

REARRANGEMENT DE LA (-) TABERSONINE EN MILIEU ACETIQUE*

M. MUQUET, N. KUNESCH et J. POISSON

Laboratoire de Pharmacie Galénique de la Faculté de Pharmacie de Paris et U.E.R. de
Chimie Thérapeutique de l'Université de Paris-Sud†

(Received in France 5 July; Received in the UK for publication 2 September 1971)

Résumé—Le chauffage de la (-) tabersonine dans l'acide acétique donne naissance à plusieurs produits de réarrangement optiquement actifs dont le principal est l'allocatharanthine. Simultanément apparaissent des dérivés réduits et deshydrogénés dus à une dismutation. L'étude systématique des paramètres de la réaction permet de postuler un mécanisme faisant appel à un réarrangement sigmatropique et à un transfert d'ion hydrure.

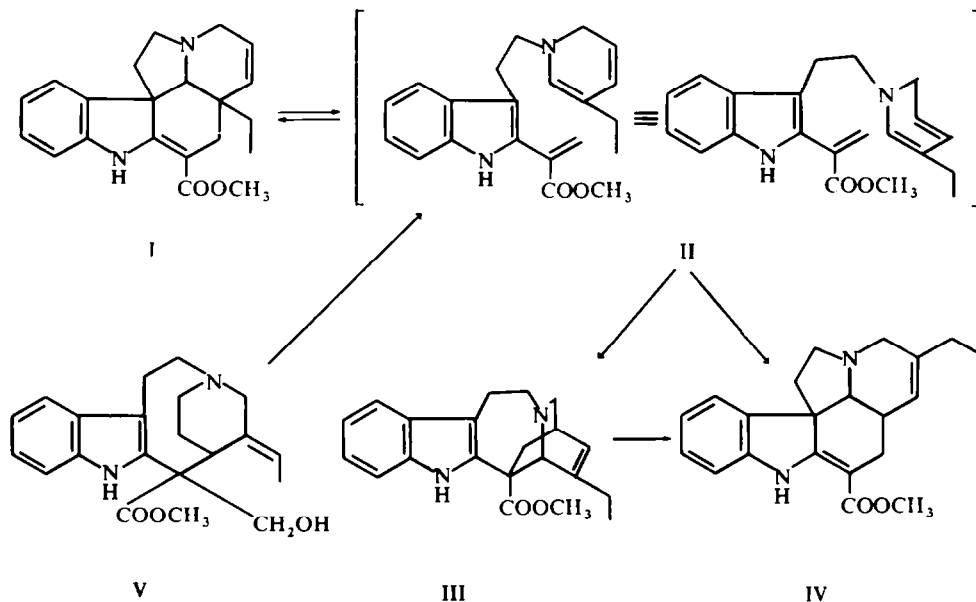
Abstract—Heating of (-) tabersonine in acetic acid gives several optically active rearrangement products, the main one being "allocatharanthine", along with reduced and dehydrogenated disproportionation derivatives. A systematic study of reaction parameters gives an approach to a mechanism which involves a sigmatropic effect and the transfer of hydride ion.

LA (-) TABERSONINE est un alcaloïde isolé de diverses Apocynacées Tabernaemontanoïdées¹ dont la structure I a été établie il y a une dizaine d'années.² L'intérêt s'est porté sur elle récemment à la suite des spéculations de Wenkert sur la biogenèse des alcaloïdes indoliques³ qui lui donnent une place privilégiée dans la séquence des intermédiaires aboutissant aux diverses classes de ces produits. En particulier, elle se trouverait à un carrefour d'où partent les voies aboutissant aux bases des types "Aspidosperma" et "Iboga". Des tentatives de vérification expérimentale de ces hypothèses ont été faites par Scott^{4,5} et Kutney.⁶ Le premier auteur a tenté de prouver que le passage du squelette pentacyclique de la tabersonine I à l'enchaînement quinuclidyl-indolique du type "ibogamine" III se faisait *via* un intermédiaire ouvert II et a rapporté deux séries d'expériences à l'appui. D'une part, l'ordre d'apparition des alcaloïdes dans des plantules de *Vinca rosea* au moment de la germination place la tabersonine avant la catharanthine III,⁴ et surtout le chauffage *in vitro* de la (-) tabersonine en milieu acétique conduit à cette même catharanthine III associée à la pseudo-catharanthine IV, toutes deux sous forme racémique. Le même traitement, appliqué à la (+) stemmadénine V conduit à la tabersonine I, à la catharanthine III et à la pseudocatharanthine IV, également racémiques.⁵

Nous avons voulu examiner cette intéressante réaction mais il ne nous a pas été possible de la reproduire, même en suivant diverses indications fournies par l'auteur. Par contre, plusieurs produits se forment, différents de ceux attendus. Ces résultats, antérieurement communiqués,⁷ sont développés ici avec une tentative d'interprétation.

* Ce travail représente l'essentiel de la Thèse de Doctorat de 3^e Cycle de M. Muquet (Université de Paris-Sud, 1971).

† Adresse : 4, Avenue de l'Observatoire, Paris, 6e.



L'essai principal a consisté en un chauffage à reflux prolongé de la (-) tabersonine dans l'acide acétique pur à 118° pendant 16 hr. Après élimination de l'acide, reprise par l'eau et alcalinisation par l'ammoniaque, on extrait par l'éther un mélange de bases représentant 75% du poids de tabersonine mise en oeuvre. Les alcaloïdes hydrosolubles restants sont récupérés par acidification, précipitation au réactif iodomercurique et transformation du complexe en chlorhydrates par passage sur résine échangeuse d'ions.

Etude des bases étherosolubles

L'analyse par TLC montre la présence de quatre produits au moins, à côté d'une certaine quantité de tabersonine non transformée.

La séparation de ces substances est assez laborieuse et fait appel à une chromatographie sur colonne de silice suivie de chromatographies préparatives sur couche de Kieselgel en utilisant divers couples de solvants.

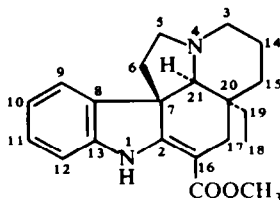
On obtient trois groupes de bases amorphes mais homogènes, dans les proportions approximatives :*

- (1) La (-) tabersonine identique au produit de départ (50%)
- (2) L'alcaloïde D (15%)
- (3) Les alcaloïdes A, B et C (respectivement 15%, 15% et 5%).

Alcaloïde D. Il présente le même spectre UV que la tabersonine, caractéristique d'un chromophore carbométhoxyle conjugué à un groupe méthylidène-indoline. Le spectre de masse indique un poids moléculaire supérieur de 2 unités à celui de la tabersonine, avec un pic important à m/e 124, à rapprocher de celui observé à m/e 122

* Les quantités exactes de chacun des produits n'ont pu être déterminées faute d'une méthode de dosage spécifique.

dans l'alcaloïde de départ et correspondant à la partie "pipéridéine" de la molécule. Ce fait oriente vers une structure de dihydro-14, 15 (-) tabersonine [(–) vincadifformine] VI vérifiée par comparaison avec un échantillon de ce dérivé.



VI

Alcaloïde A. Son spectre UV est typiquement indolique et l'analyse du pic moléculaire dans le spectre de masse en haute-résolution donne une formule en $C_{21}H_{24}O_2N_2$, identique à celle de la tabersonine et de la catharanthine. Ce spectre est par ailleurs très proche de celui de cette dernière et on retrouve la trace d'un groupe carbométhoxyle non conjugué dans les spectres IR et RMN. On notera enfin que la base A est dextrogyre.

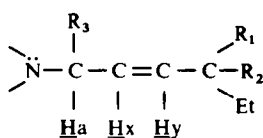
Les possibilités d'isomérisie de cet alcaloïde dénommé "allocatharanthine" sont restreintes si on veut tenir compte de l'analogie des spectres de masse, notamment à l'endroit des pics correspondant au cycle "pipéridéine" provenant de l'ouverture de la partie quinuclidique de la molécule (IX *m/e* 135, 122, 121, 107).⁸

La différenciation peut être faite à l'aide des spectres de RMN qui divergent dans la région comprise entre $\delta 4$ et 7 ppm (Tableau 1).

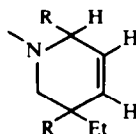
TABLEAU 1. SPECTRES RMN DE LA CATHARANTHINE ET DE L'ALLOCATHARANTHINE (δ ppm)

Catharanthine III		Allocatharanthine X	
1.08 (t, $J_{HH} = 7$ cps)	C—CH ₂ —CH ₃	0.90 (t, $J_{HH} = 7$ cps)	C—CH ₂ —CH ₃
1.88 (m)	C—CH ₂ —CH ₃	1.4 (q, $J_{HH} = 7$ cps)	C—CH ₂ —CH ₃
2.67 (m)	C (14)—H	4.39 (d, $J_{HH} = 6$ cps)	H _a
4.25 (s)	C (21)—H	6.13 (d, $J_{HH} = 8$ cps)	H _x
5.96 (m, $J_{HH} = 7$ cps)	C (15)—H	6.58 (q, $J_{HH} = 6$ et 8 cps)	H _y

Les trois signaux à bas champ évoquent un système AXY insaturé et placé à proximité d'un groupe électro-négatif. Si on tient compte également de la position et de la multiplicité des signaux de la chaîne éthyle en RMN, on peut définir un enchaînement VII lui-même inclus dans le cycle pipéridéine VIII révélé par la spectrométrie de masse.

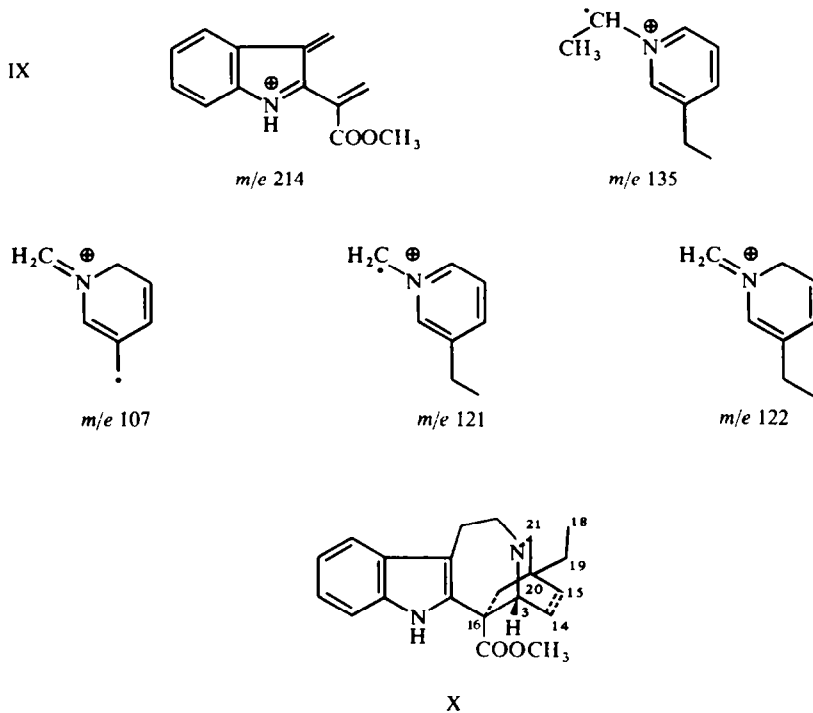


VII



VIII

Comme il a été déjà prouvé que la molécule d'allocatharanthine comportait un enchaînement indolique, ainsi qu'un groupe carbométhoxyle non conjugué et substitué en α du noyau indole [spectres UV, IR et ion m/e 214 IX du spectre de masse],⁸ on est conduit à la formule X parfaitement cohérente avec l'origine du produit.



Cette formule ne diffère finalement de celle de la catharanthine III que par la place de la chaîne éthyle, l'ensemble polycyclique étant identique.

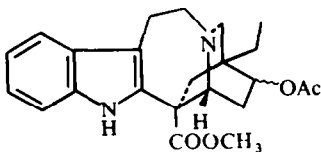
L'allocatharanthine ayant un pouvoir rotatoire de même signe et de valeur voisine de celle de la catharanthine, les configurations absolues des centres chiraux 3, 16 et 20 doivent être identiques à celles des centres correspondants de la catharanthine 21, 16 et 14.*

Alcaloïde B. Le spectre de masse donne un poids moléculaire de 338, supérieur de deux unités à celui de la tabersonine, avec une formule $C_{21}H_{26}O_2N_2$. Les divers spectres orientent vers une structure du type catharanthine et, plus précisément, le spectre de masse est très voisin de celui de l'ibogamine ou dihydro-15, 20 catharanthine.⁸ Le spectre RMN a une allure proche de celui de l'allocatharanthine X sauf dans la région δ 4–6 ppm qui est vide. Le signal du méthyle de la chaîne latérale se trouve d'autre part déplacé à δ 0.75 ppm. Enfin, seuls les pics du spectre de masse correspondant à l'enchaînement "pipéridéine" sont décalés de 2 unités de masse par rapport à ceux du spectre de la catharanthine. D'après ces arguments, on peut attribuer à l'alcaloïde B la structure de la dihydro-14, 15 allocatharanthine XXI

* Les numérotations sont différentes pour les deux composés qui relèvent de deux enchaînements biogénétiques différents, suivant les règles de Le Men et Taylor *Exper.* 21, 508 (1965)

avec une configuration absolue identique à celle de l'allocatharanthine, cette dernière et l'alcaloïde B ayant un pouvoir rotatoire voisin et de même signe. Ceci est confirmé par identification avec le dérivé obtenu par hydrogénation catalytique de l'allocatharanthine.

Alcaloïde C. Sa formule est $C_{23}H_{28}O_4N_2$ ($M = 396$) et son spectre UV indolique. Le spectre de masse présente dans la région des fragments légers une nette analogie avec celui de l'allocatharanthine (ions m/e 135, 122, 121, 107) indiquant la présence d'un même enchaînement "pipéridéine". Sa caractéristique la plus marquante est l'existence d'un groupe acétoxyte révélé par le spectre IR et confirmé par la RMN qui établit son emplacement sur un carbone secondaire (singulet à δ 2.10 ppm et quadruplet du proton géminé à 4.80 ppm). Le spectre de masse confirme sa présence par le doublet ($M^+ - 59$) ($M^+ - 60$) à m/e 337 et 336. Le départ des restes acétiques lors de la fragmentation étant très aisé et donnant des ions insaturés, on peut penser que les ions "pipéridéine" cités ci-dessus proviennent en fait des ions m/e 337 et 336, et que le reste acétique est fixé sur la partie isoquinuclidique de la molécule. Dans ces conditions, l'alcaloïde C aurait la formule XI correspondant à l'addition des éléments de l'acide acétique sur la double liaison de l'allocatharanthine. La place du groupe acétoxyte est fixée sur le C-15 en raison des analogies des spectres RMN de l'alcaloïde C et de l'acétylvoaphyllinol-A XII,⁹ mais la configuration du centre C-15 reste indéterminée.



XI



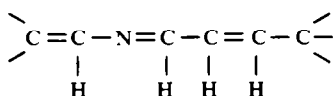
XII

Etude des bases hydrosolubles

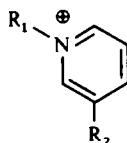
Le fractionnement des chlorures des bases hydrosolubles a été tenté par chromatographie sur une colonne d'alumine neutre désactivée, suivie d'une purification sur plaque épaisse de cellulose. Du produit de départ, constitué par un mélange de plusieurs substances, on a pu isoler un seul produit amorphe, homogène en chromatographie sur couche mince de cellulose et désigné "alcaloïde F".

Le spectre UV présente une bosse à 267 nm, imposée sur un tracé indolique, et peut être considéré comme résultant de la superposition de deux chromophores indole α - β disubstitué et pyridine. Ceci est confirmé par le spectre IR avec les bandes à 1605 cm^{-1} (bande aromatique large complexe), 1500 (pyridine) et 1460 cm^{-1} (indole).

Un examen attentif du spectre de RMN met en évidence une chaîne éthyle, dont le méthylène fournit un signal (δ —CH₂ à 2.47 ppm) nettement décalé par le voisinage d'un système insaturé (ex. méthyl-4 pyridine: δ —Me à 2.80 ppm). On y constate aussi l'absence d'un groupe ester méthylique confirmée par l'infra-rouge. D'autre part, au delà de la zone δ 6.7-7.4 ppm relative aux protons indoliques, existe un système complexe de 4 signaux à δ ppm : 7.65 (quadruplet, $J_{HH} = 5$ et 8 Hz); 8.0 (doublet, $J_{HH} = 8$ Hz); 8.15 (sing.) et 8.5 (doublet, $J_{HH} = 5$ Hz). Cette zone du spectre peut être rapportée à l'enchaînement XIII formant en fait un cycle pyridinium XIV.

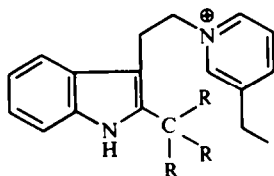


XIII



XIV

Le spectre de masse n'a pu être déterminé correctement étant donné la faible volatilité du produit. Aussi ne peut-on qu'avancer une structure partielle XV, rendant compte des résultats précédents et compatible avec celle de l'allocatharantine X.*



XV

Discussion

La structure des produits du traitement acétique de la tabersonine indique que l'enchaînement fondamental n'est pas modifié mais que seule une des liaisons de pontage entre le cycle indolique et le cycle pipéridine est transposée de 7-21 dans la tabersonine en 3-16 dans l'allocatharantine. La formation de dérivés tertiaires dihydrogénés, d'une part, et de dérivés deshydrogénés quaternaires, d'autre part, fait soupçonner une réaction secondaire de dismutation, le solvant étant neutre du point de vue oxydoréduction. Enfin une autre réaction secondaire conduit à une addition d'acide acétique sur un groupe oléfinique.

La transposition, aussi bien que la dismutation, donnent naissance à des produits optiquement actifs ce qui exclue un intermédiaire *seco*-17, 20 tel que l'avait envisagé Scott qui obtenait par traitement de la tabersonine des bases *racémiques*.⁵

Le rôle des divers paramètres de la réaction a été étudié en faisant varier les conditions opératoires.

* Les autres composés hydrosolubles présents à côté de l'alcaloïde F n'ont pas pu être obtenus à l'état rigoureusement pur, mais leurs spectres UV, IR et RMN les apparentent au produit précédent. En particulier, ils possèdent le même chromophore pyridinium XIV et un groupe COOMe.

Rôle du solvant. L'acide acétique pur cristallisable occupe une position moyenne dans l'échelle de polarité des solvants (constante diélectrique $\epsilon_{25} = 6.19$; $Z = 79.2$; $E_T = 51.9$).¹⁰ On a tenté de reproduire la réaction par chauffage à reflux de la tabersonine dans plusieurs solvants de polarité voisine: chlorure de méthylène ($\epsilon_{25} = 8.9$; $E_T = 41.1$; $Z = 64.2$); THF ($\epsilon_{25} = 7.34$; $E_T = 37.4$); dioxanne ($\epsilon_{25} = 2.21$; $E_T = 37.4$); alcool isoamylique ($\epsilon_{25} = 14.7$) et MeOH ($\epsilon_{25} = 32.6$; $E_T = 55.5$; $Z = 83.6$).^{*} Les résultats ont été négatifs dans tous les cas.

Rôle de l'acidité. On a cherché à remplacer l'acide acétique par des acides carboxyliques voisins, par des acides de Lewis et par des solutions diluées d'acides forts.

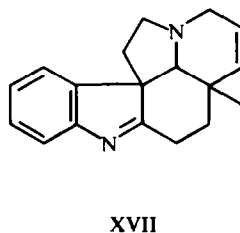
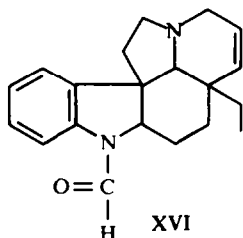
L'acide triméthylacétique (pivalique) et l'acide trifluoracétique conduisent à une décomposition de la tabersonine.

L'acide formique à reflux ($E_{b760} = 100^\circ$) donne plusieurs produits distincts dont le principal a pu être isolé par chromatographie sur gel de silice. Ce dérivé possède un spectre UV du type N-formylindoline (λ_{max} 210, 252, 283 et 290 nm) très proche de celui de la réfractidine.¹¹ Le groupe N-formyle est corroboré par le spectre IR (ν 1672 cm^{-1}) et par le spectre de masse (pic $M^+ - 29$ à m/e 279). Ce dernier montre d'autre part un ion moléculaire à m/e 308 ($C_{20}H_{24}N_2O$) et les pics caractéristiques du noyau "pipéridéine" (m/e 107, 121, 122). On peut donc avancer la formule XVI pour ce dérivé qui résulterait de l'élimination du groupe carbométhoxyle en milieu acide, réaction bien connue avec les alcaloïdes à chromophore carbométhoxyméthylidène-indoline,^{2, 12} puis d'une réduction par l'acide formique de l'indoléine XVII obtenue et enfin d'une formylation sur l'azote indolinique. D'autres transformations se produisent aux dépens de la tabersonine en milieu formique et les produits varient suivant les conditions opératoires.¹³

L'acide acétique dilué avec son volume d'eau ne donne plus la réaction, mais il a été constaté que des traces d'eau dans l'acide pur ne la gênent pas.

Le tétrahydrofuranne et le diglyme à reflux, additionnées d'éthérate de trifluore de bore agissant comme acide de Lewis entraînent des dégradations incontrôlables.

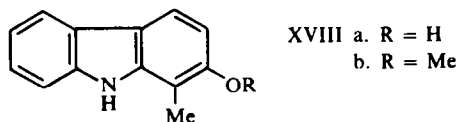
Enfin l'acide chlorhydrique dilué 4-N à 100° et l'acide tosylique dans le benzène bouillant, donnent essentiellement la descarbométhoxytabersonine XVII, indoléine déjà signalée comme intermédiaire dans la réaction en milieu formique.



Rôle de la température. Sur des indications fournies par Scott la réaction a été reprise dans des conditions plus énergiques. Le chauffage dans un bain d'huile à 190° à reflux ne modifie pas les résultats. Par contre, si on maintient la tabersonine

* Bien qu'on ait opéré à des températures supérieures à la normale (points d'ébullition), on a du négliger l'influence de la température sur la constante diélectrique.

pendant 96 h à 190° dans l'acide acétique en tube scellé sous vide on observe une dégradation importante de l'alcaloïde conduisant à la formation de deux dérivés carbazoliques: le méthyl-1 hydroxy-2 carbazole (XVIII a) et le méthyl-1 méthoxy-2 carbazole (XVIII b). Ces produits ont été signalés indépendamment par Scott¹⁴ à côté de l'éthyl-3 pyridine comme se formant lors du traitement de la tabersonine dans le xylène à 205°. Ils résultent d'un profond remaniement de la molécule lié à une réaction de pyrolyse qui rappelle la production d'hydroxy-2 carbazole par chauffage de l'akuammicine.¹⁵

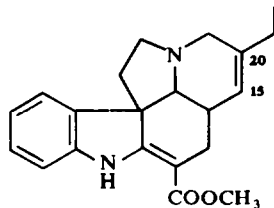


D'un autre côté, on rappellera les essais négatifs tentés dans les divers solvants de polarité voisine de celle de l'acide acétique mais à point d'ébullition plus élevé (alcool isoamylique et diglyme).

Rôle de la double liaison 14-15 de la tabersonine. Si on chauffe la dihydro-14, 15 tabersonine dans les mêmes conditions que la tabersonine, le résultat est totalement négatif et montre que la double liaison est indispensable à la transposition.

Réversibilité. La présence d'une notable quantité de tabersonine non transformée dans l'acide acétique, quelle que soit la durée de chauffage au delà d'un seuil de 16 hr, donne à penser que la réaction est équilibrée. De fait, si on soumet l'allocatharanthine au même traitement on obtient un mélange de produits analogue à celui provenant de la tabersonine, y compris les dérivés hydrosolubles.

L'ensemble des essais complémentaires effectués montre que seul l'acide acétique pur réunit l'ensemble des propriétés physicochimiques nécessaires pour réaliser la transposition de la (-) tabersonine en (+) allocatharanthine. D'autre part, cette réaction est à rapprocher de celle signalée incidemment par Gorman et Neuss à propos de la (+) catharanthine (III).¹⁶ Le chauffage prolongé de celle-ci en milieu acétique entraîne son isomérisation en pseudocatharanthine XIX et dihydro-15, 20 pseudocatharanthine (pseudo-vincadifformine), phénomène d'ailleurs réversible. On a là une réaction exactement semblable sur des produits ne différant de ceux étudiés ici que par la position de la chaîne éthyle. Nous avons pu la vérifier sur un échantillon de catharanthine* et constater que l'équilibration était plus rapide (12 h) que dans le cas de la tabersonine et nettement favorisée dans le sens catharanthine → pseudocatharanthine. Elle donne également naissance à des produits hydrosolubles (20% environ) qui n'ont pas été isolés.



XIX

* Nous remercions vivement le Dr. N. Neuss de nous l'avoir procuré.

Mécanisme de la réaction

Les faits établis précédemment, et en particulier la réversibilité, plaident en faveur de la formation d'un intermédiaire réactif lorsque la (-) tabersonine I est traitée par l'acide acétique à 118°.

On peut admettre que l'acide provoque, par un effet de solvant, la formation d'une espèce transitoire polaire "chanoimmonium" (XX) associée aux ions H⁺ et AcO⁻ présents dans le milieu. Ce type d'intermédiaire a déjà été impliqué dans d'autres réactions d'isomérisation comme celle intéressant les hétéroyohimbane-oxindoles.¹⁷

L'ion "chanoimmonium" (XX) peut alors se réarranger de diverses façons suivant les centres où se localisent les charges, et en fonction des contraintes stériques et de la stabilité thermodynamique des produits formés (Tableau 2). Les réactions favorisées, et plus ou moins compétitives, sont :

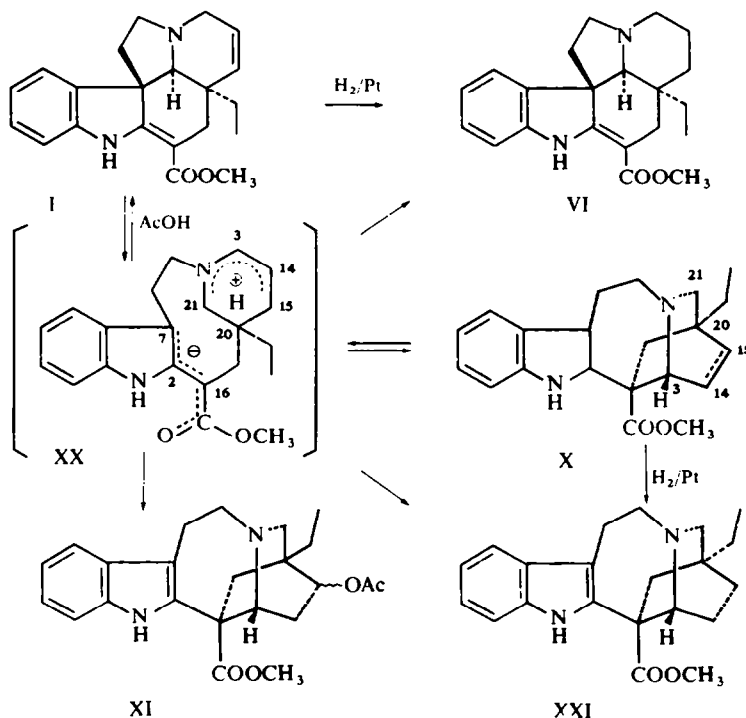
la fermeture 7-21 redonnant la (-) tabersonine I* par attaque nucléophile en α de l'azote pyridinique.

la fermeture 16-3 formant la (+) allocatharanthine (X) par le même mécanisme.

la perte d'un ion hydrure avec transfert sur un autre ion "chanoimmonium" qui se trouve réduit et ensuite réarrangé, soit en (-) dihydrotabersonine (VI), soit en (+) dihydroallocatharanthine (XXI), comme précédemment.

une attaque nucléophile en γ de l'azote non indolique (position 15) par un ion

TABLEAU 2



* Ce fait montre incidemment que la (-) tabersonine existe naturellement sous sa configuration la plus stable, c'est-à-dire 21 - α (proton axial). On tient là une preuve indirecte de cette configuration restée ambiguë jusqu'ici.

AcO⁻ entraînant le bouclage en 3-16 et la formation du dérivé XI (base C). On sait que dans le cas des dérivés à noyau pyridinique une telle attaque peut intervenir soit en α (*vide supra*) soit en γ .

Un point qui reste plus obscur est la dismutation de la tabersonine ou de l'allocatharanthine. Cette réaction n'est cependant pas exceptionnelle et des analogies peuvent être trouvées dans le cas de N-méthyl dihydroisoquinoléines [réarrangement allylique en milieu chlorhydrique donnant des sels d'iso-quinoléinium et des tétrahydroisoquinoléines].¹⁸ D'autre part l'équilibre bien connu en biochimie: $2 \text{ NAD} + \text{H}^2 = 2 \text{ NADH}^*$ fait précisément intervenir des noyaux pyridinium (NAD) et dihydropyridine (NADH) et il a été signalé que les dihydropyridines étaient réductrices vis-à-vis des indolénines.¹⁹ On pourrait donc invoquer un transfert d'hydrure intermoléculaire au niveau de l'intermédiaire dihydropyridinium XX.

En ce qui concerne l'alkaloïde F, sa formation fait intervenir en plus un départ du groupe COOMe, catalysé par les protons libres du solvant. Cette réaction secondaire est très limitée avec l'acide acétique pur mais on a vu qu'elle était notable avec des acides plus forts.

Nous avons fait une tentative de vérification expérimentale du mécanisme proposé ci-dessus en chauffant la (-) tabersonine dans AcOD et en analysant les produits de la réaction par spectrométrie de masse et de RMN, en particulier pour y localiser le deutérium fixé ou échangé au stade des intermédiaires. On a retrouvé: la tabersonine à l'état de tabersonine - d₂ et surtout - d₃, les atomes de deutérium étant localisés en 3 et 14, l'allocatharanthine - d₃ marquée en 3, 14 et 21 avec un peu de dérivé - d₂, la dihydrotabersonine - d₅ marquée en 3 (2d), 14 (2d) et 15 (1d) accompagnée de - d₄, les dihydroallocatharanthine d₄ + d₅ marquée en 3, 14, 15 et 21, mais le dérivé C deutérié n'a pu être isolé en raison de sa très faible proportion.

La localisation du deutérium est prouvée par le décalage des ions "pipéridéine" dans le spectre de masse et par la comparaison des spectres de RMN des dérivés deutériés avec ceux des bases normales, dans le cas de la tabersonine, de la dihydroallocatharanthine et de l'allocatharanthine (Tableau 3). Elle montre bien l'implication du cycle "pipéridéine" dans la réaction et elle est en accord avec le mécanisme proposé.

Les essais effectués indépendamment au laboratoire de G. F. Smith ont abouti aux mêmes conclusions.^{7, 20} Mais dans le cas de l'équilibration de la catharanthine en milieu acétique, les divers produits formés sont partiellement racémisés.²⁰ Cette différence de comportement peut s'expliquer par la formation, aux dépens de la catharanthine, d'un intermédiaire avec le C-14 trigonal, réaction exclue avec la tabersonine où le centre correspondant (C-20) ne peut pas perdre de proton.

On voit donc au terme de cette étude que la réaction "ionique" de la tabersonine dans l'acide acétique à l'ébullition, si elle ne permet pas de reproduire le processus biogénétique "électrocyclique" avancé par Scott, donne naissance à plusieurs produits de réarrangement d'un type structural nouveau. Celui-ci relève lui-même du type biogénétique "Aspidosperma" et constitue à son égard le pendant du type "ibogamine" dans les bases "Iboga". Bien que cette structure n'ait pas encore été trouvée dans la nature, rien ne paraît s'opposer *a priori* à ce qu'elle existe.

* NAD = nicotinamide-adénine-dinucléotide.

TABLEAU 3

Bases	Spectre de masse—ions m/e^a	RMN—Signaux δ ppm
Tabersonine	336 (M^+), 229, 135, 122, 107 ^c	0.85–1.1 (m) (Et). 3.2–3.4 (m) (<u>H</u> -3, 2 pr.). 3.73 (s) ($COOCH_3$). 5.62 (m) (<u>H</u> -14, <u>H</u> -15). 6.6–7.2 (m) (Ar- <u>H</u>). 8.87 (s) (ind- <u>NH</u>).
Tabersonine-d	339, 338, 230, 138, 137, 136, 125 124, 123, 110, 109, 108.	0.85–1.1 (m). 3.72 (s). 5.65 (d). 6.6–7.2 (m). 8.87 (s).
Allocatharanthine	336 (M^+), 229, 228, 214, 168, 135, 122, 121, 107 ^b	0.90 (t). 3.73 (s). 4.39 (d). 6.13 (d). 6.58 (q). 7–7.6 (m). 7.85 (s). ^b
Allocatharanthine-d	339, 338, 229, 228, 214, 168, 138, 137, 136, 125, 124, 123, 110, 109, 108	0.90 (t). 3.73 (s). 6.13 (s). 7–7.76 (m). 7.85 (s).
Dihydroallocatharanthine	338 (M^+), 227, 215, 214, 208, 154, 124 ^b	—
Dihydroallocatharanthine-d	343, 342, 341, 227, 215, 214, 213, 212, 154, 129, 128	—

^a voir la partie expérimentale pour les valeurs d'abondance %.

^b voir le texte pour l'interprétation des spectres.

^c les fragments m/e 135, 122 et 107 sont relatifs au noyau "pipéridéine".

TABLEAU 4

p mg/v ml	Solvant	T°	t (h)	Remarques et produits obtenus
50/6	AcOH	190	16	En tube scellé—Décomposition
10/5	CH ₂ Cl ₂	4	20	Néant
15/10	Dioxanne	101	24	Néant
20/10	MeOH	65	16	Néant
20/10	THF	66	20	Néant
25/10	Alcool isoamylique	130	48	Néant
25/10	Diglyme	162	10	Néant
50/10	HCl 4N	100	4	Descarbométhoxy-tabersonine
50/15	C ₆ H ₆ + 500 mg TsOH	80	4	Descarbométhoxy-tabersonine
50/10	Acide triméthylacétique	160	5	Décomposition
50/10	Acide triméthylacétique	100	10	Néant
50/30	THF + 0.5 ml BF ₃	66	6	Décomposition

PARTIE EXPERIMENTALE

Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés à l'aide d'un polarimètre électronique Zeiss à 578 nm, dans le CHCl₃ à 0.5 p. 100 d'EtOH et à des concentrations égales à 1 p. 100. Les spectres UV ont été déterminés en solution dans EtOH à 96°, à l'aide d'un spectrophotomètre Unicam S.P. 800. Les spectres IR ont été effectués dans le CHCl₃ ou dans le KBr, à l'aide d'un appareil Perkin-Elmer 257. Les spectres de RMN ont été mesurés avec un appareil Varian A-60, sur des solutions dans CDCl₃ ou D₂O. Les déplacements chimiques ont été exprimés en δ (p.p.m.) par rapport au TMS, utilisé comme étalon de référence interne pour CDCl₃, externe pour D₂O. Nous sommes redevables à Mme M. Zuber de les avoir déterminés. Les spectres de masse ont été déterminés à l'aide d'un spectromètre AEI MS 9 avec introduction directe des échantillons. (I.C.S.N. du C.N.R.S. à Gif-sur-Yvette, Dr. B. C. Das). Les chromatographies qualitatives

en couche mince ont été réalisées, soit sur des plaques de Kieselgel H Merck ($e = 0.25$ mm), soit sur des plaques de cellulose Whatman CC 41 ($e = 0.12$ mm). Dans ce dernier cas, on a eu recours aux systèmes de solvants: t-BuOH-C₆H₆-H₂O 3.1/1/2 ou t-BuOH-EtOAc-H₂O 2/4/1. La révélation des alcaloïdes sur plaque de Kieselgel a été faite par pulvérisation de réactif au sulfate cérique ou de réactif de Dragendorff, et sur plaque de cellulose, par pulvérisation de réactif à l'iodo-platinate de potassium.

Action de l'acide acétique sur la tabersonine. 954 mg de (-) tabersonine (base), dissous dans AcOH (50 ml) pur rectifié, sont chauffés à reflux sous azote pendant 16 hr. Le chauffage se fait par l'intermédiaire d'un bain d'huile maintenu à la température de 150° environ. Après réaction, AcOH est évaporé au bain-marie sous vide. Le mélange est repris par l'eau et extrait par l'éther après alcalinisation à NH₃. La phase étherée est séchée et concentrée sous pression réduite. On obtient 671 mg d'un produit huileux légèrement jaune. La phase aqueuse d'extraction est acidifiée par HCl, chauffée sous vide pour éliminer les traces d'éther et additionnée de réactif de Valsér-Mayer jusqu'à fin de précipitation. Le précipité est séparé sur filtre en verre fritté, abondamment rincé à l'eau tiède, puis directement dissous dans le mélange acétone-MeOH 7-3. Le filtrat est évaporé à pression et température réduites. On obtient 670 mg d'un produit jaune, très hygroscopique.

Isolement des alcaloïdes éthero-solubles. Les produits extraits par l'éther sont chromatographiés sur 30 fois leur poids de Kieselgel Merck (Activité II). Par élution au C₆H₆, (fractions 3-4) on isole une fraction homogène (232 mg) qui est cristallisée sous forme de chlorhydrate dans le mélange MeOH-Et₂O. On obtient 140 mg de chlorhydrate de tabersonine, identifié par comparaison avec un échantillon authentique.

Les fractions suivantes (5-28) (160 mg) éluées au C₆H₆ se présentent sous forme d'un mélange de tabersonine et de dihydrotabersonine. Ce mélange est séparé par chromatographie préparative sur plaques de Kieselgel ($e = 1$ mm) avec le solvant CHCl₃-EtOAc 9/1. On obtient 77 mg de (-) tabersonine base [α]₃₇₈ - 310° (MeOH, $e = 0.4$) et 71 mg de (-) dihydrotabersonine amorphe (alcaloïde D), identifiée par comparaison avec un échantillon du produit d'hydrogénation de la tabersonine dans EtOAc (spectres IR, RMN et masse). Les fractions (30-40) éluées par un mélange de C₆H₆-Et₂O 9/1, se révèle être un mélange de trois alcaloïdes (248 mg) non cristallisable. Ces fractions réunies sont soumises à une première chromatographie préparative sur plaque de Kieselgel ($e = 1$ mm) avec le solvant cyclohexane-acétone 3/2. La fraction de R_f inférieur (54 mg) est constituée par l'alcotharanthine (alcaloïde A). La fraction de R_f supérieur non homogène, est soumise à une nouvelle chromatographie préparative avec le mélange CHCl₃-EtOAc 9/1. La fraction de R_f inférieur donne 33 mg de dihydroalcotharantine (alcaloïde B) et la fraction de R_f supérieur, 25 mg d'acétoalcotharantine (alcaloïde C). Les alcaloïdes A, B, C, ayant des R_f très voisins, il a été nécessaire de faire 2 à 3 chromatographies préparatives successives avec le même solvant de migration, pour chaque fraction.

Isolement des alcaloïdes hydrosolubles. Un traitement par AcOH conduit sur 4.9 g de (-) tabersonine base pendant 24 hr, a permis de disposer de 3.72 g de précipité d'iodo-mercures d'alcaloïdes hydrosolubles.

Ceux-ci, en solution dans le mélange acétone-MeOH-H₂O 6/2/1, sont transformés en chlorhydrates par échange sur colonne de résine Amberlite IRA 410, préalablement traitée par lavage à l'aide de solutions de NaOH 2N et HCl 2N. On obtient 1.538 g de chlorhydrates d'alcaloïdes. Une chromatographie en couche mince sur plaque de cellulose révèle que l'on est en présence d'un mélange de plusieurs produits. Ce mélange est chromatographié sur 155 g d'alumine neutre Woelm -activité III-avec les solvants: CHCl₃; CHCl₃-MeOH; MeOH; EtOH + H₂O et H₂O. Les fractions (60-68) éluées par CHCl₃-MeOH 92/8, homogènes en chromatographie sur couche mince de cellulose, donnent 100 mg d'un produit amorphe (alcaloïde E) qui n'a pas été étudié. Par élution à l'eau on obtient les fractions (210-215) d'où on isole 190 mg d'un produit impur. Ces fractions sont traitées par chromatographie préparative sur plaque de cellulose ($e = 0.5$ mm) avec le solvant t-BuOH-C₆H₆-H₂O 3.1/1/2. On sépare ainsi 125 mg de l'alcaloïde F, homogène en chromatographie sur couche mince de cellulose. L'alcaloïde F est le seul qui ait pu être séparé de cette façon en raison de son comportement particulier. Toutes les autres fractions, impures ou de poids trop faible, n'ont pas été étudiées.

Constantes physiques des alcaloïdes nouveaux. Allocatharantine (alcaloïde A). Amorphe [α]₃₇₈ = +63° (CHCl₃, $c = 1$); λ_{\max} nm (log ϵ) 227 (4.32); 283 (3.85); 290 (3.80); ν cm⁻¹ (CHCl₃): 3455, 1725, 1650, 1620, 1560, 1460; Spectre de RMN: δ ppm: 0.90 (3 protons, t); 3.73 (3 protons, s); 4.39 (1 proton, d J_{H-H} = 6 cps); 6.13 (1 proton, d J_{H-H} = 8 cps); 6.58 (1 proton, q, J_{H-H} = 6 et 8 cps); 7 à 7.6 (4 protons, m); 7.85 (1 proton, s); Pour C₂₁H₂₄O₂N₂: M⁺ calculé: 336.4366; trouvé: 336.4371; m/e: 336 (M⁺) (42), 229 (17), 228 (13), 214 (9), 168 (17), 154 (9), 135 (100), 122 (39), 121 (31), 107 (52), 93 (12), 92 (10).

Dihydroalcotharantine (alcaloïde B). Amorphe [α]₃₇₈ = +43° (CHCl₃, $c = 1$); λ_{\max} nm (log ϵ) 228 (4.30), 283 (3.83), 291 (3.79); ν cm⁻¹ (CHCl₃): 3455, 1720, 1620, 1560, 1460; Spectre de RMN: δ ppm: 0.75

(3 protons, t); 3.73 (3 protons, s); 7 à 7.6 (4 protons, m); 7.8 (1 proton, s); m/e : 338 (M^+) (63), 227 (13), 215 (23), 214 (100), 208 (49), 154 (26), 124 (50), 95 (24).

Acétoalcotharanthine (alcaloïde C). Amorphe $[\alpha]_{D}^{25} = +25^\circ$ (CHCl_3 , $c = 1$); λ_{max} nm (log ϵ) 229 (4.18), 283 (3.91), 292 (3.83); ν cm^{-1} (CHCl_3): 3455, 1725, 1615, 1565; Spectre de RMN: δ ppm: 0.75 (3 protons, t); 2.10 (3 protons, s); 3.75 (3 protons, s); 4.80 (1 proton, q $J_{\text{H-H}} = 3$ et 8 cps); 6.9 à 7.6 (4 protons, m) 7.75 (1 proton, s). (Acétylvoaphyllinol A⁹; 4.79 (1 proton, q $J_{\text{H-H}} = 7$ et 10 cps); Pour $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_4\text{N}_2$: M^+ calculé: 396.4895; trouvé: 396.4889; m/e : 396 (M^+) (41), 338 (20), 337 (75), 336 (29), 238 (45), 214 (19), 168 (41), 154 (25), 149 (23), 138 (47), 135 (100), 122 (36), 121 (26), 107 (28).

Alcaloïde F (chlorhydrate). Amorphe: $[\alpha]_{D}^{25} = 0$ (EtOH, $c \neq 1$); λ_{max} nm (log ϵ): 224 (4.25), 267 (3.83), 283 (épaulement, 3.76), 290 (3.70); ν cm^{-1} (KBr): 3380, 1605, 1500, 1460; Spectre de RMN: (100 MHz)* δ ppm: 0.8 (3 protons, t); 2.47 (2 protons, q); 3.38 (4 protons, m); 6.76 (2 protons, m); 7.07 (1 proton, q $J_{\text{H-H}} = 4.7$ cps et 7.5 cps); 8.06 (2 protons, 1 s + 1 d $J_{\text{H-H}} = 10$ cps); 8.43 (1 proton, d $J_{\text{H-H}} = 5$ cps).

Pyrolyse de la tabersonine. 30 mg de (-) tabersonine (base) sont chauffés à 190° sous vide, en tube scellé, pendant 96 hr. On obtient un mélange qui est séparé par chromatographie préparative sur plaque de Kieselgel avec le solvant CHCl_3 -EtOAc 3/1. On isole ainsi deux produits, qui sont ensuite purifiés par distillation sous vide poussé. Le produit de R_f supérieur, (8 mg) a été identifié au méthyl-1 méthoxy-2 carbazole: $F = 220$ -222°; λ_{max} nm (log ϵ) 218 (4.38), 239 (4.55), 251 (4.42), 256 (épaulement 4.41), 300 (4.14), 317 (épaulement 3.87), 326 (épaulement 3.40); m/e : 211 (M^+) (100), 196 (72), 168 (19), 167 (26). Le produit de R_f inférieur est le méthyl-1 hydroxy-2 carbazole: $F = 221$ -224°; λ_{max} nm (log ϵ) 219 (4.39), 239 (4.56), 252 (4.42), 256 (épaulement 4.40), 300 (4.13), 316 (épaulement 3.87), 328 (épaulement 3.40); m/e : 197 (M^+) (100), 168 (20), 167 (16), 98.5 ($M^{+ \cdot}$) (13).

Action de l'acide formique sur la (-) tabersonine. 35 mg de tabersonine base sont maintenus à reflux pendant 10 hr dans 15 ml d'acide formique (préalablement séché sur sulfate de cuivre anhydre et redistillé). L'acide formique est évaporé sous pression réduite et le mélange, repris par l'eau, extrait par le chlorure de méthylène à pH 9. On obtient un résidu de 24 mg. La phase aqueuse après réacidification donne une réaction de Mayer légèrement positive. Par chromatographie en couche mince du mélange réactionnel (système CHCl_3 -EtOAc 9/1), on isole 3.5 mg d'un alcaloïde, présentant les données spectrales suivantes: λ_{max} nm 210: 252: 283: 290 inchangé en milieu acide: ν cm^{-1} (KBr) 3440, 1672, 1600; m/e : 308 (M^+) (88), 279 (34), 149 (68), 122 (45), 121 (100), 107 (11).

Traitement de la (-) tabersonine par divers solvants ou réactifs. Dans tous les cas, un certain poids p de tabersonine est dissous dans un volume déterminé v de solvant et chauffé à reflux à T° pendant une durée t de 4 à 96 h. Les conditions opératoires et le résultat obtenu avec chaque réactif sont récapitulés dans le tableau ci-dessus 4.

Action de l'acide acétique sur l'alcotharanthine. 12 mg d'alcotharanthine base sont chauffés à reflux dans 10 ml d'AcOH pur pendant 19 hr. Le mélange réactionnel est traité de la même manière que pour la réaction d'isomérisation de la tabersonine, et les produits formés (10 mg) sont caractérisés par chromatographie en couche mince.

Le chromatogramme obtenu est identique à celui qui résulte de la réaction sur la tabersonine. La phase aqueuse épuisée par l'éther donne, d'autre part, une réaction très positive avec le réactif de Mayer.

Action de l'acide acétique-D₄ sur la tabersonine. 143 mg de (-) tabersonine base sont dissous dans 10 ml de CD_3COOD et chauffés à reflux pendant 18 hr. L'acide acétique est totalement évaporé sous pression réduite et le mélange repris par le CHCl_3 . La solution est lavée par trois fois 10 ml d'une solution de Na_2CO_3 , séchée et évaporée. On obtient 127 mg d'un mélange identique en chromatographie sur couche mince à celui obtenu avec l'acide acétique ^1H .

La phase aqueuse d'extraction acidifiée par HCl, donne un précipité avec le réactif de Mayer qui n'a pu être récupéré par filtration.

Le mélange réactionnel est soumis à une série de chromatographies sur plaque de Kieselgel dans les conditions déjà citées.

On a pu isoler successivement, la tabersonine deutériée, l'alcotharanthine deutériée et la dihydroalcotharanthine deutériée.

Ces alcaloïdes montrent des différences caractéristiques avec leurs équivalents hydrogénés dans leurs spectres de masse et de RMN.

Tabersonine deutériée. Spectre de RMN: δ ppm 0.45 à 1.1 (5 protons, m): absence du multiplet de 2 protons entre 3.2 et 3.4 ppm: 3.72 (3 protons, s); 5.65 (1 proton, d, $J_{\text{H-H}} = 1.5$ cps); 6.6 à 7.2 (4 protons, m); 8.87

* Ce spectre a été déterminé grâce à l'obligeance des Etablissements Varian AG-Zurich.

(1 proton, s): *m/e*: 339 (M^+) (74), 338 (26), 230 (25), 168 (32), 167 (25), 154 (13), 138 (15), 137 (100), 136 (36), 125 (37), 124 (17), 123 (23), 110 (11), 109 (30), 108 (13), 96 (15).

Allocatharanthine deutériée. Spectre de RMN: δ ppm: 0.90 (3 protons, t); 3.73 (3 protons, s); 6.13 (1 proton, s); 7 à 7.6 (4 protons, m): 7.85 (1 proton, s): *m/e*: 339 (M^+) (54), 338 (23), 229 (23), 228 (23), 214 (14), 168 (28), 154 (19), 138 (100), 137 (95), 136 (23), 125 (65), 124 (49), 123 (28), 110 (63), 109 (63), 108 (23), 96 (21), 95 (19).

Dihydroallocatharanthine deutériée. *m/e*: 343 (M^+) (67), 342 (51), 341 (23), 227 (13), 215 (24), 214 (100), 213 (30), 212 (28), 154 (31), 129 (16), 128 (13).

Action de l'acide acétique sur la catharanthine. 200 mg de catharanthine base sont chauffés à reflux dans 30 ml d'AcOH pendant 22 hr. Par un traitement analogue à celui de la tabersonine, on isole 160 mg d'un mélange de bases éthersolubles, et la phase aqueuse épuisée donne une réaction de Mayer très positive.

Le mélange éthersoluble est constitué de trois produits visibles en chromatographie sur couche mince et ne contient pratiquement plus de catharanthine.

Remerciements—Nous tenons à remercier le Professeur G. F. Smith (Université de Manchester) pour de fructueuses discussions et M. J. Renard (Omnium Chimique, Bruxelles) qui nous a fourni la matière première de ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ M. Hesse, *Indolalkaloïde in Tabellen*. 1e vol. p. 32 (1964); 2e vol. p. 58 (1968). Springer Verlag, Ed.
- ² M. Plat, J. LeMen, M.-M. Janot, J. M. Wilson, H. Budzikiewicz, L. J. Durham, Y. Nakagawa et C. Djerassi, *Tetrahedron Letters* 271 (1962)
- ³ E. Wenkert, *J. Am. Chem. Soc.* **84**, 98 (1962); E. Wenkert et B. Wickberg, *Ibid.* **87**, 1580 (1965)
- ⁴ A. A. Qureshi et A. I. Scott, *Chem. Comm.* 948 (1968); A. I. Scott, P. C. Cherry et A. A. Qureshi, *J. Am. Chem. Soc.* **91**, 4932 (1969); A. I. Scott, *Acc. Chem. Res.* **3**, 151 (1970)
- ⁵ A. A. Qureshi et A. I. Scott, *Chem. Comm.* 945 et 947 (1968)
- ⁶ J. P. Kutney, N. J. Cretney, J. R. Hardfield, E. S. Hall, V. R. Nelson, D. C. Wigfield, *J. Am. Chem. Soc.* **90**, 3566 (1968)
- ⁷ R. T. Brown, J. S. Hill, G. F. Smith, K. S. J. Stapleford, J. Poisson, M. Muquet et N. Kunesch, *Chem. Comm.* 1475 (1969)
- ⁸ H. Budzikiewicz, C. Djerassi et D. H. Williams, *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry*, Vol. 1: *Alkaloids*, p. 60. Holden Day Ed. (1964)
- ⁹ N. Kunesch, B. C. Das et J. Poisson, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 2155 (1967)
- ¹⁰ C. Reichardt, *Angew. Chem. (Int. Ed.)* **4**, 29 (1965)
- ¹¹ N. Neuss, *Physical Data of Indole and Dihydroindole Alkaloids*, Eli Lilly Co Ed. (1960-63)
- ¹² C. Djerassi, H. Budzikiewicz, J. M. Wilson, J. Gosset, J. LeMen et M.-M. Janot, *Tetrahedron Letters* 235 (1962)
- ¹³ M.-J. Hoizey, L. Olivier, J. Levy et J. LeMen, *Tetrahedron Letters* 1011 (1971)
- ¹⁴ A. I. Scott et P. C. Cherry, *J. Am. Chem. Soc.* **91**, 5872 (1969)
- ¹⁵ P. N. Edwards et G. F. Smith, *J. Chem. Soc.* 1458 (1961)
- ¹⁶ M. Gorman, N. Neuss et N. J. Cone, *J. Am. Chem. Soc.* **87**, 93 (1965)
- ¹⁷ J. L. Pousset, J. Poisson, R. J. Shine et M. Shamma, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 2766 (1967)
- ¹⁸ J. Knabe et N. Ruppenthal, *Arch. Pharm.* **299**, 159 (1966)
- ¹⁹ K. A. Schellenberg, G. W. McLean, H. L. Lipton et P. S. Lietman, *J. Am. Chem. Soc.* **89**, 1948 (1967)
- ²⁰ R. T. Brown, J. S. Hill, G. F. Smith et K. S. J. Stapleford, *Tetrahedron* **27**, 5217 (1971)