation pendant 2 hr environ, avec du CH_3OH (2 x 560 l. puis 3 x 500 l.). A la solution méthanolique concentrée à 90 l. ($t \leq 40^\circ$), on ajoute 70 l. d'acide citrique 0.1 M et on élimine la totalité du CH_3OH sous pression réduite. La solution aqueuse dont le volume est porté à 70 l. par addition d'eau distillée est filtrée sur céléite. La solution claire, dont le pH est ajusté à 3 avec de l'acide citrique aqueux, est extraite 3 x par C_6H_6 (30 l. et 2 x 15 l.). Les phases organiques, après traitements habituels, fournissent le lot B₁: 56.4 g.

La phase aqueuse est amenée successivement à pH 4.5-6.5 et 8.5 (par $\text{NH}_4\text{OH}-\text{H}_2\text{O}$, 1:3) et extraite de la même manière pour chacune de ces valeurs, ce qui donne respectivement les lots B₂: 57.4 g; B₃: 66.6 g et B₄: 26.7 g.

La phase aqueuse alcalinisée à pH 9.5 ($\text{NH}_4\text{OH}-\text{H}_2\text{O}$: 1:3) est ensuite extraite par CHCl_3 pour obtenir le lot B₅: 70.0 g. A l'eau alcaline on ajoute 2 kg d'acide para-toluène sulfonique et le pH est ajusté à 2 par addition de SO_4H_2 concentré. L'extraction par CHCl_3 conduit au lot D: 58.3 g.

La plante est ensuite soumise, après addition de 9 l. de NH_4OH à 30% à 4 macérations successives sous agitation avec du CH_3OH (4 x 500 l.) Aux solutions méthanoliques concentrées à 20 l., on ajoute 30 l. d'acide citrique 0.1 M et on élimine la totalité du

CH_3OH sous pression réduite. Après filtration, la phase acide est alcalinisée (NH_4OH) et les bases fortes extraites par CHCl_3 forment le lot C: 32.6 g.

Séparations.

Filtration sur gel de Séphadex LH 20. Les lots obtenus précédemment (à l'exception du lot D) sont solubilisés dans le mélange $\text{CHCl}_3-\text{CH}_3\text{OH}$, 3:7 et filtrés sur une colonne de gel de Séphadex LH 20 ($\phi = 60$ mm et $H = 2,3$ m). Les fractions de 75 cm³ sont réunies en fonction de leur similitude en CCM. On obtient ainsi pour chaque lot (voir Tableau 1): une fraction (1) d'alcaloïdes 'bis-indoliques'; une fraction (2) contenant des alcaloïdes 'bis-indoliques' et 'mono-indoliques' qui peuvent éventuellement être séparés par une nouvelle filtration sur gel; une fraction (3) d'alcaloïdes 'mono-indoliques'.

La fraction B₁-2 est reflitrée sur colonne de Séphadex LH 20 dans des conditions analogues et séparée en alcaloïdes 'bis-indoliques' (1.9 g joints à la fraction B₁-1) et alcaloïdes 'mono-indoliques' (8.2 g joints à la fraction B₁-3).

Séparations chromatographiques. B₁-3. Les constituants d'une partie (0.52 g) de la fraction B₁-3 sont séparés par CCE de silice (éluant (C_2H_5)₂O: 3 migrations de 20 cm); on obtient ainsi, par ordre de polarité croissante: 60 mg d'un indole de même polarité en CCM que la coronaridine 24; 54 mg d'un mélange complexe; 20.3 mg d'un mélange de vindoline 8 et de vindorosine 9 (séparées par CCE de silice (éluant CHCl_3 : 2 migrations de 20 cm, ce qui donne 7 mg de vindorosine 9; 30.2 mg de vindoline 8. Fraction B₂-3. Cette fraction est soumise à une chromatographie sous pression (10 bars) sur une colonne de 1.5 kg de silice (Merck) pour CCM type H 60, avec, comme éluant, le mélange $\text{CHCl}_3-\text{CH}_3\text{OH}$ (96:3). On recueille 440 fractions de 25 cm³ (débit 40 cm³/min), ce qui permet une séparation grossière, mais tout de même efficace, résumée dans le Tableau 2.

La coronaridine 24 est cristallisée de la fraction II sous forme de chlorhydrate (1.4 g). 600 mg de la fraction XI sont chromatographiés sur CCE de silice (éluant: (C_2H_5)₂O-C₆H₁₄- CH_3OH , 75:22:3, cuve saturée de NH_3 ; 2 migrations de 18 cm); on isole ainsi 77 mg de cathovaline 12 et 44 mg de vindolinine 10.

1 g de la fraction XII est chromatographié sur CCE de silice (éluant: (C_2H_5)₂O-C₆H₁₄- CH_3OH , 72:22:3, cuve saturée de NH_3). On isole ainsi 140 mg de péricyclivine 3 et 70 mg d'un mélange qui, séparé sur CCE de silice (éluant: (C_2H_5)₂O-C₆H₁₄- CH_3OH , 72:22:3), fournit 11 mg d'épi-16 pleiocarpamine 7, 12 mg de péricalline 5 et 18 mg de cabérine 6. Les composés 3, 5 et 6 ont été comparés directement à des échantillons authentiques. Le composé 7 a été identifié par comparaison de ses données spectrales avec celles de la littérature [15]. Fraction B₃-3. Les alcaloïdes 'monomères' extraits à pH 6.5 sont séparés grossièrement par chromatographie sur colonne de 1.45 kg d'alumine.

Tableau 2. Fractionnement de B₂-3

Fractions	Poids (g)	Composition
I	16-26	0.16
II	27-44	Coronaridine 24
III	45-50	0.85
IV	51-61	Vindoline 8, vindorosine 9
V	62-65	1.33
VI	66-76	4.55
VII	77-87	6.56
VIII	88-96	1.67
IX	97-105	0.87
X	106-116	Cathovaline 12
XI	117-128	Vindolinine 10
XII	129-150	Cathovaline 12
XIII	151-191	Péricyclivine 3, épi-16 Pleiocarpamine 7 Cabérine 6 et pericalline 5
XIV	192-440	2.0

* Traités en deux opérations.

Tableau 3. Fractionnement de B₃-3.

Fraction	Eluant	Poids (g)
I	C ₆ H ₆	10.50
II	C ₆ H ₆ -CHCl ₃ , 8:2	0.43
III	C ₆ H ₆ -CHCl ₃ , 6:4	
	C ₆ H ₆ -CHCl ₃ , 1:1	3.49
IV	C ₆ H ₆ -CHCl ₃ , 1:1	6.05
V	C ₆ H ₆ CHCl ₃ , 1:1	0.39
VI	C ₆ H ₆ -CHCl ₃ , 1:1	
	C ₆ H ₆ -CHCl ₃ , 3:7	0.75
VII	C ₆ H ₆ -CHCl ₃ , 2:8	0.78
VIII	CHCl ₃	
	CHCl ₃ -CH ₃ OH, 99:1	0.83
IX	CHCl ₃ -CH ₃ OH, 98:2	
	CHCl ₃ -CH ₃ OH, 97:3	4.78
X	CHCl ₃ -CH ₃ OH, 96:5	
	CHCl ₃ -CH ₃ OH, 85:15	2.61

La fraction I est chromatographiée sur une colonne de 210 g de silice Merck (70-230 Mesh). L'élution par CHCl₃ donne 2.54 g d'un mélange qui fournit, après CCE de silice (éluant: C₆H₆-(C₂H₅)₂O, 1:1, 2 migrations de 20 cm): (a) 420 mg de mélange dont les principaux constituants (kitramine 29 et kitraline 21) sont séparés par CCE de silice (éluant CH₃COOC₂H₅): 106 mg, et 60 mg; (b) 90 mg de produit qui cristallise (éthanol) pour donner 25 mg de vénalstonine 15; (c) 200 mg d'un mélange qui donne, après CCE de silice (éluant: (C₂H₅)₂O, cuve saturée de NH₃): 103 mg de composé identifié à la vénalstonidine 16; (d) 306 mg de produit dont la purification fournit 155 mg de catharanthine 23.

L'élution par les mélanges CHCl₃-CH₃OH (98:2 et 97:3) conduit à 1.15 g de vindolinine 10 identifiée à un échantillon authentique et 4.36 g de mélange de vindolinine 10 et d'épi-19 vindolinine 11. L'élution par un mélange CHCl₃-CH₃OH (95:5) fournit 296 mg de péricalline 5 impure qui est cristallisée dans l'éther.

La fraction II contient essentiellement un mélange de vindolinine 10 et d'épi-19 vindolinine 11. Ces deux composés (1.01 g) sont séparés par chromatographie sous pression sur une colonne de 1.2 kg de silice type 60 pour CCM (Merck) (éluant: (C₂H₅)₂O-C₆H₁₄-CH₃OH, 75:20:5).

La fraction III est chromatographiée sur une colonne de 70 g de silice Merck (60-230 Mesh): L'élution par un mélange CHCl₃-CH₃OH (98:2) donne 2.33 g de produit qui, par cristallisation dans C₆H₁₂, fournit 1.28 g de cathovaline 12; L'élution par le mélange CHCl₃-CH₃OH (95:5) fournit 205 mg de produit purifié par CCE de silice (éluant: (C₂H₅)₂O-C₆H₁₄-CH₃OH, 80:15:5, 3 migrations de 20 cm) et identifié à la (+) tubotaiwine 4 (120 mg).

La fraction IV est chromatographiée sur une colonne de 120 g de silice: L'élution par un mélange CHCl₃-CH₃OH (98:2) permet d'obtenir: (a) 0.64 g d'un mélange dont seul le constituant majoritaire (59 mg) a pu être isolé par CCE de silice (éluant: (C₂H₅)₂O, cuve saturée de NH₃). Ce composé est nommé cathovalinine 20, et cristallise dans C₆H₆ [27]; (b) 1.60 g de produits dont la purification par CCE de silice (éluant: CH₃COOC₂H₅-C₆H₁₄, 1:1) fournit 60 mg du mélange des hydroxy-19 tabersonines, séparées par CCE de silice (éluant: CH₃COOC₂H₅-C₆H₁₄-CH₃OH, 1:1:0.1); hydroxy-19R tabersonine 18 (16 mg), bleu au réactif CAS; hydroxy-19S tabersonine 19 (10 mg) violet au réactif CAS. (c) 0.42 g de cathovaline 12 impure.

L'élution par un mélange CHCl₃-CH₃OH (97:3) fournit une fraction de 0.79 g dont les constituants majoritaires (cathovaline 12 et péricyclivine 3) sont séparés par CCE de silice (éluant: (C₂H₅)₂O-CH₃OH, 98:2; cuve saturée de NH₃): cathovaline 12 impure; péricyclivine 3 (240 mg) cristallisée dans CH₃OH.

Le mélange CHCl₃-CH₃OH (96:4) élue une fraction (0.50 g)

dont on isole la désacétyl-cathovaline 13 après purification par CCE de silice (éluant: CHCl₃-CH₃OH, 94:6, 2 migrations de 20 cm).

La fraction VIII contient un produit majoritaire qui présente la même coloration au réactif cérique que la cathovaline 12. Après filtration rapide sur colonne de silice Merck (70-230 Mesh, éluant: CHCl₃-CH₃OH, 90:10) et purification par CCE de silice (éluant: CHCl₃-CH₃OH, 90:10). On obtient 170 mg d'hydroxy-14 cathovaline 14 purifiée par cristallisation dans un mélange CH₃COCH₃-(C₂H₅)₂O.

Fraction B₄-3. Cette fraction est chromatographiée sur colonne de 500 g d'alumine désactivée [5]. Après élution, par du benzène, d'un mélange (1.65 g) de vindolinine 10 (cristallisée sous forme de chlorhydrate (1.1 g) et de son épimère 11, l'élution par du chloroforme donne un mélange (1.33 g) qui est séparé par CCE de silice (éluant: CH₃COOC₂H₅-C₂H₅OH, 3:1). On obtient ainsi 82 mg d'hydroxy-14 cathovaline 14 et 23 mg d'hydroxy-15 kopsinine 17, identifiée par comparaison de ses constantes physiques et de ses données spectrales avec celles de la littérature [31].

Lot D. Ce lot contient essentiellement de la serpentine 1 et l'alstonine 2 identifiées par leurs produits respectifs de réduction par NaBH₄, l'ajmalicine et la tétrahydro-alstonine: 200 mg de ce lot sont réduits par un excès de NaBH₄ dans CH₃OH à température ordinaire, pendant 15 min. Après les traitements habituels on isole 150 mg de résidu qui, par séparation de CCE de silice (éluant: CHCl₃-CH₃OH, 98:2), fournit 90 mg d'ajmalicine et 30 mg de tétrahydro-alstonine identifiées par comparaison de leurs spectres et constantes physiques à ceux déjà décrits [32] (F, [α]_D, IR, UV, RMN du ¹H), et comparaison avec des échantillons authentiques.

Remerciements.—Nous remercions tout particulièrement Mr. P. Potier, Directeur de l'I.C.S.N., de nous avoir confié le sujet de ce travail et conseillé tout au long de sa réalisation. Nous remercions également Mr. P. Boiteau, pour la récolte et les déterminations botaniques. Nous sommes aussi redevables à tout le personnel de l'unité pilote d'extraction de l'I.C.S.N., pour l'extraction de la plante, aux Laboratoires Eli Lilly (Indianapolis), en particulier au Dr. N. Neuss, à MM. les Professeurs J. Le Men (Reims) et J. Poisson (Chatenay-Malabry) et aux Drs. N. R. Farnsworth, G. A. Cordell (Chicago) et C. Kan (I.C.S.N.), pour la fourniture d'échantillons de référence.

REFERENCES

1. Taylor, W. I. and Farnsworth, N. R. (1975) *The Catharanthus Alkaloids*, Marcel Dekker, New York.
2. (a) Markgraf, F. (1970) *Adansonia* 2, 10; (b) Markgraf, F. (1976) *Flore de Madagascar et des Comores*, 169 ème famille Apocynaceae.
3. Veyret, Y. (1974) *Candollea* 29, 297.
4. Svoboda, G. H., Neuss, N. et Gorman, M. (1959) *J. Am. Assoc. Sci. Ed.*, 48, 659.
5. Loub, W. D., Farnsworth, N. R., Blomster, R. N. et Brown W. W. (1964) *Lloydia* 27, 470.
6. Garcia, L. M., Jewers, K., Manchanda, A., Martinod, P., Nabney, J. et Robinson, F. V. (1970) *Phytochemistry* 9, 663.
7. Besseliere, R., travaux non publiés.
8. Thomas, D. W. et Biemann, K. (1968) *Lloydia* 31, 1.
9. Rasoanaivo, P. (1974) Thèse de Doctorat ès Sciences, Orsay.
10. Langlois, N. et Potier, P. (1972) *Phytochemistry* 11, 2617.
11. Diatta, L., Langlois, Y., Langlois, N. et Potier, P. (1975) *Bull. Soc. Chim.* 671.
12. Andriamalisoa, R. Z. (1978) Thèse de Doctorat ès Sciences, Orsay.
13. Farnsworth, N. R., Svoboda, G. H. et Blomster, R. N. (1968) *J. Pharm. Sci.* 57, 2174.
14. (a) Douzoua, L., Mansour, M., Debray, M. M., Le Men-Olivier, L. et Le Men, J. (1974) *Phytochemistry* 13, 1994;

- (b) Titeux, F., Mansour, M., Debray, M. M., Le-Men-Olivier, L. et Le Men, J. (1974) *Phytochemistry* **13**, 1620.
15. Leuzinger, F., Hesse, M. et Schmid, H. (1968) *Helv. Chim. Acta* **51**, 1641.
16. Mehri, H., Koch, M., Plat, M. et Potier, P. (1972) *Ann. Pharm. Fr.* **30**, 643.
17. Rasoanaivo, P., Langlois, N. et Potier, P. (1974) *Tetrahedron Letters* 3669.
18. Chiaroni, A., Langlois, N. et Riche, C. (1977) *Acta Cryst. B* **33**, 3410.
19. Langlois, N. et Potier, P. (1971) *C.R. Acad. Sci. Ser. C* **273**, 994.
20. (a) Aynilian, G. H., Farnsworth, N. R., Lyon, R. L. et Fong, H. H. S. (1972) *J. Pharm. Sci.* **61**, 298; (b) Aynilian, G. H., Tin-Wa, M., Farnsworth, N. R. et Gorman, M. (1972) *Tetrahedron Letters* 89; (c) Aynilian, G. H., Robinson, B., Farnsworth, N. R. et Gorman, N. (1972) *Tetrahedron Letters* 391.
21. (a) Langlois, N. et Potier, P. (1972) *C.R. Acad. Sci. Ser. C* **275**, 219; (b) Langlois, N. et Potier, P. (1978) *Bull. Soc. Chim.* **11**, 144.
22. Cuellar, A. et O'Farill, T. H. (1976) *Rev. Cubana Farm.* **10**, 33; (1977) *Chem. Abstr.* **86**, 185876g.
23. Andriamialisoa, R. Z., Langlois, N. et Potier, P. (1975) *Tetrahedron Letters* 163.
24. Horeau, A. (1977) *Determination of Configurations by Chemical Methods; Horeau's Method, Stereochemistry Fundamentals and Methods* (Kagan, H. B., ed.) G. Thieme.
25. Gabetta, B., Martinelli, E. M. et Mustich, G. (1976) *Fitoterapia* **47**, 6.
26. (a) Farnsworth, N. R., Blomster, R. N. et Buckley, J. P. (1967) *J. Pharm. Sci.* **56**, 23; (b) Blomster, R. N., Farnsworth, R. N. et Abraham, D. J. (1968) *Naturwissenschaften* **55**, 298; (c) Abraham, D. J., Farnsworth, N. R., Loub, W. D. et Blomster, R. N. (1969) *J. Org. Chem.* **34**, 1575.
27. Chiaroni, A., Riche, C., Diatta, L., Andriamialisoa, R. Z., Langlois, N. et Potier, P. (1976) *Tetrahedron* **32**, 1899.
28. Blaha, K., Kobilcova, Z. et Trojanek J. (1974) *Coll. Czech. Chem. Commun.* **39**, 2258.
29. Kan, S. K., Gonord, P., Duret, C., Salset, J. et Vibet, C. (1973) *Rev. Sci. Instrum.* **44**, 1725.
30. Farnsworth, N. R., Blomster, R. N., Damratoski, D., Meer, W. A. et Cammarato, L. V. (1964) *Lloydia* **27**, 302.
31. Linde, H. H. A. (1970) *Pharm. Acta Helv.* **45**, 248.
32. Gabetta, B. et Mustich, G. (1975) *Spectral Data of Indole Alkaloids*. Inverni della Beffa, Milan.