

Isolement de Nb-méthylantirhine, malindine et isomalindine à partir du *Strychnos usambarensis*

The isolation of Nb-methyl-antirhine, malindine and isomalindine from *Strychnos usambarensis*

M. Caprasse¹, D. Tavernier², M. J. O. Anteunis² et L. Angenot^{1,3}

Abstract: Three quaternary alkaloids have been isolated from root barks of *Strychnos usambarensis* Gilg from Rwanda: malindine, isomalindine and Nb-methyl-antirhine.

The structure elucidation and the stereochemistry of the new isomalindine has been proposed based on its spectral data and their comparison with those of malindine, its isomer.

Introduction

Des racines du *Strychnos usambarensis* ont été isolés de nombreux alcaloïdes de différents types. Parmi ceux-ci, on distingue quatre alcaloïdes tertiaires et un nombre plus important

d'alcaloïdes quaternaires et de bases anhydronium. Poursuivant les travaux entrepris sur l'étude de ces alcaloïdes polaires (1), nous relatons dans ce travail l'isolement de trois bases quaternaires: la malindine récemment découverte dans le *S. decussata* (2); son isomère, rencontré pour la première fois et que nous avons appelé isomalindine, et la Nb-méthylantirhine, identifiée pour la seconde fois dans une plante du genre *Strychnos* (3).

Resultats et Discussion

Lors d'une séparation chromatographique sur colonne de cellulose, deux alcaloïdes (ismalindine et Nb-méthylantirhine) ont cristallisé spontanément dans les fractions d'élution.

Par contre, la purification de la malindine fut plus laborieuse et nécessita plusieurs systèmes de chromatographie („DCCC“ et colonne de cellulose).

¹ Laboratoire de Pharmacognosie, Institut de Pharmacie de l'Université de Liège, Belgique

² Department of Organic Chemistry, NMR Spectroscopic Unit, Rijks-universiteit Gent, Belgium

³ Adresse: Prof. Dr. Luc Angenot, Service de Pharmacognosie, Institut de Pharmacie de l'Université de Liège, Rue Fusch 5, B-4000 Liège (Belgique)

Malindine et Isomalindine (fig. 1)

Les spectres UV strictement semblables de ces deux alcaloïdes caractérisent un chromophore indolique non substitué, masquant partiellement l'absorption du chromophore pyridinique 3-4 disubstitué (épaulement à 265 nm) (2).

Leurs spectres de masse en désorption de champ indiquent un PM égal à 304. La fragmentation identique des spectres de masse (EI), typique d'un dérivé de tétrahydro- β -carboline (m/z : 156, 169, 170) confirme l'isométrie des deux alcaloïdes. La

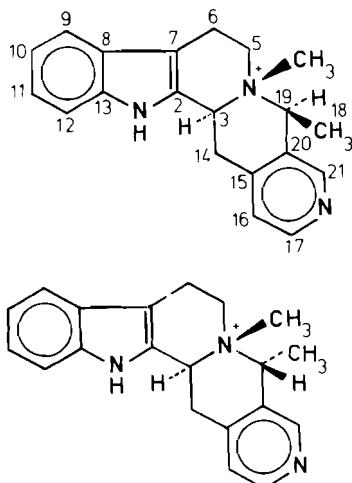


Fig. 1. Malindine
Isomalindine

présence d'un seul méthyle ammonium quaternaire et d'une masse moléculaire paire révèle la présence d'un nombre impair d'atomes d'azote auquel nous pouvons attribuer le chiffre 3 par déduction des données spectrales. L'ion $m/z = 118$ est attribué à la rupture des liaisons C19-N4 et C3-C14 libérant le fragment pyridinique.

Les spectres RMN¹H sont également très semblables. Ils mettent en évidence 7 protons aromatiques dont 3 pyridiniques, un groupe CH-Me, un N⁺Me, un groupe CH₂-CH = et une chaîne -CH₂-CH₂.

Toutes ces observations sont en parfait accord avec la structure plane rapportée pour la malindine (2). Cette structure a été confirmée pour un des alcaloïdes par comparaison CCM avec la malindine de référence.

Il restait à déterminer la stéréochimie de l'isomalindine. Une jonction C/D de type trans-quinolizidine (déplacement chimique du Nb-méthyle vers les hauts champs) (4) et une configuration du C-3 en α (spectre DC positif dans tout le chromophore de l'indole) (5, 6) sont communes aux deux alcaloïdes. L'isométrie se situe donc au niveau de la configuration du C19. La comparaison des valeurs des déplacements chimiques du spectre RMN¹³C des deux produits, notamment du C3, a permis de déterminer sans équivoque la configuration du C19 des deux alcaloïdes, l'un possédant le méthyle 18 en β (malindine) et l'autre en α (isomalindine) (voir tableau).

On constate un blindage du C3 ($\delta = 67.5$ ppm) dans l'isomalindine par rapport à la malindine ($\delta = 59.1$ ppm) manifestation de l'effet „ γ upfield“ bien connu; un effet semblable a été rapporté pour les dérivés cis-4-méthyl-Nb-méthylquinolizidine (2, 7).

L'interprétation des spectres a été réalisée principalement par comparaison avec le spectre de la malindine de référence. Seuls les déplacements du C13 et du C20 s'écartent des valeurs

Tableau I. Déplacements chimiques RMN¹³C de la malindine et de l'isomalindine

	1	2
C2	125.6*	d 126.0*
3	67.5	d 59.1
5	61.6	t 61.6
6	18.9	t 20.2
7	107.2	s 106.8
8	127.7*	s 127.8*
9	120.3	d 120.2
10	122.0	d 121.9
11	125.0	d 124.9
12	113.5	d 113.5
13	131.1	s 132.5
14	28.7	t 29.0
15	150.7	d 151.3
16	128.1	s 128.4
17	142.4	s 141.3
18	14.3	q 18.0
19	70.5	d 70.5
20	150.3	d 150.2
21	140.0	s 140.0
N-Me	35.1	q 42.7

1 Malindine, CD₃OD; 50.29 MHz

2 Isomalindine, CD₃OD; 50.29 MHz

* Valeurs échangeables dans une même colonne verticale

rapportées (2). Disposant des deux isomères, l'attribution des signaux du C3 et du C19 a été précisée. Les configurations du Me18 des deux isomères sont aisément confirmées par comparaison de leurs spectres RMN¹H. En effet, un déblindage du H3 de l'isomalindine s'explique par la position axiale du méthyle 18 tandis que la substitution équatoriale de ce dernier dans la malindine est responsable du déplacement vers les bas champs du H21.

Nb-méthylantirhine (fig. 2)

Les spectres de masse, UV, IR de l'alcaloïde isolé sont en parfait accord avec ceux de la Nb-méthylantirhine (3) à savoir: – les fragments caractéristiques d'une Nb-méthyl-tétrahydro- β -carboline m/z (156, 169, 184, 197) – les ions à $m/z = 223, 225$ ($M^+ - 71 - 15$), à 296 ($M^+ - 15$), à 311 (M^+) – les bandes d'absorption typiques d'un indole non substitué – l'absorption à 920 cm⁻¹ caractéristique d'une chaîne vinylique. Cette structure plane a été confirmée par RMN¹H (signaux caractéristiques d'une chaîne vinylique à 5,2 et 5,7 ppm, d'un N-méthyle quaternaire à 3,38 ppm, d'un indole non substitué) et par acétylation du produit à froid.

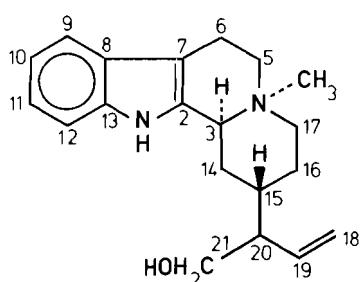


Fig. 2. Nb-méthylantirhine

Un spectre DC positif dans tout le chromophore de l'indole [6] et le déplacement chimique du Nb-méthyle en RMN¹H vers les bas champs (3,38 ppm) [4] permettent d'attribuer à cet alcaloïde la stéréochimie 3 α cis. La configuration H15 β est établie selon l'hypothèse biogénétique de Wenkert et Bringi en tenant compte de la liaison Nb-C17 (type vallesiachotamane). En outre, la comparaison CCM et RMN¹H avec le produit de méthylation de l'antirhine de référence confirme la similitude de configuration des deux produits, d'autant plus que l'obtention d'un seul dérivé de méthylation est également en faveur d'une jonction C/D cis (3, 8).

La malindine et l'isomalindine constituent les premiers exemples d'alcaloïdes triazotés dans le *Strychnos usambarensis*.

Par ailleurs, malindine et isomalindine résultant d'une cyclisation C19-N4 sont les premiers représentants d'une nouvelle lignée biogénétique dérivant directement des glucoalcaloïdes indoliques.

La présence de la Nb-méthylantirhine dans le *S. usambarensis* peut surprendre étant donné la configuration β du H15; les autres alcaloïdes isolés du *S. usambarensis* dérivent essentiellement du type Corynanthe et selon la règle de Wenkert et Bringi, une configuration en α du H15 leur a été attribuée. C'est en effet la première fois qu'un alcaloïde de type vallesiachotamine est isolé du *S. usambarensis*.

En dépit de la possibilité d'un artefact pour cette molécule (9), il est intéressant de souligner la richesse alcaloïdique du *S. usambarensis*, non seulement quantitative mais aussi qualitative, vu la diversité de type d'alcaloïdes indoliques qu'il renferme.

Partie Expérimentale

Matériel étudié: racines du *Strychnos usambarensis* Gilg, décrit précédemment (10).

Extraction et purification

Isomalindine et Nb-méthylantirhine

Une nouvelle prépurification sur colonne de cellulose d'un extrait brut des racines contenant l'ensemble des alcaloïdes polaires a été réalisée selon le procédé utilisé précédemment (10, 11).

Lors de l'élution par la méthyléthylcétone saturée d'eau, contenant un gradient de méthanol (2 à 100 %), l'isomalindine et la Nb-méthylantirhine ont cristallisé spontanément en fines aiguilles à partir des fractions 4 et 8 respectivement.

Les deux alcaloïdes lavés avec le solvant d'élution ont été ensuite séchés à 40° C sous vide.

Malindine

La fraction 11 provenant de la séparation sur colonne de cellulose décrite ci-dessus a été soumise à deux chromatographies „DCCC“ successives, dans les systèmes de solvants suivants:

- 1) Benzène : chloroforme : méthanol : HCl 0.1 N: 11:5:10:4 (phase mobile = phase supérieure)
- 2) n-Butanol : acétone : eau: 33:10:50 (phase mobile = phase inférieure).

Les fractions contenant la malindine ont été rassemblées et ensuite soumises à une dernière purification sur colonne de cellulose (solvent d'élution: acétate d'éthyle : pyridine : eau (75:23:16.5).

Caractères physico-chimiques

Isomalindine ($C_{20}H_{22}N_3$)

L'isomalindine a cristallisé en fines aiguilles blanches; elle est révélée en jaune par Ce(SO₄)₂ 1 % dans H₂SO₄ 10 % et en gris par FeCl₃/HClO₄ après 5 min. de chauffage.

Rf = 0,3, 0,45 dans les systèmes acétate d'éthyle : isopropanol : NH₄OH 1,5 % 45:35:20 et CH₃OH : CHCl₃ : NH₄OH 25 % 3:7:1.

UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (log ε): 290 (3,91), 282 (3,98), 279 (3,99), 273 ép. (4,02), 268 (4,05), 265 ép. (4,02), 222 (4,52).

IR $\tilde{\nu}_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 3500, 3450, 3300, 3200, 1600, 1460, 1445, 1430, 1415, 1340, 1315, 1235, 1080, 1050, 1035, 1015, 920, 845, 760 cm⁻¹.

SM 250°, 70 eV, m/z (ab. relat. en pourc. du pic de base) 106 (31), 115 (16), 117 (12), 118 (10), 120 (15), 121 (20), 130 (18), 135 (21), 136 (26), 137 (20), 143 (46), 144 (33), 154 (6), 155 (5), 156 (9), 158 (6), 159 (7), 168 (12), 169 (55), 170 (21), 182 (7), 218 (8), 243 (12), 245 (23), 246 (11), 257 (14), 259 (15), 260 (16), 272 (100), 273 (32), 274 (83), 288 (67), 289 (M⁺ -15; 73), 290 (18), 303 (M⁺ -1; 12), 304 (M⁺; 4).

RMN¹H Bruker 360 MHz, CD₃OD, TMS, δ (ppm): 8,57 (H21; s), 8,53 (H17; d; ³J_{H17-H16} = 5,2 Hz), 7,57 (H9; d; ³J_{H9-H10} = 7,75 Hz), 7,48 (H16; d), 7,44 (H12; d; ³J_{H12-H11} = 8 Hz), 7,21 (H11; t; ³J_{H11-H10} ≈ 7,5 Hz), 7,11 (H10; t), 5,64 (H3; m; ³J_{H3-H14B} = 18,7 Hz; ³J_{H3-H14A} = 5 Hz), 5,16 (H19; q; ³J_{H19-Me18} = 6,9 Hz), 3,97 (H14B; m; ²J_{H14B-H14A} = 12,5 Hz), 3,37 (H14A; m), 3,11 (Nb-Me; s), 1,93 (Me18; d).

DC MeOH: Δε_{266 nm} = +4,7; Δε_{261 nm} = +4,6.

Malindine ($C_{20}H_{22}N_3$)

Poudre blanche; elle est révélée en jaune par Ce(SO₄)₂ 1 % dans H₂SO₄ 10 % et en gris par FeCl₃/HClO₄ après 5 min. de chauffage.

Rf = 0,28, 0,43 dans les systèmes acétate d'éthyle : isopropanol : NH₄OH 1,5 % 45:35:20 et CH₃OH : CHCl₃ : NH₄OH 25 % 3:7:1.

UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (log ε): 290 (3,83), 282 (3,90), 279 (3,90), 271 ép. (3,92), 268 (3,94), 264 ép. (3,92), 222 (4,46).

IR $\tilde{\nu}_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 3450, 3150, 1640, 1600, 1570, 1450, 1440, 1420, 1315, 1305, 1270, 1240, 1045, 1005, 920, 900, 840, 760 cm⁻¹.

SM 250° C, 70 eV, m/z (ab. relat. en pourc. du pic de base) 118 (53), 119 (120), 130 (12), 136 (15), 137 (51), 143 (28), 144 (27), 156 (9), 157 (8), 158 (9), 168 (7), 169 (64), 170 (24), 245 (21), 260 (11), 272 (32), 273 (11), 274 (100), 288 (67), 289 (M⁺ -15; 95), 290 (19), 303 (M⁺ -1; 3), 304 (M⁺; 0,6).

RMN¹H Bruker 360 MHz, CD₃OD, TMS, δ (ppm): 8,72 (H21; s), 8,57 (H17; d; ³J_{H17-H16} = 5,2 Hz), 7,56 (H9; d; ³J_{H9-H10} = 7,75 Hz), 7,49 (H16; d;), 7,43 (H12; d; ³J_{H12-H11} = 8,0 Hz), 7,22 (H11; t; ³J_{H11-H10} ≈ 7,5 Hz), 7,12 (H10; t), 5,5 (H3; m; ³J_{H3-H14B} ≈ 18,4 Hz; ³J_{H3-H14A} = 5 Hz), 5,23 (H19; q; ³J_{H19-Me18} = 6,6 Hz), 3,92 (H14B; m; ²J_{H14B-H14A} ≈ 12 Hz), 3,45 (H14A; m), 2,94 (Nb-Me; s), 2,08 (Me18; d; ³J_{Me18-H19} = 6,6 Hz).

DC MeOH: Δε_{279 nm} = +0,6 Δε_{265 nm} = +1,4.

Nb-méthylantirhine ($C_{20}H_{27}N_2O$)

La Nb-méthylantirhine a cristallisé en fines aiguilles blanches; elle est révélée en gris par FeCl₃/HClO₄ après 5 min. de chauffage.

Rf = 0,31 dans le système acétate d'éthyle : isopropanol : NH₄OH 1,5 % 45:35:20.

UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ε): 289 (3,69), 281 ép. (3,79), 278 (3,79), 272 (3,80), 268 ép. (3,80), 220 (4,41).

IR $\tilde{\nu}_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 3275, 3150, 2880, 1640, 1470, 1450, 1370, 1345, 1310, 1300, 1240, 1200, 1170, 1100, 1065, 1035, 1010, 960, 920, 760 cm⁻¹.

SM 250° C, 70 eV, m/z (ab. relat. en pourc. du pic de base): 115 (17), 130 (21), 143 (23), 144 (26), 154 (19), 156 (33), 168 (41), 169 (41), 170 (23), 180 (13), 182 (15), 183 (15), 184 (26), 196 (15), 197 (20), 223 (86), 225 (100), 265 (16), 279 (5), 295 (62), 296 (M⁺ -15; 38), 310 (M⁺ -1; 10), 311 (M⁺; 3).

RMN¹H Bruker 360 MHz, CD₃OD, TMS, δ (ppm): 7,50 (H9; d), 7,40 (H12; d), 7,18 (H11; t), 7,08 (H10; t), 5,7 (H19; m; ³J_{H19-H20} ≈ 9 Hz), 5,2 (2H18; m), 5,02 (H3; s él.; W^{1/2} = 10 Hz), 3,93 (H5A; m; ²J_{H5A-H5B} ≈ 12,4 Hz), 3,85 (H5B; m), 3,7 (H17A; m), 3,62 (2H21; d), 3,38 (Nb-Me; s), 3,24 (H6A; m; ²J_{H6A-H6B} = 16 Hz), 3,11 (H6B; m), 2,56 (H14A; m; ²J_{H14A-H14B} = 12 Hz; ³J_{H14A-H3} ≈ 4,8 Hz), 2,37 (H14B; m; ³J_{H14B-H3} ≈ 4,8 Hz), 2,44 (H20; m), 1,82 (2H16; m), 1,66 (H15; m; W ≈ 40 Hz).

DC MeOH: Δε_{266 nm} = +2,1.

Remerciements

Nous adressons nos plus vifs remerciements au Prof. N. G. Bisset (Chelsea College) pour l'envoi d'un échantillon d'antirhine de référence ainsi qu'au Dr. R. Verpoorte (Université de Leiden) pour l'obtention des spectres FDMS et la réalisation des CCM comparatives des malindines.

M. C. remercie le Fonds National de la Recherche Scientifique qui lui a accordé un mandat d'aspirant.

Références

- (1) Caprasse, M., Coune, C., Angenot, L. (1981) J. Pharm. Belg. 36, 243.
- (2) Olaniyi, A. A., Rolfsen, W. N. A., Verpoorte, R. (1981) Planta Med. 43, 353.
- (3) Bisset, N. G., Phillipson, J. D. (1974) Phytochemistry 13, 1265.
- (4) Moyneman, T. M., Schofield, K., Jones, R. A. Y., Katritzky, A. R. (1962) J. Chem. Soc. 2637.
- (5) Bartlett, L., Dastoor, N. I., Hrbek, Jr., J., Klyne, W., Schmid, H., Snatzke, G. (1971) Helv. Chim. Acta 54, 1238.
- (6) Töth, G., Hetényi, F., Clauder, O. (1978) Liebigs Ann. Chem. 1096.
- (7) Sugiura, M., Sasaki, Y. (1976) Chem. Pharm. Bull. 24, 2988.
- (8) Sawa, Y. K., Matsumura, H. (1969) Tetrahedron 25, 5319.
- (9) De Silva, K. T. D., Smith, G. N., Warren, H. E. H. (1971) Chem. Comm. 905.
- (10) Angenot, L.: Contribution à l'étude du *Strychnos usambarensis* Gilg, principal constituant d'un poison de flèche curarisant africain. Thèse de Doctorat en Sciences pharmaceutiques. Université de Liège (1973). Dissertation Abstracts International, 34, nr 11 (1974).
- (11) Angenot, L., Dubois, M., Ginon, C., van Dorsser, W., Dresse, A. (1975) Arch. Intern. Pharmacodyn. Ther., 215, 246.