

# RMN $^{13}\text{C}$ DES ALCALOÏDES DES *STRYCHNOS*: LES DÉRIVÉS DE L'USAMBARINE, DE LA SARPAGINE ET DE LA MAVACURINE

par

Claude COUNE, Monique TITS et Luc ANGENOT(\*)

## SUMMARY

$^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy of alkaloids isolated from *Strychnos*: derivatives of usambarine, sarpagine and mavacurine

$^{13}\text{C}$  NMR spectra of seven tertiary and quaternary indole alkaloids are recorded and the signals assigned. The data are analysed and categorized with respect to structure correlation. They permit classification and identification of these alkaloids. Moreover the similarity of nigritanin and 18,19-dihydro-usambarine, previously discovered, has been confirmed by this study.

## INTRODUCTION

La RMN du carbone 13 a pour particularité de montrer non seulement les résonances des carbones mais aussi leurs relations avec les protons de la molécule étudiée via les constantes de couplages hétéronucléaires. Ces couplages pouvant être supprimés à volonté, les spectres obtenus deviennent beaucoup plus simples à lire (15). Au premier abord, ces spectres fournissent des éléments de structure (nombre de carbones, présence dans la molécule de carbones particuliers tels des carbonyles, présence de substituants) qui permettent souvent de confirmer des données obtenues par d'autres méthodes spectrométriques.

Ensuite les spectres  $^{13}\text{C}$  fournissent des éléments de stéréochimie. Puisque les carbones constituent le squelette des molécules organi-

ques, ils reflètent en effet de manière sensible la stéréochimie de ces molécules.

On peut ainsi distinguer, sur base des déplacements chimiques, des isomères, épimères ou conformères.

Un dépouillement de la littérature est donc primordial dans l'élucidation de structure des produits organiques et, en particulier, dans le domaine des alcaloïdes indoliques qui intéressent de très nombreux laboratoires pharmaceutiques vu l'intérêt biologique marqué de ce type de molécules (12).

Dans une publication antérieure, nous avons relaté l'importance de la RMN  $^{13}\text{C}$  dans l'étude de structure des alcaloïdes dérivés de l'harmane et de l'usambarensine, en insistant principalement sur l'état d'oxydation du noyau  $\beta$ -carboline et sur les effets de la  $\text{N}_5$ -méthylation (5).

L'intérêt de la RMN  $^{13}\text{C}$  dans l'étude des alcaloïdes faisant l'objet de cette publication se situera plutôt au niveau de la détermination de l'emplacement des substituants, d'une part, et au niveau des questions de stéréochimie, d'autre part.

Si les alcaloïdes dérivés de l'usambarine appartiennent au groupe des alcaloïdes à squelette corynane, les alcaloïdes des types sarpagine et mavacurine s'en différencient par des cyclisations supplémentaires qui leur imposent des conformations de cycle bien particulières. Il est intéressant de voir quelles conséquences ces modifications de conformation apportent

(\*) Extrait de la conférence: «Applications des techniques spectrométriques dans le domaine des produits naturels extraits des Loganiacées» donnée à Bruxelles le 19/10/1981 lors d'une réunion du groupe de contact du F.N.R.S. chargé de la «Recherche de nouveaux agents biologiquement actifs à partir de sources naturelles».

au spectre RMN  $^{13}\text{C}$ , ce qui permettrait dans une certaine mesure d'étendre l'usage diagnostique de la méthode.

## PARTIE EXPÉRIMENTALE

Les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  ont été réalisés sur un appareil Bruker HFX 90 travaillant à 22,63 MHz en transformée de Fourier dans les conditions suivantes: largeur de spectre 6 KHz, largeur d'impulsion 9  $\mu\text{s}$ , nombre de points 16 K, diamètre des tubes 10 mm. Les alcaloïdes ont été examinés en solution saturée dans le solvant repris sur le tableau. Les dépla-

cements chimiques sont exprimés par rapport au TMS avec  $\delta$  (TMS) =  $\delta$  (DMSO- $\text{d}_6$ ) + 39,5 ppm =  $\delta$  ( $\text{CDCl}_3$ ) + 76,9 ppm =  $\delta$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) + 49,5 ppm =  $\delta$  (dioxane) + 67,4 ppm.

Les alcaloïdes 1, 2, 3, 4 ont été extraits des feuilles du *Strychnos usambarensis*, 6 et 7 des racines du *Strychnos variabilis*. L'alcaloïde n° 5 a été fourni gracieusement par la firme INVERNI della BEFFA.

Les résultats repris sur le tableau ont été obtenus sur la base des spectres en découplage total, en découplage off-résonance et le cas échéant, en hétéro-découplage sélectif.

TABLEAU  
Déplacements chimiques RMN  $^{13}\text{C}$  de différents alcaloïdes indoliques \*

Alcaloïde	1	2	3	4	5	6	7
2	132,8	131,1	181,7	179,7	130,9	133,7	74,3
3	58,6	59,5	70,2	72,6	50,3	63,3	72,2
5	58,7	52,8	55,7	56,6	54,8	64,1	66,5
6	20,6	21,3	36,0	33,5	27,2	18,3	34,2
7	105,1	105,3	55,0	53,9	102,6	112,7	201,5
8	127,1	127,6	134,7	134,2*	128,4	127,8	125,8
9	119,1	100,9	123,0	121,6	102,3	120,6	119,1
10	120,5	149,9	107,3	106,5	150,6	122,2	125,8
11	119,9	111,3	155,4	154,9	110,4	124,9	138,8
12	112,6	111,3	96,7	96,2	111,5	112,6	113,1
13	137,6	135,5*	140,0	139,9	140,4	141,4	159,0
14	35,8	33,9	30,1	27,6	34,0	19,7	22,6
15	37,4	35,8	33,6	33,5	27,8	29,1	32,4
16	38,5	41,8	34,7	36,4	44,8	61,3	59,4
17	58,7	58,4	57,4	56,9	63,8	65,3	65,4
18	11,1	117,7	115,2	115,1	12,8	13,1	12,9
19	23,3	139,6	138,4	138,2	115,6	131,8	129,3
20	40,4	47,1	45,8	45,3	137,7	131,8	129,9
21	60,6	60,8	52,3	52,8	55,9	60,5	61,8
2'	132,8	135,6*	133,3	134,0	—	—	—
5'	46,6	49,8	46,0	46,3	—	—	—
6'	17,4	19,4	16,7	18,2	—	—	—
7'	106,6	107,2	104,6	105,3	—	—	—
8'	127,1	126,9	125,3	125,4	—	—	—
9'	119,1	117,9	116,7	116,4	—	—	—
10'	120,5	121,4	122,5	121,4	—	—	—
11'	119,9	119,1	119,3	118,6	—	—	—
12'	112,6	111,2	109,5	109,3	—	—	—
13'	137,6	136,4	134,7	134,4*	—	—	—
N-Me	39,6	35,8	39,4	40,4	—	47,2	53,7

	Solvant
1	18,19-dihydro-usambarine (oxalate) DMSO- $\text{d}_6$
2	usambaridine Vi (10 hydroxy-usambarine) $\text{CDCl}_3$
3	strychnofoline $\text{CDCl}_3$
4	isostrychnofoline $\text{CDCl}_3$
5	sarpagine DMSO- $\text{d}_6$
6	mavacurine $\text{D}_2\text{O}$
7	fluorocurine $\text{D}_2\text{O}$

\* valeurs interchangeables dans une même colonne verticale

## DISCUSSION

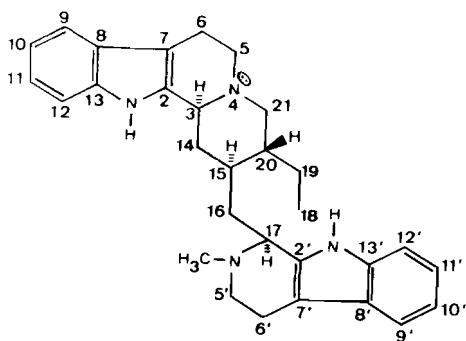
### 1. Les dérivés de l'usambarine

Le spectre de la 18,19-dihydro-usambarine (formule n° 1) est interprété en comparaison avec celui de l'ochrolifuanine B en tenant compte des effets de la méthylation du N4' sur les carbones voisins (8).

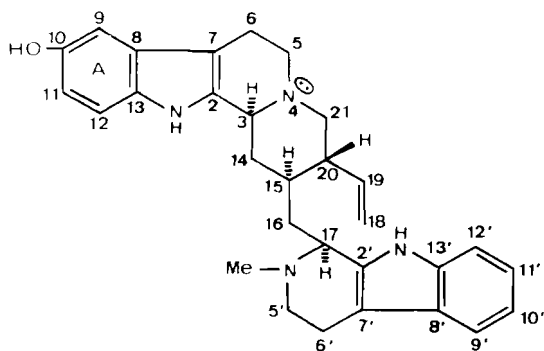
Ces résultats confirment la structure et la stéréochimie établies précédemment sur base d'autres mesures (1).

Le déblindage des C3, C5, C21 et surtout C6 confirme une configuration 3*S* *trans* quinolizidine. Le blindage du C18 et le déblindage du C19 signifient une configuration  $\alpha$  de la chaîne éthyle (20*R*).

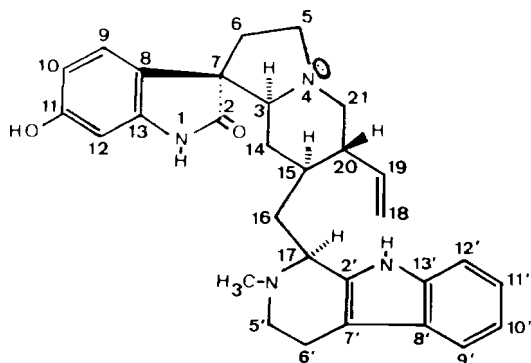
Le déblindage accusé du C17, compte tenu de la substitution du N4', implique une configuration 17*H* $\alpha$  (17*S*).



Formule n° 1  
18,19-dihydro-usambarine  
(= nigritanine)



Formule n° 2  
Usambaridine Vi  
(= 10-hydroxy-usambarine)



Formule n° 3  
Strychnofoline

L'ensemble de ces résultats confirme l'identité de la 18,19-dihydro-usambarine avec l'alcaloïde postérieurement isolé du *Strychnos nigrifolia* et baptisé nigritanine (10). De légères différences existent au niveau des valeurs des déplacements chimiques mais elles sont liées à la salification ou non de l'alcaloïde et au solvant utilisé (9).

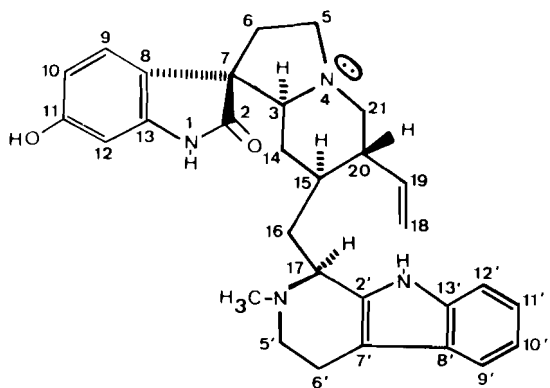
Nos résultats corroborent ainsi les suppositions émises récemment dans la littérature à propos de la similitude devant exister entre la nigritanine et la 18,19-dihydro-usambarine (4, 11).

En ce qui concerne l'usambaridine Vi (10-hydroxy-usambarine) (formule n° 2), le spectre obtenu confirme la structure précédemment établie (2) et en particulier la substitution en C10, grâce aux déplacements chimiques des carbones aromatiques qui subissent par rapport au noyau non substitué des modifications caractéristiques semblables à celles que l'on rencontre dans la sarpagine.

Les spectres de la strychnofoline (formule n° 3) et de l'isostrychnofoline (formule n° 4) avaient été publiés sans interprétation (3). Nous comblons enfin cette lacune.

La comparaison des spectres obtenus avec ceux de dérivés oxindoliques voisins (12) permet de confirmer une configuration 7*S* pour la strychnofoline et 7*R* pour l'isostrychnofoline (3).

Le déblindage du C17 permet d'établir une configuration 17*S* pour l'isostrychnofoline.

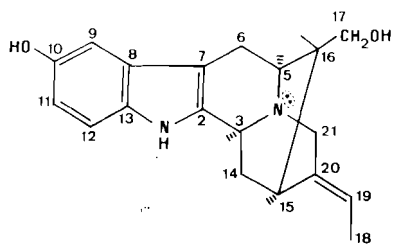


Formule n° 4  
Isostrychnofoline

semblable à celle déjà mise en évidence par diffraction aux rayons X sur la strychnofoline (6).

## 2. La sarpagine

Les alcaloïdes de type sarpagine (macusines A, B, C et dérivés) sont de plus en plus souvent découverts dans les *Strychnos*. Aussi, avons-nous jugé intéressant d'étudier la sarpagine (formule n° 5), qui assez curieusement n'avait pas encore été examinée par cette méthode spectrométrique.



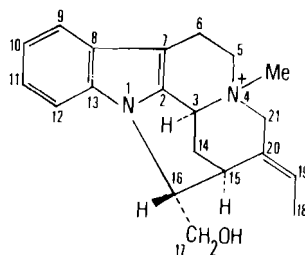
Formule n° 5  
Sarpagine

La sarpagine diffère des alcaloïdes corynanthoïdes par une liaison C16-C5 conduisant à la formation d'un cinquième cycle. Une telle structure n'est possible que si les cycles D et E ont une conformation bateau avec le C16 axial et le C2 équatorial par rapport au cycle D. La comparaison avec les données RMN <sup>13</sup>C des alcaloïdes à squelette corynane (5, 12) met en évidence chez la sarpagine un blindage inhabituel du C19 (-5 ppm) associé à un déblindage du C20 (+4 ppm).

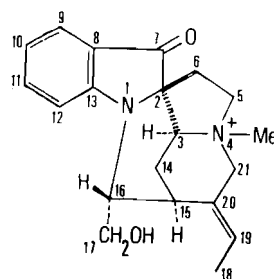
Dans l'état actuel de nos recherches, nous ne pouvons proposer d'explication décisive pour ce phénomène. Notons cependant que le C19 se trouve en position  $\gamma$ -*trans* vis-à-vis du N4 alors que chez les alcaloïdes corynanthoïdes, il se rapproche d'une position  $\gamma$ -gauche; dans ces conditions, un effet paradoxal d'hyperconjugaison pourrait se manifester, tendant à polariser la double liaison éthylidénique vers le C19 (7). Cette hypothèse est renforcée par le fait que la quaternisation de l'azote fait disparaître le phénomène (14).

## 3. La mavacurine et la fluorocurine

Les dérivés de la mavacurine se distinguent des alcaloïdes corynanthoïdes par une liaison C16-N1.



Formule n° 6  
Mavacurine



Formule n° 7  
Fluorocurine

Le spectre de la mavacurine a été interprété sur base des spectres en hétéro-découplage sélectif, le spectre RMN <sup>1</sup>H ayant été publié récemment (13). Le spectre du dérivé pseudoinoxylique (fluorocurine) a été interprété en comparaison avec celui de la mavacurine et de l'ibolutéine (12).

On remarquera un déblindage du C19 associé à un blindage du C20 tendant à démontrer une polarisation de la double liaison inverse de celle que l'on enregistre pour les dérivés tertiaires de la macusine. Il faudrait toutefois disposer des homologues tertiaires de la mava-curine pour en tirer des conclusions plus approfondies.

## CONCLUSIONS

L'intérêt de l'utilisation de la spectroscopie de RMN  $^{13}\text{C}$  dans l'étude des alcaloïdes indoliques est illustré par les confirmations de structures de 7 alcaloïdes à squelette fréquent chez les *Strychnos*. La comparaison des spectres permet de dégager les signaux caractéristiques non seulement de la structure plane mais également de la configuration spatiale. Cette étude a ainsi mis en évidence l'intérêt diagnostique des différences des déplacements chimique du carbone n° 19 en fonction des différences de conformation ou de configuration. Ces variations sont en effet d'autant plus intéressantes que ce carbone offre, dans les spectres de simple résonance, l'image très caractéristique d'un doublet de quadruplets par couplage secondaire avec les hydrogènes du carbone n° 18 dans le cas d'une chaîne éthylidémique.

## REMERCIEMENTS

Nous avons pu réaliser les spectres sur les appareils du Centre de Résonance Magnétique Nucléaire de l'Université de Liège (Directeur: Dr G. LLABRES) à l'exception du spectre n° 6 qui a été pris par le Dr R. DOMMISSE (RUCA) dans le laboratoire de Pharmacognosie de l'Université d'Anvers (Directeur: Prof. A. VLIETINCK) dont nous nous réjouissons de la collaboration. Nous remercions la firme INVERNI della BEFFA pour un don généreux de sarpagine.

Reçu en janvier 1982

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

## Résumé

Les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  de 7 alcaloïdes indoliques ont été enregistrés et analysés. Les déplacements chimiques des carbones permettent non seulement de confirmer les structures planes et spatiales précédemment proposées mais également de caractériser ces différents types d'alcaloïdes. L'intérêt diagnostique de la méthode en est ainsi renforcé. D'autre part, l'identité de la nigritanine avec la 18,19-dihydro-usambarine est corroborée par cette étude.

## Samenvatting

De  $^{13}\text{C}$  NMR spectra van 7 indolalkaloïden werden opgenomen en geïnterpreteerd. De chemische verplaatsingen van de koolstofatomen bevestigen niet alleen de reeds voorgestelde structuren in een vlak of in de ruimte, maar laten daarenboven toe de verschillende alkaloïdetypen te kenmerken. Het diagnostisch belang van de methode wordt aldus versterkt. Anderzijds werd de overeenstemming van nigritanine met de 18,19-dihydro-usambarine door deze studie aangetoond.

## Bibliographie

- (1) ANGENOT, L., COUNE, C. et TITS, M., Nouveaux alcaloïdes des feuilles du *Strychnos usambarensis*. *J. Pharm. Belg.*, **33**, 11-23 (1978).
- (2) ANGENOT, L., COUNE, C. et TITS, M., Les alcaloïdes des fruits et des feuilles du *Strychnos usambarensis*. *J. Pharm. Belg.*, **33**, 284-286 (1978).
- (3) ANGENOT, L., Nouveaux alcaloïdes oxindoliques du *Strychnos usambarensis* GILG. *Pl. méd. et Phyt.*, **12**, 123-129 (1978).
- (4) BISSET, N. G., Alkaloids of the *Loganiaceae* — Chapter 3 in: *Indole and Biogenetically Related Alkaloids* — Academic Press — London. Edited by J. D. PHILIPSON et M. H. ZENK (1980).
- (5) COUNE, C., ANGENOT, L. et DENOËL, J.,  $^{13}\text{C}$  NMR des alcaloïdes des *Strychnos*: les dérivés de l'harmane et de l'usambarine. *Phytochemistry*, **19**, 2009-2011 (1980).
- (6) DIDEBERG, O., LAMOTTE-BRASSEUR, J., DUPONT, L., CAMPSTEYN, H., VERMEIRE, M. et ANGENOT, L., Structure cristalline et moléculaire d'un nouvel alcaloïde bisindolique: complexe moléculaire 1:2 Strychnofoline-Ethanol. *Acta Cryst.*, **B33**, 1796-1801 (1977).
- (7) ELIEL, E. L., BAILEY, W. F., KOPP, L. D., WILLER, R. L., GRANT, D. M., BERTRAND, R., CHRISTENSEN, K. A., DALLING, D. K., DUCH, M. W., WENKERT, E., SCHELL, F. M. and COCHRAN, D. W., Carbon-13 Magnetic Resonance Upfield Shifts Caused by Nitrogen, Oxygen and Fluorine Atoms located at the  $\gamma$  Position and Anti-Periplanar to the Nucleus Observed. *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 322-330 (1975).
- (8) KOCH, M., PLAT, M., PRÉAUX, N., GOTTLIEB, H. E., HAGAMAN, E. W., SCHELL, F. M. and WENKERT, E., Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Naturally Occuring Substances. XXXIII. The Ochrlo-

guanines and Emetine. *J. Org. Chem.*, **40**, 2836-2839 (1975).

- (9) NICOLETTI, M., OGUAKWA, J.U. and MESSANA, I., On the Alkaloids of two African *Strychnos*: *Strychnos nigritana* BAK. and *Strychnos barteri* SOL., Carbon-13 NMR Spectroscopy of nigritanins. *Fitoterapia*, **51**, 131-134 (1980).
- (10) OGUAKWA, J. U., GALEFFI, C., MESSANA, I., LA BUA, R., NICOLETTI, M. and MARINI-BETTOLO, G.-B., On the alkaloids of *Strychnos*. XXX. The structures of the nigritanins, the alkaloids of *Strychnos nigritana* BAK. *Gazz. Chim. Ital.*, **108**, 615-618 (1978).
- (11) SAXTON, J.E., Indole alkaloids — Chapter 11 in: The

Alkaloids — Specialist Periodical Report — Volume 10. Royal Society of Chemistry, London (1981).

- (12) SHAMMA, M. and HINDENLAND, D.M., Carbon-13 NMR Shift assignments of amines and alkaloids — Plenum Press — New York (1979).
- (13) TITS, M., FRANZ, M., TAVERNIER, D. et ANGENOT, L., Les alcaloïdes quaternaires majoritaires du *Strychnos variabilis* du Zaïre. *Planta Medica*, **42**, 371-374 (1981).
- (14) VERPOORTE, R., Universiteit te Leiden, Nederland. Communication personnelle de travaux en cours (1981).
- (15) WEHRLI, F.W. and WIRTHLIN, T., Interpretation of carbon-13 NMR Spectra — Heyden — London (1976).