

ACQUISITIONS RÉCENTES DANS LE DOMAINE DES ALCALOÏDES DES APOCYNACÉES (*Funtumia*, *Malouetia Paravallaris*, *Holarrhena*, *Picralima* et *Vinca*)

M.-M. JANOT

*Faculté de Pharmacie de Paris et Institut de Chimie des Substances Naturelles,
Gif-sur-Yvette, France*

Lors de la révision de la Famille des Apocynacées, publiée de 1947 à 1953, par le regretté botaniste français Marcel Pichon, celui-ci conserva la division en trois sous-familles: Cerbéroidées, Echitoïdées et Plumerioïdées.

Cette classification servit de guide à Bisset¹ pour rédiger ses deux fondamentales monographies sur la présence des alcaloïdes dans cette Famille. L'auteur faisait remarquer que des six derniers mois de 1958 aux six premiers mois de 1961, plus de 300 notes avaient été imprimées sur ce sujet!

Depuis lors, cette cadence d'environ 2 notes par semaine s'est maintenue sinon encore accrue, si l'on me permet d'en juger par la seule contribution des deux groupes de chercheurs que j'ai l'honneur de diriger l'un à la Faculté de Pharmacie de Paris et l'autre à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles du Centre National de la Recherche Scientifique à Gif-sur-Yvette.

Les principales conclusions de nos plus récentes recherches feront l'objet de cet exposé, mais en ayant toutefois présent à l'esprit, plutôt de donner une idée des progrès techniques réalisés dans ce domaine que de rapporter le détail des faits acquis. C'est ainsi que des exemples de l'application de la résonance nucléaire magnétique et de la spectrométrie de masse seront discutés.

Pour l'utilisation de ces deux méthodes, il faut dès maintenant faire état d'une étroite et amicale collaboration avec le Professeur Djerassi et son groupe de Stanford (U.S.A.) et sans tarder je leur exprime les remerciements des deux équipes jumelles françaises.

*

*

*

Si nous revenons à la classification botanique des Apocynacées, il convient de remarquer que, jusqu'alors, les plantes à alcaloïdes se trouvent en grande majorité localisées dans les Echitoïdées et les Plumerioïdées.

En effet, dans les Cerbéroidées, depuis les travaux simultanés et indépendants de Casinovi, Garbarino et Marini-Bettolo² et de Djerassi et ses collaborateurs³ publiés en 1961, on sait que seule l'espèce *Skytanthus acutus* Meyer renferme des alcaloïdes et en particulier la skytanthine, base liquide, volatile et non oxygénée C₁₁H₂₁N de nature monoterpénique^{2, 4}. Tout

récemment, au Symposium de juin 1962 à Bruxelles, Casinovi, Dellemonache et Marini-Bettolo⁵ ont de plus rapporté la structure d'alcaloïdes voisins de la skytanthine et leurs mutuelles relations.

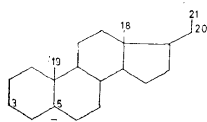
Dans la sous-famille des Echitoidées, les genres *Funtumia*, *Kibatalia* (Ex. *Paravallaris*) et *Malouetia* ont retenu notre attention. Ils contiennent des alcaloïdes dont l'enchaînement fondamental est de nature stéroïde; il faut étudier à leur suite les alcaloïdes du genre *Holarrhena* de la sous-famille des Plumerioïdées qui eux aussi sont des amines naturelles stéroïdes.

Une vingtaine d'alcaloïdes ont été découverts, parmi⁶ lesquels 16 ont aujourd'hui une structure établie. Celles-ci se rattachent à trois types:

Dérivés du 5 α -pregnane;
Dérivés du pregna-5-ène;
Dérivés de la conanine.

Le terme de conanine a été introduit en 1957 par Haworth et Michael⁷ pour désigner le squelette hétérocyclique des alcaloïdes du groupe de la conessine.

La Figure 1 donne la structure de 9 alcaloïdes rattachés au 5 α -pregnane

5 α -Pregnane

<i>Alcaloïde</i>	<i>Plante</i>	3	20	18
Funtumine	<i>F.l.</i>	α -NH ₂	= O	CH ₃
Funtumidine	<i>F.l.</i>	α -NH ₂	α -OH	CH ₃
Funtuphyllamine A	<i>F.a.</i>	β -OH	α -NH ₂	CH ₃
Funtuphyllamine B	{ <i>F.a.</i> <i>M.b.</i>	β -OH	α -CH ₃ NH	CH ₃
Funtuphyllamine C	<i>F.a.</i>	β -OH	α -(CH ₃) ₂ N-	CH ₃
Funtumafrine B	<i>F.a.</i>	= O	α -CH ₃ NH	CH ₃
Funtumafrine C	{ <i>F.a.</i> <i>M.b.</i>	= O	α -(CH ₃) ₂ N-	CH ₃
Malouétine	<i>M.b.</i>	β -(CH ₃) ₃ N ⁺	α -(CH ₃) ₃ N ⁺ -	CH ₃
Malouphylline	<i>M.b.</i>	β -CH ₃ CONH	α -(CH ₃) ₂ N-	O=C $\begin{matrix} \text{H} \\ \diagup \\ \diagdown \end{matrix}$

F.l. = *Funtumia latifolia*; *F.a.* = *F. africana*; *M.b.* = *Malouetia bequaertiana*

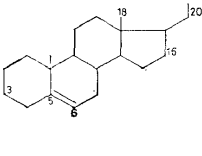
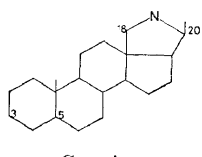
Figure 1

allant des funtumine et funtumidine découvertes en 1958 avec Goutarel et Khuong-Huu⁸ dans le *Funtumia latifolia* Stapf à la malouétine^{9, 10} et à la malouphylline¹¹ dues aux mêmes auteurs avec Mlle Françoise Lainé (devenue Madame Khuong-Huu). Il est remarquable de constater que les positions 3 et 20 sont seules substituées et forment en particulier pour le carbone 20 une suite continue: dérivé carbonylé—puis α -hydroxylé,

ACQUISITIONS DANS LE DOMAINE DES ALCALOÏDES DES APOCYNACÉES

α -aminé, α -monométhylaminé, α -diméthylaminé et α -triméthylaminé. La fonction amine peut se trouver aussi en position 3α et lorsqu'elle est triméthylaminée, autrement dit ammonium quaternaire elle est en position β^* .

La malouphylline se distingue en particulier par la présence d'un radical β -acétylamino en position 3, α -diméthylamino en 20 et par un groupement fonctionnel supplémentaire aldéhydique en 18.

	Alcaloïde	Plante	3	20	18	16
 <p>Pregna 5-ene</p>	Holamine	<i>H. fl.</i>	α -NH ₂	= O		
	Holaphyllamine	<i>H. fl.</i>	β -NH ₂	= O		
	Holaphylline	<i>H. fl.</i>	β -CH ₃ NH	= O		
	Holafébrine	<i>H. f.</i>	β -OH		α -NH ₂	
	Paravallaridine	<i>P. m.</i>	β -CH ₃ NH		Lactone	α -OH
	Paravallarine	<i>P. m.</i>	β -CH ₃ NH		Lactone	
 <p>Conanine</p>	Latifoline	<i>F. l.</i> (l'écorses)	3 β OH Δ_5			

H. fl. = *Holarrhena floribunda* Dur. et Schinz,
H. f. = *Holarrhena febrifuga* Klotzsch

P. m. = *Paravallis microphylla* Pierre
F. l. = *Funtumia latifolia* Stapf

Figure 2

La Figure 2 comporte 6 alcaloïdes du groupe du prena-5-ène issus les 3 premiers des feuilles de l'*Holarrhena floribunda* Dur. et Schinz¹² (les alcaloïdes y sont accompagnés de la triacanthine d'un type tout à fait différent puisqu'il s'agit de la $\gamma\gamma$ -diméthyl-allyl-3-amino-6-purine¹³ ou $\gamma\gamma$ -diméthylallyl adénine.

L'holafébrine est extraite des écorces de l'*Holarrhena febrifuga* Klotzsch, variété africaine de l'espèce asiatique très connue *Holarrhena antidysenterica*. Les écorces ont des propriétés toniques et fébrifuges déjà signalées par Livingstone elles constituent le "quina" des Portugais du Mozambique. L'échantillon étudié par nous provenait du Katanga et renfermait comme les autres *Holarrhena* des alcaloïdes bien connus: conessine, holarrhimine *etc.*, et de plus cette holafébrine dont la structure qui figure dans le tableau a été établie cette année avec Monseur, Mme Conreur et Goutarel¹⁴. Par hydrogénation catalytique (C/Pd, acide acétique) elle donne un dérivé dihydrogéné qui n'est autre que la funtuphyllamine A du précédent tableau.

L'holafébrine est l'aglycone du gluco-alcaloïde retiré par MacPhillamy et collaborateurs en 1960 du *Conopharyngia pachisyphon* G. Don, témoin significatif de la coexistence dans une même apocynacée d'un glucoside et d'un alcaloïde¹⁵.

* α signifié derrière la formule plane—position représentée en pointillé; β devant la formule plane (trait plein). Pour le carbone 20, α signifié à droite sur la formule plane et β à gauche.

La découverte de la paravallarine en 1960 par Le Men¹⁶ dans le *Paravallaris microphylla* Pitard, du Viet-Nam, est très importante. Il a établi avec beaucoup d'élégance sa structure qui est celle d'une lactone entre la fonction carboxyle-18 et l'hydroxyle alcoolique du carbone 20 du pregna-5-ène avec une fonction méthylamino sur le carbone 3 en situation spatiale β^{16} . L'existence d'une fonction oxygénée sur le carbone 18 est très recherchée en raison des développements possibles qui pourraient conduire à l'aldostérone (ou des analogues) hormone principale de la partie corticale de la surrénale.

Dans des travaux encore inédits Le Men, avec Beugelmans et Mme Kan a déterminé la structure de la paravallaridine, satellite de la paravallarine dont elle se distingue par un atome d'oxygène supplémentaire qui est impliqué sous forme d'hydroxyle en position α sur le carbone-16.

Sur le même tableau figure enfin un dérivé hétérocyclique du type conanine étudié au Laboratoire—il s'agit de la *latifoline* des écorces du *Funtumia latifolia* Stapf où elle accompagne la funtamafrine C, précédemment isolée du *Funtumia africana* Stapf. Je rappelle que les feuilles du *F. latifolia* si riches en alcaloïdes totaux (jusqu'à 3,5 pour cent) contiennent la funtumine et la funtumidine et qu'elles font l'objet d'une importante culture en Guinée ex-française.

La structure de la latifoline signalée sur le tableau a été démontrée en partant de l'isoconessimine elle-même obtenue de la conessine¹⁷.

Connaissance faite avec ces alcaloïdes stéroïdes et à titre d'exemple, d'une part la structure de la malouétine va être établie afin de comprendre la synthèse de 3 de ses isomères—et d'autre part la synthèse de l'holaphyllamine et de l'holamine sera rapidement évoquée.

La malouétine est une base diammonium quaternaire retirée des écorces de tiges et de racines du *Malouetia bequaertiana* Woodson. L'étude chimique des *Malouetia* était d'un intérêt majeur parce qu'une drogue curarisante utilisée au Venezuela sous le nom de *Guachamacha* a été identifiée aux tiges du *Malouetia Schomburgkii* M.-Arg.

La plante étudiée provenait du Congo ex-Belge, elle présente une parenté chimique avec le *Funtumia africana* puisqu'elle renferme dans les écorces la *funtuphyllamine* B et dans les feuilles la *funtumafrine* C.

Lorsqu'on pyrolyse la malouétine (I) (*Figure 3*) sous vide entre 200–300° on réalise une réaction du type Hofmann: il se sépare une molécule de triméthylamine (caractérisée sous forme de picrate), une molécule de méthanol et une base faible la malouétiméthine (II) possédant une seule double liaison qui a un caractère vinylique, en effet le spectre infra rouge présente 2 bandes à 906 cm^{-1} et 1650 cm^{-1} caractéristiques des chaînes vinyliques.

Cette double liaison est hydrogénable en présence de charbon palladié pour donner la dihydromalouétiméthine (III), qui se trouve être identique au 3 β -diméthylamino-5 α -pregnane préparé par Haworth et collaborateurs en 1953.

Ce simple résultat permet d'inférer que la malouétine est le dihydroxyde de 3 β -20 α -bistriméthylammonium-5 α -pregnane.

En effet les travaux de Haworth démontrent que dans la série stéroïde lorsque les cycles A/B sont trans, les dérivés triméthylammonium-3 β (conformation équatoriale) conduisent par pyrolyse à l'amine tertiaire

ACQUISITIONS DANS LE DOMAINE DES ALCALOÏDES DES APOCYNACÉES

3β , alors que les dérivés 3α -triméthylammonium (conformation axiale) donnent en majeure partie une oléfine en 2-3.

L'un des groupes triméthylammonium se trouve donc en position 3β l'autre pouvant être soit en 21, soit plus vraisemblablement chez un dérivé naturel en position 20.

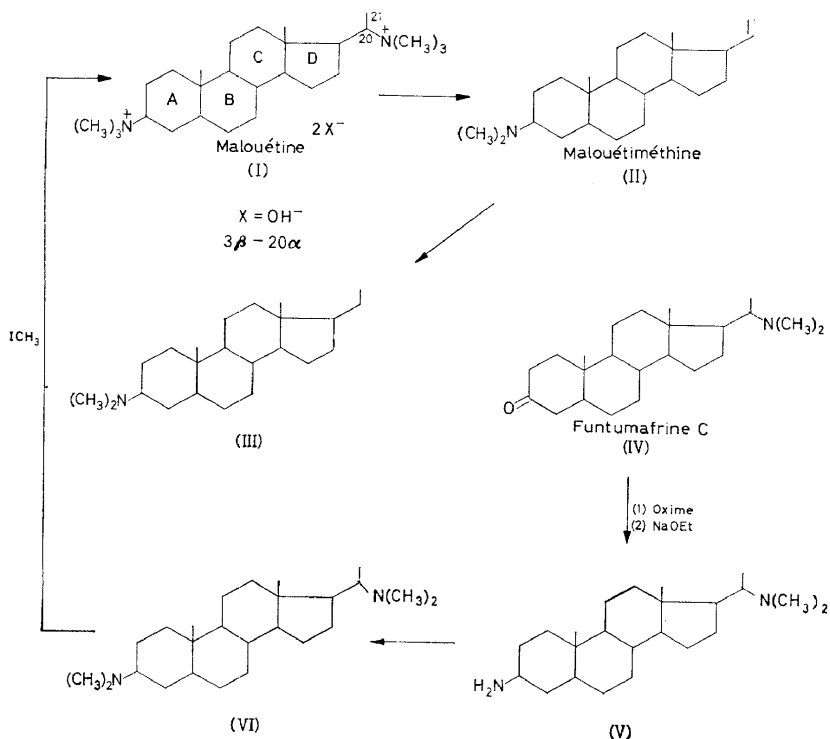


Figure 3

Si la malouétine a bien la structure envisagée il apparaît possible d'en réaliser la synthèse partielle à partir de la funtumafrine C (IV) d'origine synthétique¹⁰ ou naturelle¹⁸ présente également dans les feuilles du *Malouetia bequaertiana* et que l'on pourrait ainsi considérer comme un précurseur de la malouétine.

La réduction par le sodium-éthanol de l'oxime en 3 de la funtumafrine C conduit au 3β -amino- 20α -diméthylamino- 5α -pregnane (V) dont la méthylation par l'aldéhyde formique et l'acide formique selon la méthode de Eschweiler-Clarke donne le 3β - 20α -bisdiméthylamino- 5α -pregnane (VI) précédemment préparé par Šorm et ses collaborateurs¹⁹. Cette diamine, soigneusement purifiée pour éliminer toute trace de dérivé 3α , traitée par l'iodure de méthyle conduit au di-iodure de 3β - 20α bistriméthylammonium- 5α -pregnane à partir duquel ont été préparés les dichlorure, diperchlorate et dipicrate identiques aux dérivés correspondants de la malouétine naturelle.

La malouétine est le dérivé 3β - 20α , les 3 isomères possibles: 3β - 20β , 3α - 20β , 3α - 20α ont été alors préparés.

Le dérivé 3β - 20β (Figure 4) a été obtenu à partir de la 5α -pregnane-3,20-dione (aisément préparée elle-même par desamination oxydative en 3, selon Ruschig, de la funtumine) dont la dioxime (VII) a été réduite par le sodium éthanol en diamine 3β - 20β (VIII) (accompagnée du dérivé 20α

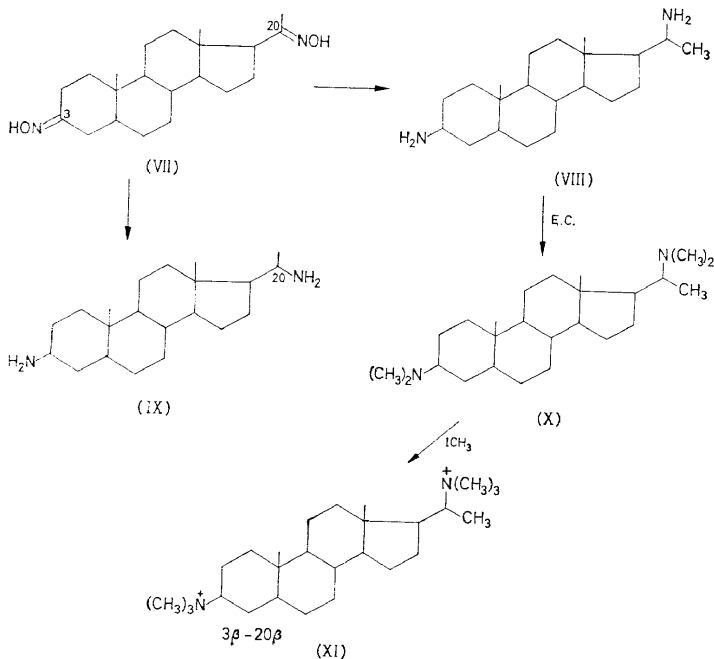


Figure 4

(IX). Après méthylation selon Eschweiler-Clarke, on sépare par chromatographie le 3β - 20β -bisdiméthylamino- 5α -pregnane (X) du dérivé 3β - 20α et on le méthyle par l'iodure de méthyle pour aboutir au di-iodure de 3β - 20β -bistriméthylammonium- 5α -pregnane cherché (XI).

Les dérivés 3α - 20β -et 3α - 20α -ont été préparés (Figure 5) à partir de la funtumine—dont l'oxime (XII) réduite par le sodium-éthanol donne le mélange des deux amines primaires 3α - 20β (XIII) et 3α - 20α (XIV) qui est méthylié selon Eschweiler-Clarke pour donner les dérivés diméthylaminés respectivement (XV) et (XVI) que l'on peut séparer par chromatographie sur alumine.

L'action de l'iodure de méthyle conduite ensuite respectivement aux di-iodures de 3α - 20β -bistriméthylammonium- 5α -pregnane (XVII) et 3α - 20α -bistriméthylammonium- 5α -pregnane (XVIII).

En possession de ces 4 stéréoisomères, il était intéressant d'en faire une étude pharmacodynamique.

L'activité curarisante de la malouétine a été reconnue en 1960 par

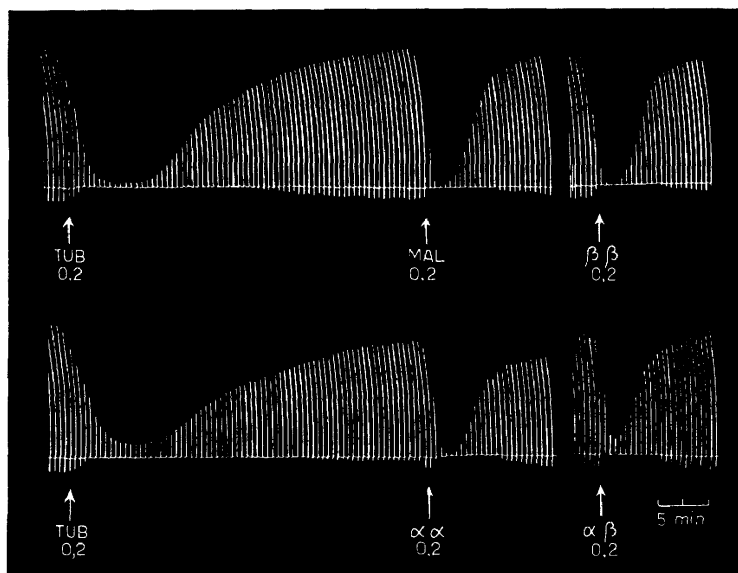


Figure 6. Action du chlorure de Malouétine (MAL) et de ses isomères $3\beta-20\beta(\beta\beta)$, $3\alpha-20\alpha(\alpha\alpha)$, $3\alpha-20\beta(\alpha\beta)$, sur la transmission neuromusculaire chez le lapin. Comparaison avec l'action de la d-tubocurarine (TUB).

Lapin anesthésié par l'urethane. (1,5 g/kg par voie s.c.) Enregistrement des contractions du muscle gastrocnémien. Stimulation rythmique indirecte à travers le nerf sciatique au moyen de stimuli isolés rectangulaires (amplitude 7 V, durée 4-5 msec, fréquence 2 stimuli/minute)

Doses mg/kg par voie i.v. lapin de 2 kg 800

Expérience du 22.XI.1961

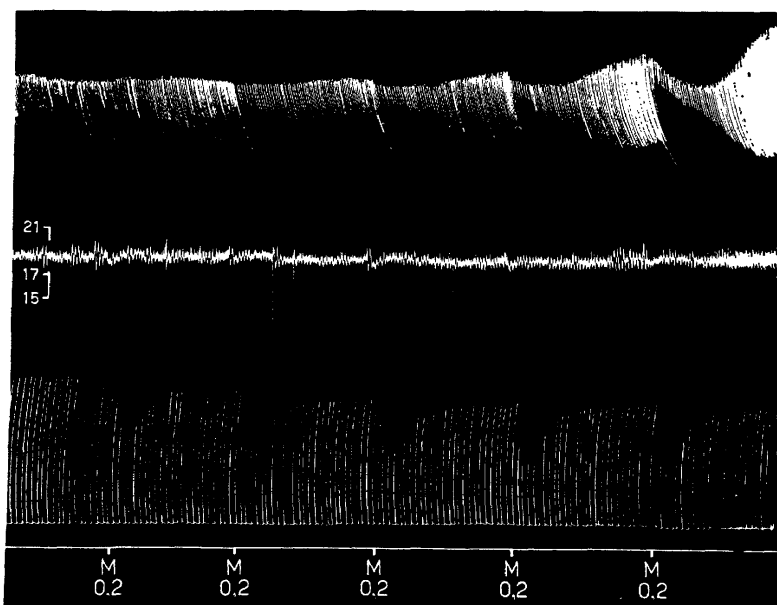


Figure 7. Action de la Malouétine (M) sur la respiration, la pression artérielle et la transmission neuromusculaire chez le chien (dans l'ordre, du haut en bas).

En haut: une dose de 0,2 mg/kg de chlorhydrate de Malouétine répétée plusieurs fois provoque toujours les mêmes effets soit sur la contraction musculaire que sur la respiration. En bas: la durée de la paralysie neuromusculaire provoquée par une forte dose de Malouétine (0,5 mg/kg) se trouve considérablement réduite par l'administration d'Eserine (E); l'action d'une injection successive montre clairement l'effet antagoniste de l'eserine à l'égard de la Malouétine.

Chien chloralosé (120 mg/kg par voie i.v.). Stimulation rythmique indirecte du muscle gastrocnémien à travers le nerf sciatique au moyen de stimuli isolés rectangulaires (amplitude 9V, durée 3,5 msec., fréquence 2 stimuli/minute). Doses en mg/kg par voie i.v.

Chien ♀ de 20 kg. Expérience du 15.XII.1961

(A la fin de l'expérience l'on a recueilli les urines (l'expérience avait commencé à vessie vide); une analyse chromatographique a mis en évidence dans les urines la présence du produit (environ 50 c.c.)

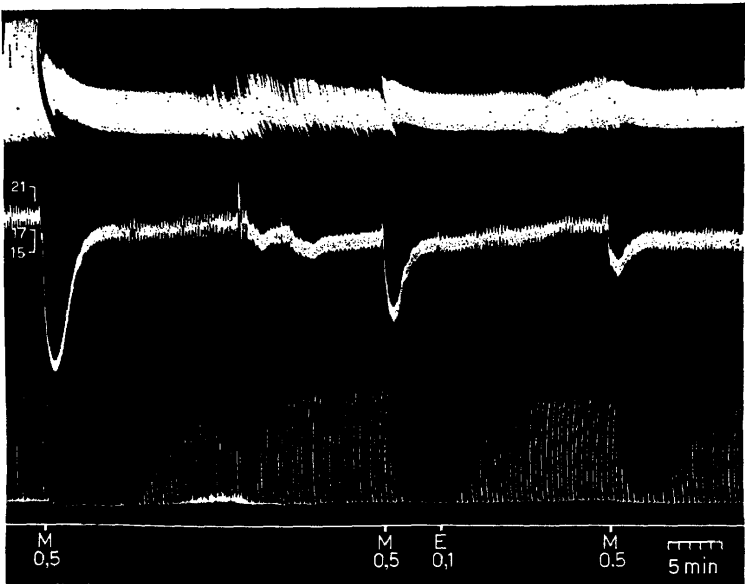


Figure 8

ACQUISITIONS DANS LE DOMAINE DES ALCALOÏDES DES APOCNYACÉES

Quevauviller et Lainé²⁰, elle correspond à celle de l'extrait aqueux des écorces de tiges et racines du *Malouetia bequaertiana*.

La malouétine constitue un nouveau type structural de curarisant naturel très différent des curares bisoquinoléiques et bisindoliques. Il est remarquable de constater que les deux fonctions ammonium quaternaire dans la malouétine comme dans ses stéréoisomères sont distantes d'environ 14 Å et séparées par 10 atomes de carbone selon le chemin le plus court.

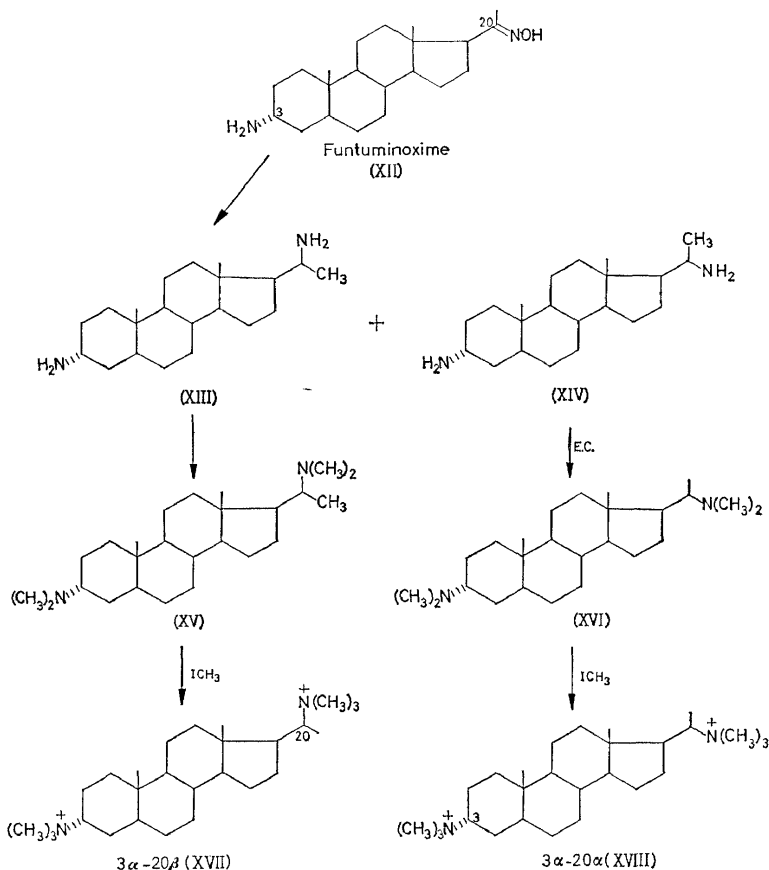


Figure 5

Monsieur Bovet a bien voulu accueillir dans son Institut Mlle Lainé pour y préciser, sous sa direction et en collaboration avec Madame Sconamiglio les intéressantes propriétés pharmacodynamiques de ces composés et je leur en exprime mes remerciements²¹.

De cette étude inédite, ils me permettront de vous présenter seulement l'action sur la transmission neuromusculaire chez le lapin et sur la respiration, la pression artérielle et la transmission neuro-musculaire chez le chien.

Sur la préparation sciatique-gastrocnémien chez le lapin anesthésié à l'urethane (Figure 6) les quatre produits provoquent une curarisation du

même ordre—le retour à la normale s'effectue plus rapidement que pour une même dose de d-tubocurarine prise comme étalon.

La progstigmine et l'ésérine exercent une action protectrice lorsqu'elles sont injectées avant et une action curative après la malouétine et ses isomères, qui se comportent ainsi tous les quatre comme la d-tubocurarine et peuvent être placés dans les curarimimétiques.

Chez le chien chloralosé, sur la préparation sciatique-gastrocnémien, on constate l'absence d'effet cumulatif de la malouétine, une même dose (0,2 mg/kg) répétée provoque la même paralysie et la respiration est nettement modifiée après la 5ème injection (Figure 7).

La durée de la paralysie neuro-musculaire provoquée par une forte dose de malouétine (0,5 mg/kg) est très réduite par l'administration d'ésérine (Figure 8). Pour cette dose la malouétine provoque une hypotension immédiate de durée inférieure à celle de la curarisation.

Lorsque la durée de curarisation provoquée chez le lapin avec la d-tubocurarine est de 2 heures, elle est seulement de l'ordre de 20 à 25 minutes avec la malouétine et ses isomères, d'où leur intérêt physiologique.

La malouétine et ses isomères sont donc des curarimimétiques à action brève et aucun des quatre isomères ne semble présenter d'avantages nets sur les autres.

L'holaphyllamine et l'holamine constituent deux stéroïdes aminés retirés de l'apocynacée africaine *Holarrhena floribunda*¹². Par desamination oxydative ils donnent le stéroïde bien connu la progestérone (Figure 9).

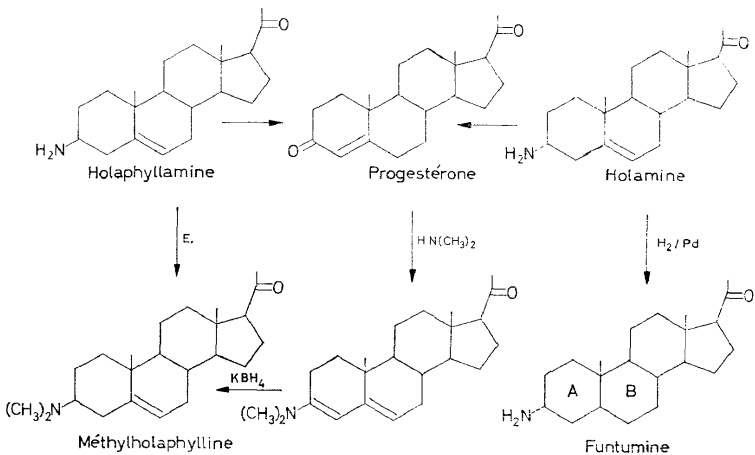


Figure 9

La structure de l'holaphyllamine est démontrée par sa méthylation qui conduit à la méthylholaphylline, l'holaphylline elle-même étant un troisième alcaloïde extrait des feuilles de la même espèce et dont nous avons déjà établi la structure—c'est-à-dire le β 3-méthylamino-20-oxo-pregna-5-ène.

La méthylholaphylline peut être aussi préparée à partir de la progestérone par l'intermédiaire de l'énamine que l'on réduit ensuite par le borohydrure de potassium.

ACQUISITIONS DANS LE DOMAINE DES ALCALOÏDES DES APOCYNACÉES

L'holaphyllamine est donc le 3 β -amino-20-oxo-pregna-5-ène. Quant à l'holamine sa structure est démontrée par une simple hydrogénation catalytique en présence de palladium qui donne la funtumine, réaction qui constitue une anomalie car on obtient ainsi un dérivé A/B trans contrairement à la règle de réduction des dérivés du preгна-5-ène substitués en position 3 α .

Il est remarquable de constater que dans la même feuille on trouve deux produits ne se distinguant qu'à la position 3 α ou 3 β de la fonction amine.

La synthèse de ces deux alcaloïdes holaphyllamine et holamine a été réalisée il y a quelques semaines par Goutarel²², et dont voici les grandes lignes (Figure 10).

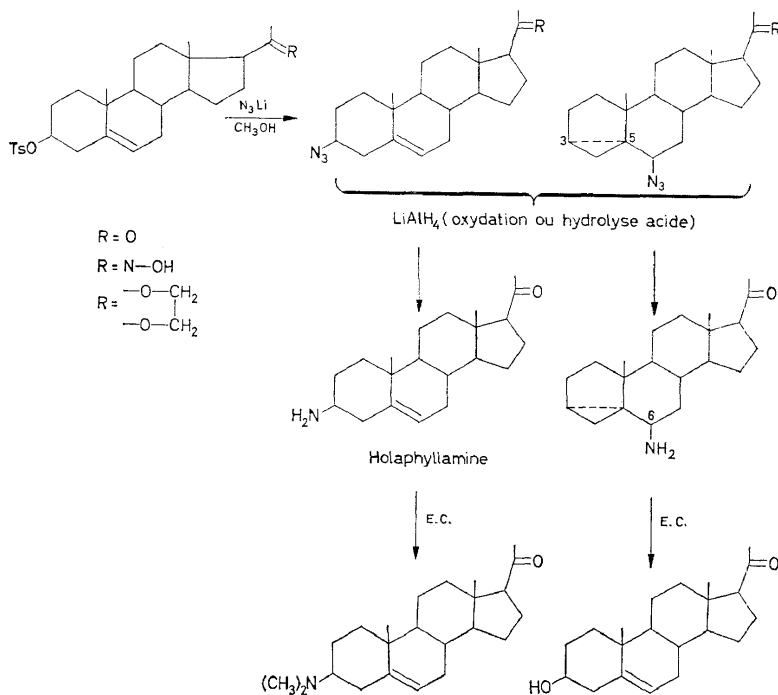


Figure 10

Pour l'holaphyllamine, la matière première est le tosylate de prégnenolone dont la fonction cétone (R = O) est libre ou protégée sous forme d'oxime (R = N—OH) ou d'éthylène dioxy (R = —O—CH₂—CH₂—O—), on traite par le nitrure de lithium en solution dans le méthanol ce qui conduit à un mélange des 2 nitrures indiqués dont la réduction par LiAlH₄ conduit aux deux amines primaires dont la fonction cétonique est rétablie soit par oxydation de la fonction alcool créée ou par hydrolyse acide de l'oxime ou du dioxolane.

Les deux amines cétoniques sont séparées par chromatographie l'une est l'holaphyllamine que l'on peut transformer comme précédemment en

méthylholaphylline, alors que l'autre est la 6 β -amino-cyclo-3-5 qui donne par essai de méthylation la prégnénolone conformément aux travaux de Labler et Cerny.

La technique de Goutarel est originale pour la synthèse de l'holamine; il suffit en effet de traiter le tosylate de prégnénolone (Figure 11) en solution dans le diméthylsulfoxyde par le nitrure de sodium pour obtenir un seul produit qui est le dérivé du 3 α -azido-pregnène-5 le quel, réduit par LiAlH₄ donne l'amine 3 α qui après régénération de la fonction cétone fournit l'holamine cherchée.

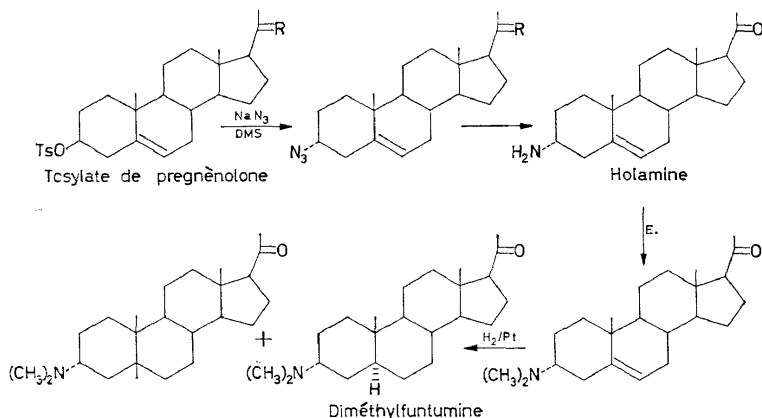


Figure 11

La diméthylholamine peut être obtenue par la méthode d'Eschweiler et sa réduction catalytique conduit à un mélange de deux produits—dont l'un est la diméthylfuntumine de la série A/B *trans* et l'autre de la série A/B *cis*.

Dans la sous-famille des Plumérioidées l'espèce *Picalima nitida* (Stapf) Th. et H. Dur. fut particulièrement étudiée par le chimiste britannique Henry qui en isola huit alcaloïdes en 1932²³.

Un exposé détaillé de la détermination de la structure de l'un d'entre eux: l'akuammicine a été fait par l'auteur de cette conférence au récent Symposium International sur la Chimie des Substances Naturelles tenu à Prague et qui est publié dans ce même journal. Il suffit de rappeler qu'il a été fait appel en plus des méthodes classiques de la chimie à la spectrométrie de masse. Le lecteur est prié de se rapporter à cet article (voir *Pure Appl. Chem.* 6, No. 4).

Le seul genre de la famille des Apocynacées spontané en Europe est le genre *Vinca* c'est-à-dire les pervenches; trois d'entre elles ont retenu notre attention, la grande pervenche *Vinca major* L., et sa variété *Vinca difformis* Pourr. (= *V. media* Hoffmgg. et Link) et la petite pervenche *Vinca minor* L.

La vincamajine est l'un des quatre alcaloïdes que nous avons retirés²⁴ du *Vinca major*, elle se trouve aussi dans la *Vinca difformis*²⁵.

La vincamédine est l'un des cinq alcaloïdes cristallisés jusqu'ici isolés des feuilles du *Vinca difformis* (autre nom du *V. media*²⁶).

Ces deux alcaloïdes ont le même enchaînement dihydroindolique (Figure 12) ils possèdent en commun un groupement COOCH₃, un N—CH₃, une

ACQUISITIONS DANS LE DOMAINE DES ALCALOÏDES DES APOCYNACÉES

chaîne éthylidène mais si la vincamajine comprend une fonction OH alcoolique libre, celle-ci, seule différence, est acétylée dans la vincamédine²⁷. En 1961 leur structure a pu être établie de la manière suivante²³.

Par réduction au moyen de LiAlH_4 , ces deux alcaloïdes fournissent le même diol et par saponification le même acide. L'hydrolyse chlorhydrique

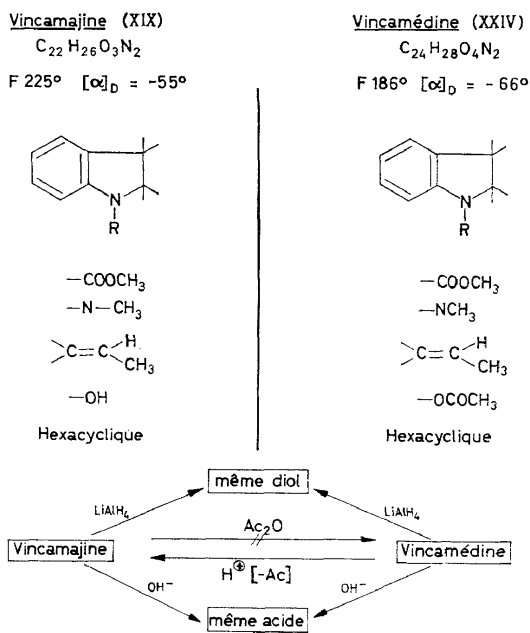


Figure 12

en milieu méthanolique de la vincamédine conduit à la vincamajine. Bien que nous n'ayons pu acétyler directement la vincamajine pour passer à la vincamédine, les réactions précédentes suffisent à démontrer que la vincamédine est l'*O*-acétylvincamajine.

L'oxydation chromique en milieu pyridine anhydre de la vincamajine (XIX) a permis d'établir le squelette de ces alcaloïdes (Figure 13).

En effet, cette oxydation fournit l'aldéhyde ester indolique (XX) dont la réduction par KBH_4 conduit à l'alcool ester indolique (XXI) identique à la voachalotine^{29, 30} du *Voacanga chalongiana* Pierre (ex Stapf). La décarbonylation de l'aldéhyde ester (XX) ou la desformylation de l'alcool ester (XXI) par rétroaldolisation aboutit à un seul et même ester (XXII), lequel réduit par LiAlH_4 donne l'alcool (XXIII) identique à la 10-desoxy-*N*(a)-méthylsarpagine préparée antérieurement par Taylor et collaborateurs³¹, ce qui fixe l'enchaînement hétérocyclique de la vincamajine et de la vincamédine.

La configuration absolue de la sarpagine ayant été récemment établie³², les configurations interdépendantes des centres 3, 5 et 15 le sont également. Vincamédine et vincamajine sont dès lors 15α et suivent ainsi le cas le plus fréquent dans la série des alcaloïdes dérivés de l'indole.

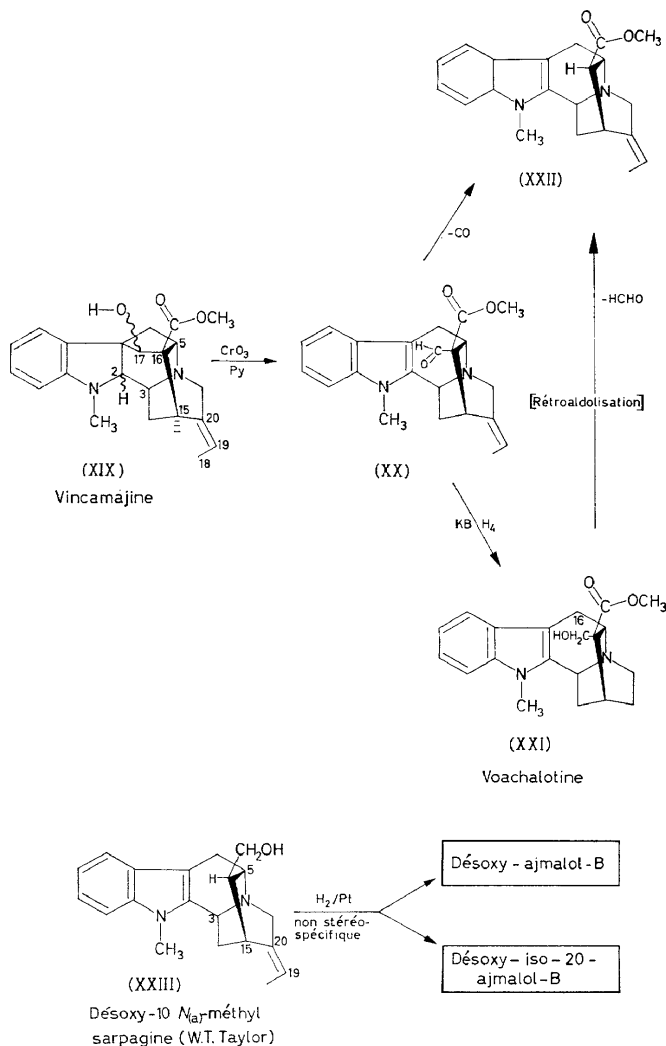


Figure 13

Trois points restent à déterminer, les configurations des centres d'asymétrie 2 et 17 et l'orientation du méthyle-18 sur la double liaison 19-20.

La configuration du carbone-2 peut être connue par l'oxydation chromique en présence de pyridine de la vincamédine (XXIV) (Figure 14).

On obtient 2 produits (XXV) et (XXVI) dont les structures ont été établies par analyse et examen des spectres u.v. et i.r.

Taylor avait obtenu les deux dérivés homologues (XXV) et (XXVI) par oxydation chromique du dérivé *O*-acétylé de la desoxyajmaline. En milieu acide le dérivé (XXVI) se comporte comme l'indoléline (XXVII) dont l'hydrogénation catalytique en milieu acétique fournit le composé (XXVIII)

ACQUISITIONS DANS LE DOMAINE DES ALCALOÏDES DES APOCYNACÉES identique au produit de l'hydrogénation catalytique directe en milieu acétique de la vincaméline.

Taylor ayant montré que dans le cas de l'indolénine issue de l'*O*-acétyl desoxyajmaline l'hydrogénation catalytique oriente la fixation de l'hydrogène sur le carbone-2 en position α il est logique de penser qu'il en est ainsi pour

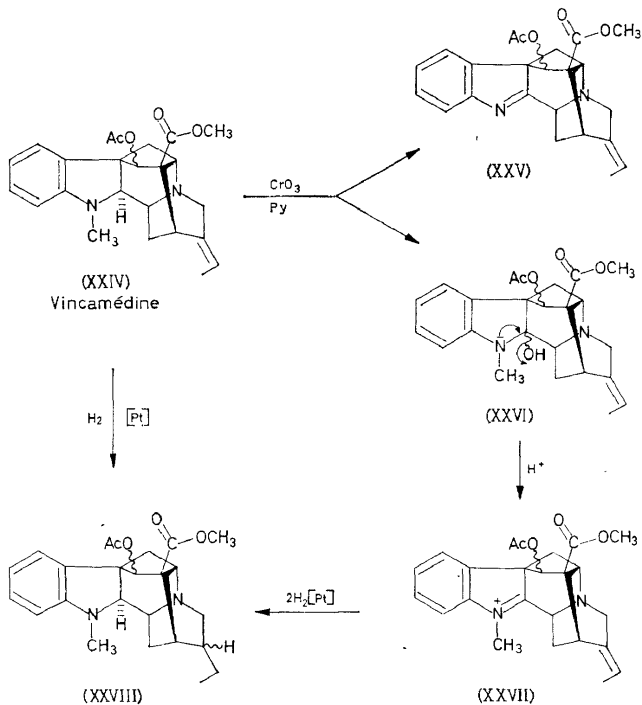


Figure 14

l'hydrogénation de l'indolénine (XXVII) qui se fait en 2α , position la moins encombrée.

Ainsi dans la vincaméline et partant dans la vincamajine l'hydrogène porté par le carbone-2 est en situation α .

Nous venons de voir que l'oxydation chromique de la vincaméline (XXIV, Figure 15) fournit à côté du dérivé hydroxylé en position 2, l'indolénine (XXV) ne comportant plus de groupement méthyle sur l'atome d'azote N(a).

L'hydrolyse acide (ou alcaline) ménagée de ce composé (XXV) fournit uniquement par décarbonylation de l'intermédiaire (XXIX) non isolé l'ester (XXX).

Mais la réduction de l'indolénine (XXV) en milieu alcalin par KBH_4 donne l'alcool-ester (XXXIII) qui est identique à la polyneuridine et étant donné l'origine de cet alcool ester—la configuration du carbone-16 se trouve parfaitement fixée et la polyneuridine correspond bien à la configuration (XXXIII) indiquée sur la figure.

D'autre part nous avons antérieurement établi par dégradation du

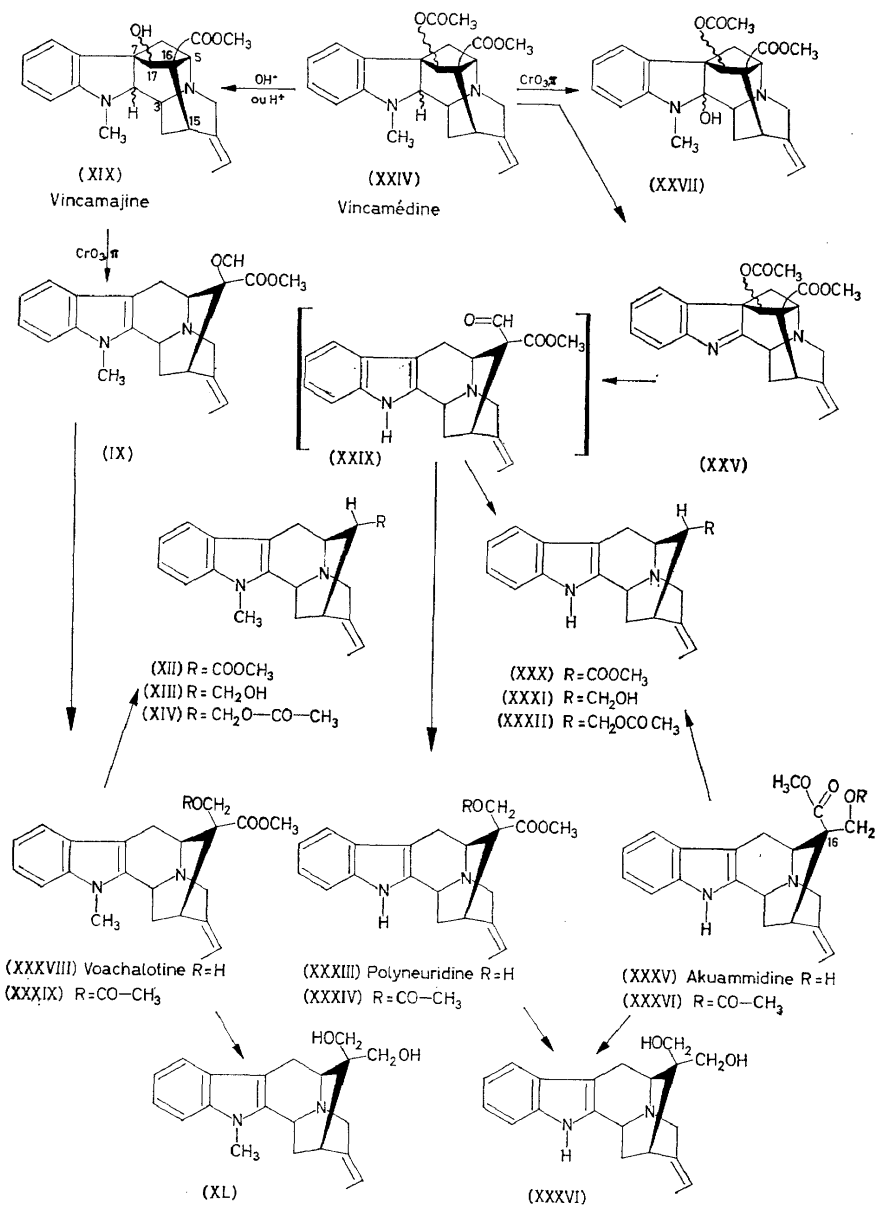


Figure 15

groupe fonctionnel mixte porté par le carbone-16, la structure (XXXV) de l'akuammidine^{30, 33} autre alcaloïde du *Picralima nitida* que l'on rencontre aussi dans le *V. difformis*³⁴.

Cette étude démontre l'étroite parenté qui existe entre les alcaloïdes de certaines Apocynacées.

ACQUISITIONS DANS LE DOMAINE DES ALCALOÏDES DES APOCYNACÉES

La vincadifformine est un alcaloïde nouvellement découvert également dans le *V. difformis*³⁴. Son pouvoir rotatoire est nul, c'est un racémique naturel. Par ses caractéristiques spectrales u.v. et i.r. cet alcaloïde contient le chromophore carbométhoxy- α -méthylène indoline rencontré dans l'akuammicine ce qui est confirmé également par le spectre de R.M.N., avec deux différences essentielles, dans le spectre R.M.N. de la vincadifformine il n'y a aucun signal attribuable à des protons oléfiniques mais la présence de signaux associés à la présence d'une chaîne éthyle. Cependant c'est la spectrométrie de masse qui devait conduire à la structure (XLI) (Figure 16)³⁵. Le fragment le plus caractéristique est celui repéré à m/e 124 dont le signal était près de dix fois plus intense que l'ion moléculaire.

Comme l'a montré Biemann et collaborateurs³⁶ ce pic est caractéristique

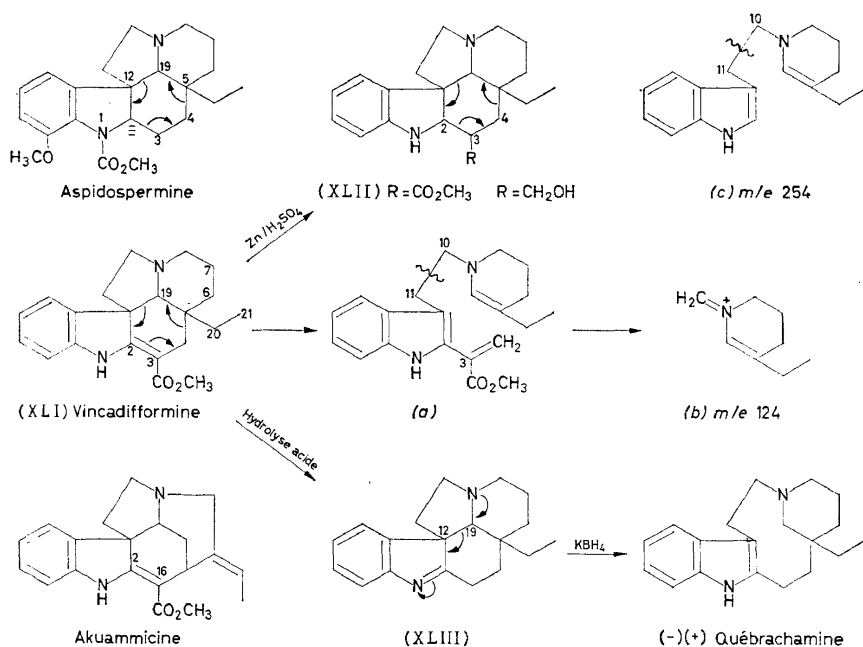


Figure 16

des alcaloïdes à squelette du type aspidospermine, et il a été attribué au composé (b) méthylène pyridinium dont la genèse résulte du mécanisme concerté représenté avec élimination du chaînon insaturé en C₃-C₄, suivie de la coupure entre C₁₀ et C₁₁.

Si on tient compte des spectres u.v., i.r. et R.M.N. et de la formule brute C₂₁H₂₆O₂N₂, la vincadifformine (XLI) est pentacyclique du type aspidospermine et la formation du fragment (b) dérive de (a) selon le mécanisme indiqué.

Cette présomption est confirmée par l'obtention de la dihydro-2,3-vincadifformine par hydrogénation par le zinc en milieu sulfurique dont le spectre u.v. à 2 bandes à 250 et 300 μ est devenu typiquement dihydro-indolique et le pic du spectre de masse le plus important est encore m/e 124,

accompagné du pic (*c*) à *m/e* 254 résultant de la perte prévue des éléments de l'acrylate de méthyle (86 unités de masse) par rapport à la masse moléculaire 340 pour $C_{21}H_{28}O_2N_2$ de la dihydrovincadifformine.

Si $R = CH_2OH$ ou dihydrovincadifforminol $C_{20}H_{28}ON = 312$; on trouve encore le pic (*b*) *m/e* 124 et aussi le pic (*c*) *m/e* 254 qui résulte de la perte des éléments de l'alcool allylique (58 unités de masse).

Une preuve supplémentaire très importante de la structure de la vincadifformine est donnée par la chimie.

L'hydrolyse acide donne la decarboxyvincadifformine (XLIII) dont la réduction par le borohydrure de potassium en milieu alcalin (comme nous l'avons indiqué pour la decarbométhoxy akuammicine) qui conduit à un produit cristallin qui n'est autre que la quebrachamine racémique et la vincadifformine possède certainement la structure (XLI).

La vincadifformine, racémique naturel, n'a pas encore été dédoublée—mais il y a quelques jours Madame M. Plat a pu extraire de la petite pervenche *V. minor* L. la (–) vincadifformine et l'auteur tchèque Mokry (Bratislava) la vincadifformine elle-même.

La petite pervenche très commune est une source extraordinaire d'alcaloïdes; on en compte actuellement au moins 16 et parmi eux le plus anciennement connu la vincamine découverte en 1953 par Schlittler et Furlenmeyer³⁷ vient seulement de livrer le secret de sa structure grâce aux recherches des auteurs tchèques Trojanek, Strouf, Holubek et Cekan³⁸. Ces savants lui ont attribué la formule (XLIVa) (*Figure 17*) que nous avons confirmée il y a quelques semaines³⁹, car il était possible aussi au départ d'admettre la structure (XLIV)'. L'essentiel de la démonstration réside dans l'emploi de la spectrométrie de masse.

Sur une quantité de substance inférieure au milligramme nous avons pu établir que la vincamine possède bien le même type de structure que les alcaloïdes de l'*Hunteria eburnea*⁴⁰ éburnamonine (XLVIII), éburnaménine (XLIX) et éburnamine (L).

L'éburnamine (L) est une carbinolamine et l'ion moléculaire subit une facile déshydratation, le fragment de masse la plus élevée est l'ion $(M-18)^+$. En conséquence le spectre de masse de l'éburnamine déterminé vers 200° est identique à celui de l'éburnaménine (XLIX) (*Figure 18*). Les deux pics les plus intenses sont trouvés à *m/e* 208 (XLVIa) et *m/e* 249 (LVIIIa) dont l'interprétation est indiquée dans la (*Figure 19*). Ce dernier est dû à la perte de la chaîne éthyle angulaire dont l'élimination est favorisée par activation allylique.

La formation de l'ion (LVa) résulte du mécanisme concerté figuré en (XLIX). Le pic (LVIIa) *m/e* 193 résulte de l'élimination subséquente du groupement méthyle terminal de la chaîne éthyle de (LVa).

Quant au pic (LVIXa) *m/e* 206 il provient de la fragmentation de l'ion $(M-29)^+$ (perte de la chaîne éthyle) (LVIIIa) *m/e* 249 selon le mécanisme envisagé.

Le spectre de masse de l'éburnamonine s'explique par des raisonnements analogues—quant à celui de la vincamine, son examen montre de remarquables analogies avec les précédents, ce qui confirme la communauté structurale. Il y a d'abord le pic moléculaire à 354 en accord avec la formule brute $C_{21}H_{26}O_3N_2$ et les autres pics sont interprétés dans la publication.

ACQUISITIONS DANS LE DOMAINE DES ALCALOÏDES DES APOCYNACÉES

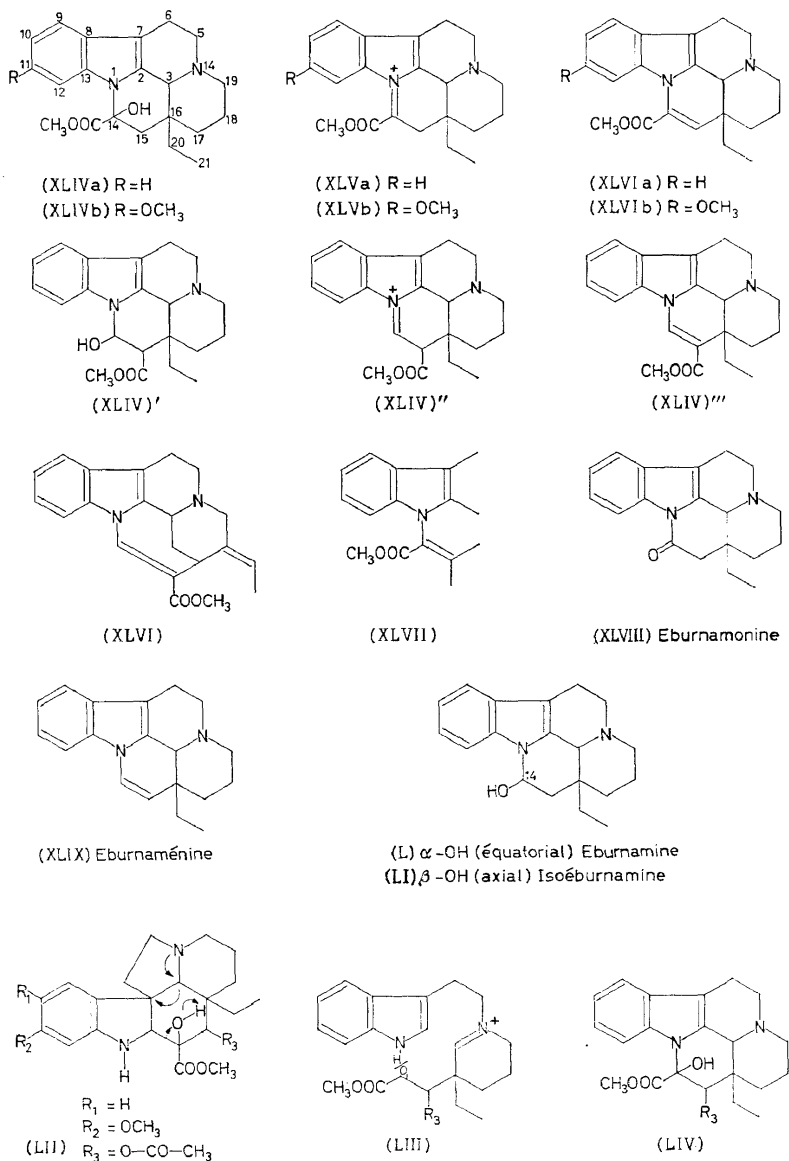


Figure 17

Les pics de masse les plus élevés du spectre de l'apovincamine (XLVIa) = (XLIXa) correspondent exactement aux pics du spectre de l'éburnaménine avec un décalage de 58 unités de masse dû à la persistance du groupement carbométhoxyle.

Les mécanismes invoqués sont ici (LVb), (LVIIIb), (LVIXb) et (LVIIb).

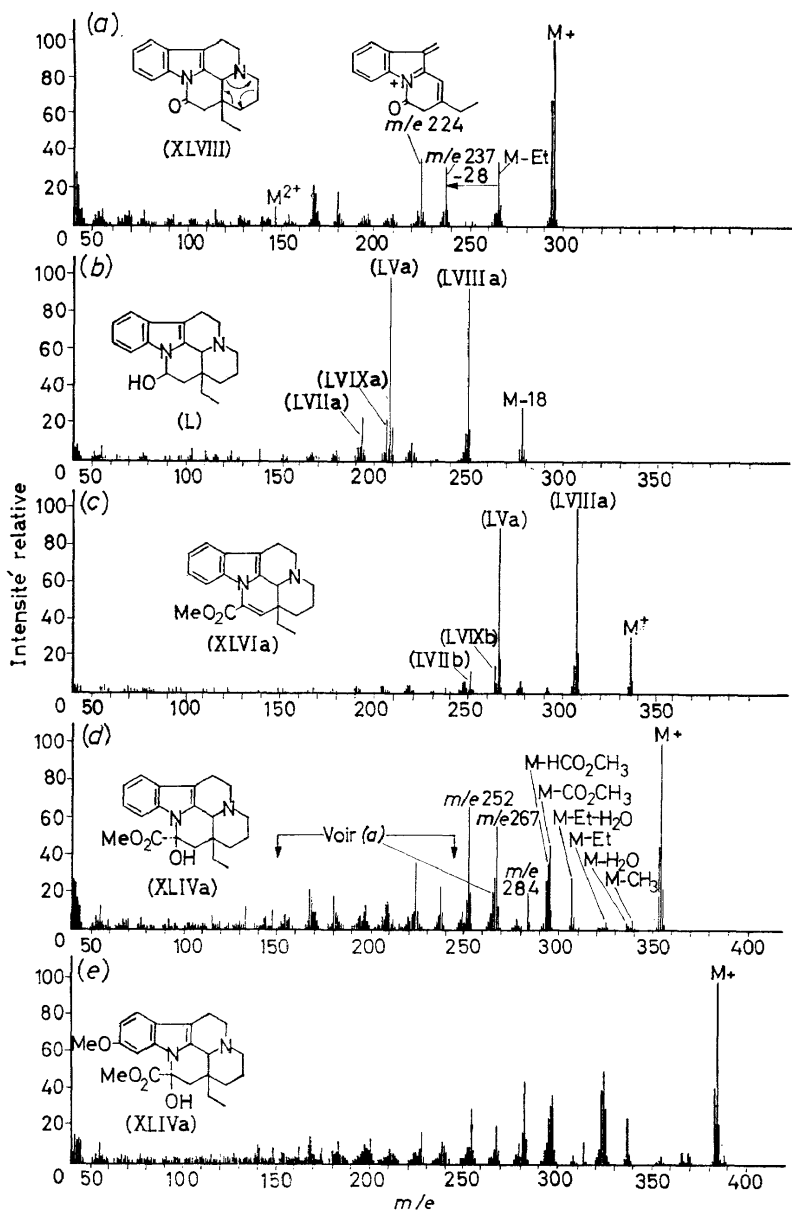


Figure 18

Tout ceci confirme le squelette mais ne permet pas le choix entre (XLIVa) et (XLIV)' pour la vincamine (Figure 17).

Le spectre R.M.N. doit donner la solution. En effet le carbone-14 est différent dans les deux formules: dans le premier cas—il n'y a pas de proton—alors que dans (XLIV)' il y en a un.

ACQUISITIONS DANS LE DOMAINE DES ALCALOÏDES DES APOCYNACÉES

Or le spectre R.M.N. de la vincamine est très voisin de celui de l'iso-éburnamine (LI)—dans le spectre de celle-ci il y a en particulier un signal à δ : 6,07 qui correspond au proton porté par le carbone-14. Or ce signal manque dans le spectre R.M.N. de la vincamine; donc celle-ci a la structure (XLIVa) et non (XLIV)' et la structure des auteurs tchèques est la bonne.

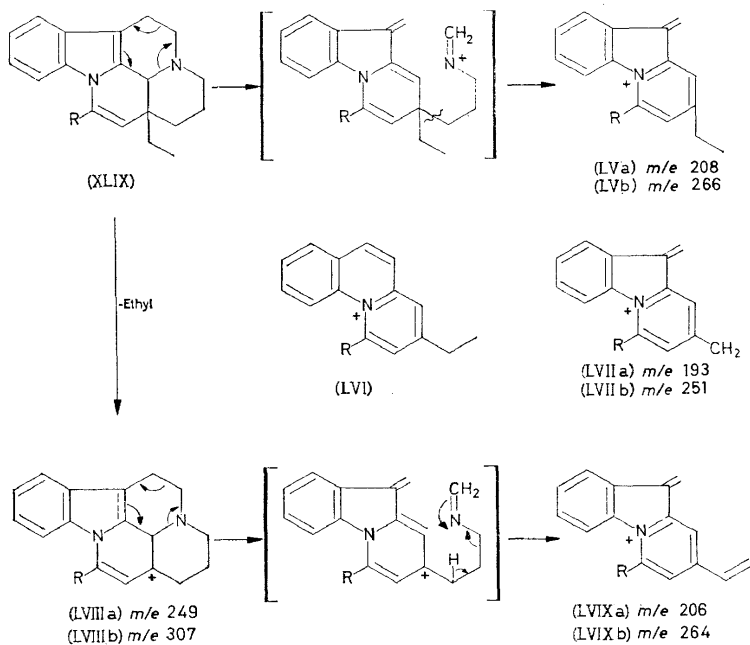


Figure 19

Les mêmes raisonnements peuvent s'appliquer à la détermination de la méthoxy-11-vincamine alcaloïde qui accompagne la vincamine, en remplaçant a par b dans la *Figure 17*.

Au cours de cette étude, la chimie classique de dégradation ainsi que la physique des spectres ultra-violet et infra-rouge auront encore tenu une place inévitable, mais il faut convenir que l'introduction de la spectrométrie de masse permet, sous contrôle de la résonance magnétique nucléaire d'arriver au résultat cherché avec un gain considérable de temps et de matière.

Les chimistes ne doivent pas se décourager car pour reconnaître par la physique il faut d'abord connaître par la chimie.

Références

- ¹ N. G. Bisset, *Ann. Bogor.* **3**, 105 (1958); **4**, 65 (1961).
- ² G. C. Casinovi, J. A. Garbarino, et G. B. Marini-Bettolo. *Chem. & Ind. (London)* **1961**, 253.
- ³ C. Djerassi, J. P. Kutney, M. Shamma, J. N. Shoolery, et L. F. Johnson. *Chem. & Ind. (London)* **1961**, 210.
- ⁴ C. Djerassi, J. P. Kutney, et M. Shamma. *Tetrahedron* **18**, 183 (1962).
- ⁵ C. G. Casinovi, F. Dellemonache, et G. B. Marini-Bettolo, *Ind. chim. belge* **27**, 527 (1962).
- ⁶ R. Goutarel. *Bull. soc. chim. France* **1960**, 769; *Tetrahedron* **14**, 126 (1961); *Alcaloïdes stéroïdiques des Apocynacées*, Hermann et Pergamon ed., Vol. 1 (1963).

- ⁷ R. D. Haworth et M. Michael. *J. Chem. Soc.* **1957**, 4973.
- ⁸ M.-M. Janot, Q. Khuong-Huu, et R. Goutarel. *Compt. rend.* **246**, 3076 (1958); **248**, 982 (1959).
- ⁹ M.-M. Janot, Françoise Lainé, et R. Goutarel. *Ann. pharm. franc.* **18**, 673 (1960).
- ¹⁰ M.-M. Janot, Françoise Lainé, Q. Khuong-Huu, et R. Goutarel. *Bull. soc. chim. France* **1962**, 111.
- ¹¹ M.-M. Janot, Françoise Lainé, et R. Goutarel. *Bull. soc. chim. France* **1962**, 648.
- ¹² M.-M. Janot, A. Cavé, et R. Goutarel. *Bull. soc. chim. France* **1959**, 896; *Compt. rend.* **251**, 559 (1960).
- ¹³ A. Cavé, J. A. Deyrup, R. Goutarel, N. J. Leonard, et X. G. Monseur. *Ann. pharm. France* **20**, 283 (1962);
R. Dynayer, A. Cavé, et R. Goutarel. *Compt. rend.* **253**, 2994 (1961);
A. Cavé. *Thèse Doct. Sci.*, Paris (1962).
- ¹⁴ M.-M. Janot, X. Monseur, C. Conreur, et R. Goutarel. *Bull. Soc. chim. France* **1962**, 285
- ¹⁵ R. A. Lucas, D. F. Sickel, R. L. Dziemian, M. J. Ceglowski, B. L. Hensle, et H. B. MacPhillamy. *J. Am. Chem. Soc.* **82**, 5688, (1960).
- ¹⁶ J. Le Men. *Bull. soc. chim. France* **1960**, 860.
- ¹⁷ M.-M. Janot, Q. Khuong-Huu, et R. Goutarel. *Compt. rend.* **254**, 1326 (1962).
- ¹⁸ M.-M. Janot, Q. Khuong-Huu, et R. Goutarel. *Compt. rend.* **250**, 2445 (1960);
G. Khuong-Huu. *Thèse Doct. Sci.*, Paris (1960).
- ¹⁹ V. Cerny, L. Labler, et F. Šorm. *Collection Czechoslov. Chem. Commun.* **22**, 76 (1957).
- ²⁰ A. Quevauviller et Françoise Lainé. *Ann. pharm. franc.* **18**, 678 (1960).
- ²¹ D. Bovet, W. Scomamiglio, et Françoise Lainé. Communication privée (1962).
- ²² R. Goutarel. *2ème Symposium international sur la Chimie des produits naturels*, Prague, 27 Août (1962).
- ²³ T. A. Henry. *J. Chem. Soc.* **1932**, 2759.
- ²⁴ M.-M. Janot et J. Le Men. *Experientia* **11**, 343 (1955).
- ²⁵ Yolande Gabbai, *Thèse Doct. Univ. Pharm.*, Paris (1958).
- ²⁶ M.-M. Janot, J. Le Men, et Y. Hammouda. *Compt. rend.* **243**, 85 (1956).
- ²⁷ M.-M. Janot, J. Le Men, et C. Fan. *Compt. rend.* **247**, 2375 (1958).
- ²⁸ Janine Gosset, J. Le Men, et M.-M. Janot. *Bull. soc. chim. France* **1961**, 1033.
- ²⁹ N. Defay, M. Kaisin, J. Pecher, et R. H. Martin. *Bull. soc. chim. Belges* **70**, 475 (1961).
- ³⁰ M.-M. Janot, J. Le Men, J. Gosset, et J. Levy. *Bull. soc. chim. France* **1962**, 1079.
- ³¹ M. F. Bartlett, R. Sklar, et W. I. Taylor. *J. Am. Chem. Soc.* **82**, 3790 (1960);
M. F. Bartlett, R. Sklar, W. I. Taylor, R. L. S. Amai, et E. Wenkert. *J. Am. Chem. Soc.* **82**, 3792 (1960).
- ³² M. F. Bartlett, R. Sklar, W. I. Taylor, E. Schlittler, R. L. S. Amai, P. Beak, N. V. Bringi, et E. Wenkert. *J. Am. Chem. Soc.* **84**, 622 (1962).
- ³³ J. Levy, J. Le Men, et M.-M. Janot. *Compt. rend.* **253**, 131 (1961).
- ³⁴ Janine Gosset, J. Le Men, et M.-M. Janot. *Ann. pharm. franc.* **20**, 448 (1962).
- ³⁵ C. Djerassi, H. Budzikiewicz, J. M. Wilson, Janine Gosset, J. Le Men, et M.-M. Janot. *Tetrahedron Letters* No. 6, 235 (1962).
- ³⁶ K. Biemann, M. Friedmann-Spiteller, et G. Spitteller. *Tetrahedron Letters* 458 (1961).
- ³⁷ E. Schlittler, et A. Furlenmeier. *Helv. Chim. Acta* **36**, 2017 (1953);
D'après Z. Cekan, J. Trojanek, et E. J. Zabolatnaya. *Tetrahedron Letters* No. 18, **11** (1959)
la minorité de ce dernier auteur serait identique à la vincamine, la note la concernant étant de 1950.
- ³⁸ J. Trojanek, O. Strouf, J. Holubek, et Z. Cekan. *Tetrahedron Letters* **20**, 702 (1961).
- ³⁹ Monique Plat, Duc Dohkac Manh (Mme), J. Le Men, M.-M. Janot, et H. Budzikiewicz, J. M. Wilson, L. J. Durham, et C. Djerassi. *Bull. soc. chim. France* **1960**, 1082.
- ⁴⁰ W. F. Bartlett et W. I. Taylor. *J. Am. Chem. Soc.* **72**, 5941 (1960).