

## DIDÉHYDRO-16,17 ISOSTRYCHNOBILINE, NOUVEL ALCALOÏDE BISINDOLINIQUE ASYMÉTRIQUE DU *STRYCHNOS VARIABILIS*

par

Monique TITS (\*), Luc ANGENOT (\*) et Dirk TAVERNIER (\*\*)

### SUMMARY

**16,17-didehydroisostrychnobiline, new unsymmetrical bisindole alkaloid from *Strychnos variabilis***

We describe a new unsymmetrical bisindole alkaloid, 16,17-didehydroisostrychnobiline, that was isolated by reverse phase liquid chromatography from the root barks of *S. variabilis*. Its structure was elucidated from spectral analysis and by acid hydrolysis. Its stereochemistry was established by 360 MHz  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy.

### INTRODUCTION

Nous avons décrit antérieurement 5 alcaloïdes bisindoliniques isolés des racines du *S. variabilis* (fig. 1). Parmi ces molécules, dérivées du squelette strychnane, seule la nordihydrotoxiférine — à structure symétrique — était connue; les autres forment le nouveau groupe d'alcaloïdes dimères asymétriques que nous désignons sous le vocable général «strychnobilines» (1, 2, 3). Un sixième alcaloïde bisindolinique est décrit dans cette note. Il s'agit de la didéhydro-16,17 isostrychnobiline présentant une structure plane proche des «strychnobilines» mais possédant une double liaison entre les carbones 16 et 17 (fig. 2).

### DISCUSSION

Tandis que les «strychnobilines» se colorent en pourpre virant au jaune-orangé avec le  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2/\text{H}_2\text{SO}_4$ , le nouvel alcaloïde se colore en violet et vire au gris-bleu après quelque temps, ce qui nous faisait soupçonner l'existence d'une modification structurale autre que stéréochimique.

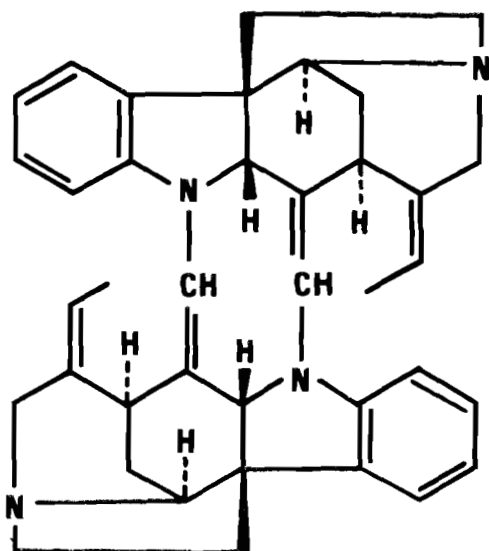
L'analyse des spectres UV, IR, SM et RMN  $^1\text{H}$  nous a cependant permis d'établir une relation étroite entre cette nouvelle molécule et les autres dimères asymétriques du *S. variabilis*.

- leurs spectres UV et IR sont similaires
- le SM de didéhydro-16,17 isostrychnobiline indique un PM à  $m/z$  612. Dans les «strychnobilines», la rupture de la liaison C17'-C16' forme deux fragments de masse égale à  $m/z$  307. Pour le nouvel alcaloïde, on observe l'apparition d'un pic à  $m/z$  305, d'intensité presque équivalente à celui de  $m/z$  307. Les pics à  $m/z$  121, 122, 130, 143, 144 et 293 sont caractéristiques d'une fragmentation de type strychnane
- le spectre RMN  $^1\text{H}$  comparé à ceux des «strychnobilines» montre de nombreux éléments communs. Nous y relevons les signaux aisément groupables de deux régions C21-C20-C19-C18 ( $\text{CH}_2\text{-C}=\text{CH-CH}_3$ ), de deux régions C3-C14-C15 ( $\text{CH-CH}_2\text{-CH}$ ) et d'une seule région C2'-C16'-C17' ( $\text{CH-CH-CH}$ ). Les caractéristiques pour le nouveau dimère sont d'une part l'absence d'un second proton 16 et d'autre

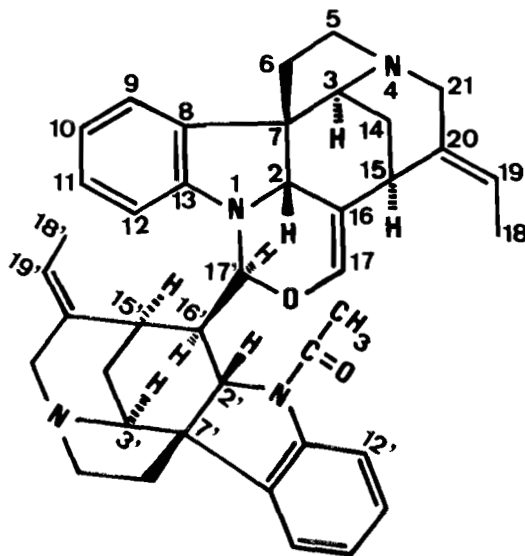
(\*) Laboratoire de Pharmacognosie, Institut de Pharmacie de l'Université de Liège, rue Fusch 5, B-4000 Liège, Belgium.

(\*\*) Department of Organic Chemistry, NMR Spectroscopic Unit, Rijksuniversiteit Gent, Krijgslaan 281 (S4bis), B-9000 Gent, Belgium.

part, l'apparition d'un doublet à 6.23  $\delta$  faiblement couplé ( $\approx 1.2$  Hz) avec un signal élargi à 3.78  $\delta$ . Nous attribuons le doublet au H17 (en  $\alpha$  d'un oxygène et donc sérieusement déblindé) et le second signal au H2. Tout ceci est en bon accord avec la formule proposée (fig. 2).



Nordihydrotoxiférine  
Fig. 1a



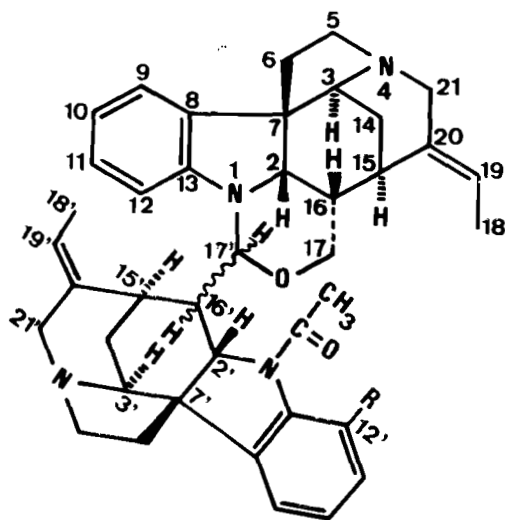
Didéhydro-16,17 isostrychnobiline  
Fig. 2

L'hypothèse structurale est confirmée par une hydrolyse en milieu acide (HCl 2N). On retrouve d'une part la paire de diastéréoisomères «isorétulinal  $\rightleftharpoons$  rétulinal» (5) et d'autre part, les molécules correspondant à cette paire désacétylée.

Envisageons à présent la conformation de cette molécule. La détermination de configuration des carbones asymétriques 2,3,7 et 15 dans les deux parties du dimère est basée sur l'hypothèse biogénétique. Quant à celle des carbones 16' et 17', elle résulte d'un examen plus détaillé du spectre RMN  $^1\text{H}$  et particulièrement de sa comparaison avec ceux des «strychnobilines».

Nous attribuons au 16' la configuration *R* sur la base des observations suivantes:

- les valeurs des constantes de couplages  $J_{216}$  (10.6 Hz) et  $J_{1615}$  (3.2 Hz) supérieures pour les alcaloïdes de série «isorétuline» (16*R*) à celles de la série «rétuline» (16*S*) (4);
- l'établissement d'une conformation chaise pour le cycle D' rencontrée dans tous les dérivés strychnane de configuration 16*R* lorsqu'ils sont munis d'une chaîne éthyldénique (4). Cette conformation peut être



Strychnobiline	R=H	16' <i>S</i>	17' <i>R</i>
12'OH strychnobiline	R=OH	16' <i>S</i>	17' <i>R</i>
Isostrychnobiline	R=H	16' <i>R</i>	17' <i>S</i>
12'OH isostrychnobiline	R=OH	16' <i>R</i>	17' <i>S</i>

Fig. 1b

déterminée par l'examen des couplages allyliques et homoallyliques des protons 18 et 19 avec les protons 21 et 15 et donc par l'aspect de certains signaux dont celui du Me18' se présentant sous forme d'un doublet de doublet bien défini et celui du H21'  $\beta$  plus large à mi-hauteur que celui du H21'  $\alpha$ .

Cette configuration établie, il nous reste à discuter celle du 17'. Pour l'isostrychnobiline de même configuration 16' *R*, nous y étions parvenus en nous basant d'une part sur la valeur de  $J_{16'17'}$  et, d'autre part, sur la conformation de toute la molécule. En particulier, le blindage du Me18 était attribué à l'influence du noyau aromatique de l'autre monomère, influence qui pouvait uniquement se faire sentir si le cycle oxazinique était en bateau et ce, en respectant les valeurs de  $J_{16'17A}$ ,  $J_{16'17B}$  et  $J_{16'17'}$ .

Dans le cas du nouvel alcaloïde, on note la position du Me18 à un champ encore beaucoup plus élevé (1.06  $\delta$ ). Ce Me18 subissant aussi l'influence de la chaîne vinylique, il nous est difficile d'établir la part éventuelle de l'influence de l'entité acétylindoline. Dans les «strychnobilines», l'angle dièdre C2-C16-C17-O doit être grand (voir constantes de couplage  $J_{16'17A}$  et  $J_{16'17B}$ ). C'est également vrai pour la geissospermine à l'état solide (7). Par contre, dans la didéhydro-16,17 isostrychnobiline, la double liaison impose un petit angle dièdre dans cette même partie de la molécule. Il en résulte que la comparaison avec les «strychnobilines» s'avère délicate.

Nous avons construit le stéréomodèle moléculaire et envisagé les différentes possibilités pour la configuration du H17'. Puisque  $J_{16'17'}$  est élevée, H17' peut être *syn* ou *anti* par rapport au H16' et se situer en  $\alpha$  ou  $\beta$  de la molécule.

a) H17'  $\beta$  (17' *R*) *syn* par rapport au H16'. Cette conformation moléculaire est impossible car il y a trop d'encombrements.

b) H17'  $\beta$  (17' *R*) *anti* par rapport au H16'. Cette construction est possible quoique très encombrée mais on remarque une très forte influence du noyau aromatique sur la chaîne

éthylidénique de la partie inférieure (Me18' et H19') ce qui ne s'observe pas sur le spectre (pas de déplacement anormal pour ces signaux). Le cycle oxazidinique quant à lui peut être construit avec une conformation bateau ou demi-chaise. Les observations effectuées en a et b sont applicables dans les deux cas.

c) H17'  $\alpha$  (17' *S*) *syn* par rapport au H16'. Cette construction est possible mais comme en b, on remarque que le Me18' se situe dans l'environnement du noyau aromatique de l'autre partie, et ce, indépendamment de la configuration du cycle oxazidinique.

d) H17'  $\alpha$  (17' *S*) *anti* par rapport au H16'. Cette molécule est la moins encombrée parmi toutes celles qui sont envisagées. Si on construit le cycle oxazidinique en bateau, le H17' est axial alors qu'il est équatorial si le cycle prend une conformation demi-chaise. Nous retenons cette seconde possibilité vu la position du H17' à 5.22  $\delta$  (plus déblindé) comme dans l'isostrychnobiline où le H17' est situé à 5.12  $\delta$  dans le cas du rotamère a et à 5.27  $\delta$  dans le cas du rotamère b. Rappelons que dans la strychnobiline, le H17' situé en  $\beta$  de la molécule est plus blindé (4.85 et 4.78  $\delta$  pour les 2 rotamères). De surcroît, c'est dans cette seule forme demi-chaise que l'acétylindoline et le Me18 sont proches l'un de l'autre.

## PARTIE EXPÉRIMENTALE

### Matériel

Il s'agit des écorces de racines du *S. variabilis* DE WILD (specimen Voucher Evrard 6592 - Herbarium du Jardin Botanique de Belgique à Meise). Elles furent récoltées dans la région de Kinshasa au Zaïre.

### Extraction et purification

Si le schéma d'extraction reste similaire à celui décrit précédemment (1), le fractionnement a été effectué par chromatographie liquide en phase inversée. L'extrait obtenu en milieu acétique a été passé sur une colonne Lobar RP 8 préparative.

Parmi les phases testées, nous avons retenu: méthanol - NH<sub>4</sub>Ac 0,02 M/7 - 3 qui permet d'obtenir cet alcaloïde à l'état pur. La didéhydro-16,17 isostrychnobiline est éluee à la suite des monomères présents dans cet extrait, mais avant les autres dimères asymétriques.

### Identification

#### a) Coloration et Rf

Cet alcaloïde se colore directement en violet avec Ce (SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> mais vire rapidement au gris-bleu.

Son Rf est très proche de celui de l'isostrychnobiline notamment dans la phase que nous utilisons habituellement pour ces molécules: acétate d'éthyle - isopropanol - NH<sub>4</sub>OH 4.25%/60 - 25 - 15

Rf de la didéhydro-16,17 isostrychnobiline: 0.61

Rf de l'isostrychnobiline: 0.66.

#### b) Etude spectrale

sm EI 8 KV: m/z 613 (21), 612 (47 M<sup>+</sup> [C<sub>40</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>]), 611 (4), 584 (12), 583 (22), 577 (14), 576 (22), 575 (48), 403 (22), 321 (10), 320 (9), 319 (13), 309 (14), 307 (49), 306 (23), 305 (46), 294 (17), 293 (62), 292 (23), 291 (52), 279 (7), 277 (9), 265 (7), 249 (7), 239 (14), 181 (16), 180 (14), 179 (26), 167 (10), 166 (9), 145 (13), 144 (100), 143 (15), 134 (11), 130 (26), 122 (17), 121 (30), 108 (10), 107 (8), 106 (9), 93 (15), 91 (12), 43 (39). Le spectre effectué en FAB POS nous donne le pic M<sup>+</sup> à m/z 613 (15).

uv  $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 212 (4.32), 250 (3.99), 281 (3.47), 288 (3.5), 302 (3.29, épaulement)

ir  $\tilde{\nu}_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup>: 2930 (C-H), 1660 (amide), 1605 (C=C), 1485, 1460, 1400, 1260, 1020, 765, 755 (benzène O-disubstitué)

rmn <sup>1</sup>H 360 MHz/CDCl<sub>3</sub>/T° ord./TMS = 0. Il y a plus de 90% de rotamère *a* (C=O de l'amide orienté vers le C12). Nous ne signalerons donc que les signaux de ce rotamère majoritaire.

à  $\delta$  7.80 (H12), entre 7.30 et 6.77 (autres protons aromatiques), 6.23 (H17,  $J_{172} = 1.2$  Hz),

5.66 (H19',  $J_{19'18'} = 6.8$  Hz), 5.22 (H17',  $J_{17'16'} = 10.4$  Hz), 5.15 (H19,  $J_{1918} = 6.8$  Hz), 4.25 (H2',  $J_{2'16'} = 10.6$  Hz), 3.89 (H15), 3.78 (H2 W<sub>1/2</sub> = 3 Hz), 3.74 (H21  $\alpha$ ,  $J_{21\alpha21\beta} = 14.8$  Hz), 3.70 (H21'  $\alpha$ ,  $J_{21'\alpha21'\beta} = 14.2$  Hz), 3.58 (H3'), 3.27 (H21'  $\beta$ ), 3.11 (H15'  $J_{15'16'} = 3.2$  Hz,  $J_{15'14'A} = J_{15'14'B} = 3.2$  Hz), 2.86 (H3), 2.69 (H21  $\beta$ ), 2.54 (H16'), 2.26 (H14 A),  $J_{14A14B} = 14.0$  Hz et  $^3J \approx 3.6$  Hz), 2.06 (H14' B), 1.70 (Me18'), 1.64 (H14' A), 1.40 (H14 B), 1.06 (Me18).

### CONCLUSIONS

La didéhydro-16,17 isostrychnobiline est un nouvel alcaloïde bisindolinique dont la purification est le résultat de l'utilisation à l'échelle préparative de la chromatographie liquide en phase inversée (Lobar® RP 8).

La détermination de structure de cette molécule a été facilitée par la comparaison avec les données spectrales des alcaloïdes du groupe des «strychnobiline» et par la construction des stéréomodèles moléculaires (Dreiding®). Cependant, seule une étude par diffraction aux rayons X permettrait de confirmer la configuration spatiale proposée.

Enfin, la didéhydro-16,17 isostrychnobiline se révèle un maillon très intéressant dans l'hypothèse biogénétique des alcaloïdes du *Strychnos variabilis*. Elle pourrait être formée par la condensation de deux produits aldéhydiques en C17, l'un acétylé sur N1, l'autre non acétylé. Ces mêmes aldéhydes, qui s'épimérisent facilement au niveau du C16 à température ambiante, sont le point de départ de différents types de molécules monomères ou dimères (5, 6).

### REMERCIEMENTS

Nous remercions Monsieur DESMET (Service du Professeur G. VAN BINST, Vrije Universiteit Brussel) pour la réalisation des spectres de masse en introduction directe et en FAB positif. L'un d'entre nous (M.T.) remercie l'I.R.S.I.A. qui lui a accordé une bourse post-doctorale.

Reçu en septembre 1983

Prof. Dr Luc ANGENOT  
Service de Pharmacognosie  
Institut de Pharmacie de  
l'Université de Liège  
Rue Fusch 5  
B-4000 Liège (Belgique)

### Résumé

Un nouvel alcaloïde a été isolé du *Strychnos variabilis* à l'aide de la chromatographie liquide en phase inversée. Il s'agit de la didéhydro-16,17 isostrychnobiline, alcaloïde bisindolinique asymétrique dont la structure a été établie par analyse spectroscopique et par l'identification de ses produits d'hydrolyse. La stéréochimie proposée a été déduite de l'étude du spectre RMN  $^1\text{H}$  à champ élevé (360 MHz).

### Samenvatting

Uit de wortelschors van *Strychnos variabilis* werd een nieuw alkaloid geïsoleerd met behulp van

vloeistofchromatografie in omgekeerde fase. Het gaat hier om 16,17-didehydroisostrychnobiline, een asymmetrisch bisindolalkaloïde waarvan de structuur werd bepaald door spectroscopische analyse en door identificering van zijn hydrolyseprodukten. De voorgestelde stereochemie werd afgeleid uit de studie van het  $^1\text{H}$  NMR spectrum (360 MHz).

### Bibliographie

- (1) TITS, M. et ANGENOT, L., *Planta Med.*, **34**, 68 (1978).
- (2) TITS, M., TAVERNIER, D. et ANGENOT, L., *Phytochemistry*, **18**, 515 (1979).
- (3) TITS, M., ANGENOT, L. et TAVERNIER, D., *J. Nat. Prod.* (sous presse) (1983).
- (4) TAVERNIER, D., ANTEUNIS, M.J.O., TITS, M. et ANGENOT, L., *Bull. Soc. Chem. Belg.*, **87**, 595 (1978).
- (5) TITS, M., ANGENOT, L. et TAVERNIER, D., *Tetrahedron Letters*, **21**, 2439 (1980).
- (6) TITS, M., Contribution à l'étude chimique du *Strychnos variabilis*, plante toxique du Bas-Zaïre. Isolement et détermination de structure de nouveaux alcaloïdes indoliques. Thèse de doctorat en sciences pharmaceutiques, Université de Liège (1982).
- (7) CHIARONI, A. et RICHE, C., *Acta Cryst.*, **B35**, 1820 (1978).