

La strychnoxanthine, un alcaloïde monoterpénique d'un nouveau type isolé à partir du *Strychnos gossweileri*

Strychnoxanthine, a monoterpene alkaloid of a novel skeletal type from *Strychnos gossweileri*

C. Coune^{1,3}, D. Tavernier², M. Caprassé¹ et L. Angenot¹

Abstract: Strychnoxanthine, an anhydronium base, was isolated from root barks of *Strychnos gossweileri*, a few years ago.

The structure of this new indole alkaloid is now established by spectral analysis, especially by ¹H NMR at 360 MHz.

Introduction

Dans de précédentes publications (1-4), nous avons décrit la détermination de structure de plusieurs alcaloïdes indoliques extraits des écorces des racines du *Strychnos gossweileri* Exell. (Loganiaceae) récolté au Zaïre. Parmi ceux-ci, nous avons mis en évidence plusieurs bases anhydronium dont l'une fut nommée strychnoxanthine par référence à sa couleur jaune orangé (3).

Nous décrivons maintenant la détermination de structure de cet alcaloïde.

Resultats et Discussion

La strychnoxanthine, isolée selon une méthode déjà décrite (3) a été purifiée par chromatographie sur papier, transformée en chlorure puis cristallisée à partir d'un mélange d'alcool et d'eau. Préparée de cette façon, elle se présente sous l'aspect d'une poudre cristalline rouge brique; les solutions acides et neutres sont jaune orangé et virent au rouge groseille en milieu alcalin. La base libre se dissout dans les solvants organiques halogénés en les colorant en violet sombre.

Par le nombre et la position relative des bandes d'absorption ainsi que par le déplacement bathochrome observé en milieu alcalin, le spectre UV est caractéristique des bases anhydronium dérivées de la β-carboline; l'ensemble des bandes est toutefois nettement déplacé vers les grandes longueurs d'onde, ce qui indique un chromophore plus conjugué que chez les bases anhydronium indoliques habituelles.

Le spectre de masse à haute résolution montre l'ion moléculaire à m/z 307 correspondant à la formule brute C₁₉H₁₉N₂O₂ (mes. 307, 1463 calc. 307,3713). Comme cela est courant dans le cas des bases anhydronium, le schéma de fractionnement du spectre de masse est difficile à interpréter; on relève toutefois

l'ion de m/z 275 qui peut correspondre à la perte d'un CH₂OH et les ions de m/z 154, 167, 168 et 182, typiques des dérivés de la β-carboline.

La réduction par NaBH₄ conduit à un alcaloïde incolore et non fluorescent dont la masse moléculaire relative est de 312. Ce gain de 5 unités de masse correspond à la disparition de 3 doubles liaisons, soit une supplémentaire par rapport aux bases anhydronium précédemment isolées (5 et 7).

Le spectre de PMN¹³C, réalisé en découplage total et en off-résonance permet de confirmer la présence dans la molécule de 19 carbones répartis en 12 carbones sp² dont 6 CH et 6 carbones non protonés, et en 7 carbones sp³ dont 3 CH et 4 CH₂. Un signal très déblindé (199 ppm) correspondant à un carbone non protoné, peut être attribué à un carbonyle. Une bande à 1720 cm⁻¹ dans le spectre IR confirme la présence de ce groupe fonctionnel. Les signaux correspondant aux carbones de la β-carboline ont été identifiés et attribués par comparaison avec des travaux que nous avons réalisés sur d'autres bases anhydronium (5).

Une étude approfondie par RMN¹H dont les résultats sont repris dans le tableau I et illustrés par la figure 1 permet finalement d'attribuer à la strychnoxanthine la structure plane et stéréochimique proposée dans cette publication.

Parmi les protons aromatiques, on observe les quatre protons benzéniques additionnés de deux protons plus déblindés. La constante de couplage ³J (6,2 Hz) de ces deux protons qui ne résonnent pas à la même fréquence lorsque le spectre est pris dans le CD₃OD, établit qu'ils peuvent occuper les positions α et β d'un cycle pyridinium; ce qui est en accord avec leur déplacement chimique, quel que soit le solvant utilisé.

Des expériences d'irradiation des signaux aliphatiques et en particulier des signaux à δ 3,25 et 5,36 font apparaître l'enchaînement -CH-CH₂-CH- et ensuite tout un noyau cyclohexanique. Parmi ces signaux, le plus déblindé correspond à un proton en α de l'azote (H17), tandis que le proton situé à δ 3,25 montre l'influence du carbonyle préalablement décelé. Une fonction alcoolique primaire (-CH₂OH) est également déduite de la présence des 2 protons (H21) situés aux environs de 4 ppm et de la possibilité d'acétyle la strychnoxanthine à température ordinaire.

Tous ces éléments de structure aboutissent à la proposition de la formule **1** où l'on peut reconnaître un squelette de type „vallésiaochotamine“ qui a subi une cyclisation supplémentaire par la liaison des carbones 17 et 18.

Il reste à déterminer les configurations des carbones 15, 17 et 20. Selon l'hypothèse biogénétique, les molécules de type vallésiaochotamine (**2**) sont caractérisées par une liaison N4-C17 et un H₁₅ en β résultant de l'inversion du centre de chiralité du carbone 15. Dès lors, nous pouvons proposer une configuration R du C15 pour la strychnoxanthine, qui aurait la même filiation biogénétique.

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

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

³ Adresse actuelle: Secrétariat technique de la Commission européenne de la Pharmacopée, Conseil de l'Europe, F-67006 Strasbourg, France

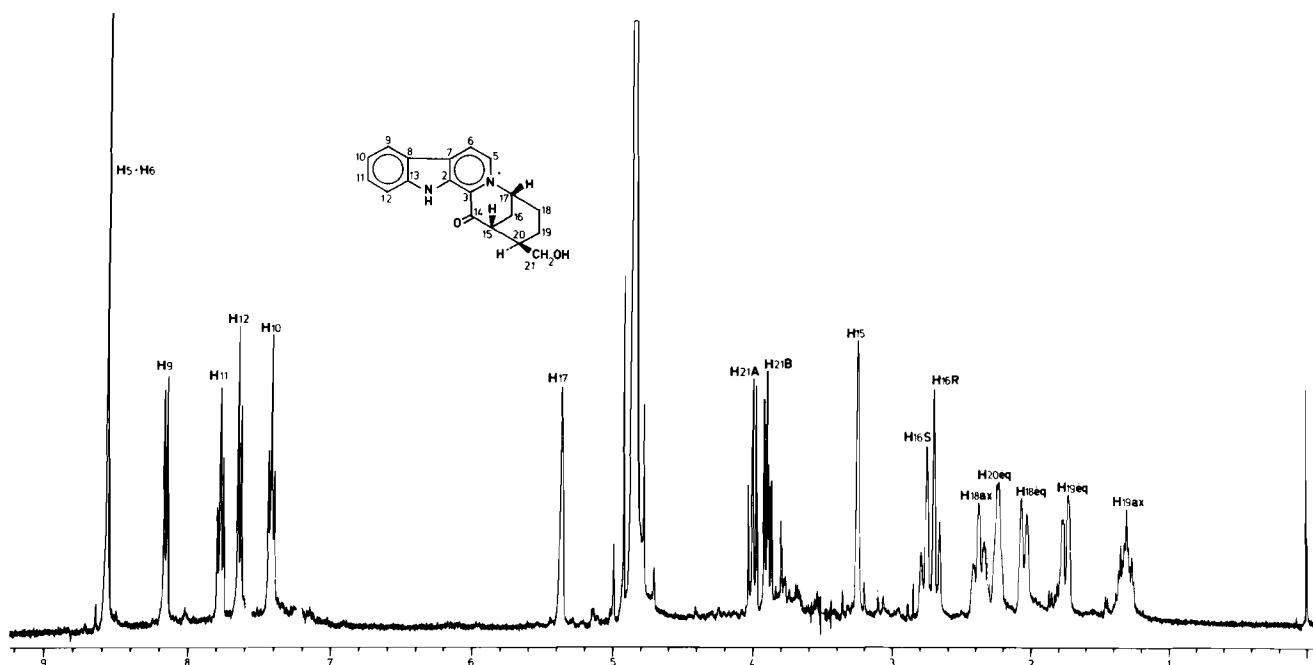
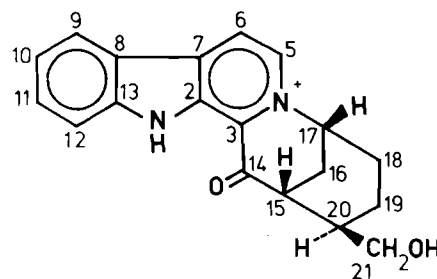


Fig. 1. Spectre RMN¹H de la strychnoxanthine (D₂O, 360 MHz) (ax = axial; éq = équatorial; S = proS; R = proR).

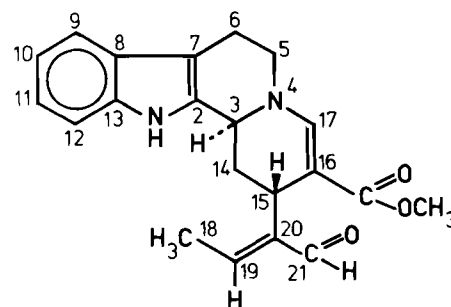
Tableau 1. Résonances RMN¹H de la strychnoxanthine

Proton	δ	
H5	8,57	[dans le CD ₃ OD/TMS: 8,94 δ - ³ J = 6,2 Hz]
H6	8,57	[dans le CD ₃ OD/TMS: 8,77 δ - ³ J = 6,2 Hz]
H9	8,16	
H10	7,42	
H11	7,70	
H12	7,64	
H15	3,25	³ J _{15,16pR} = ³ J _{15,16pS} = 2,5 Hz
H16proS	2,76	² J = -14,8 Hz
H16proR	2,68	² J = -14,8 Hz; ³ J _{16pR,17} = ³ J _{16pR,15} = 2 Hz
H17	5,36	³ J _{17,18ax} = 2,8 Hz; ³ J _{17,18éq} = 2 Hz; ³ J _{17,16pS} = 3 Hz; ³ J _{17,16pR} = 2,5 Hz; W ^{1/2} = 9,2 Hz
H18axial	2,37	² J = -14,8 Hz; ³ J _{18ax,19éq} = 5,5 Hz; ³ J _{18ax,19ax} = 14,6 Hz
H18équat.	2,04	² J = -14,8 Hz; W ^{1/2} = 11 Hz
H19équat.	1,75	² J = -15,0 Hz
H19axial	1,30	² J = -15,0 Hz
H20équat.	2,24	³ J _{20,19ax} = 5,5 Hz; ³ J _{20,15} = 1 à 2 Hz
H21A	4,00	² J _{21A,21B} = -11,4 Hz; ³ J _{21A,20} = 8,6 Hz
H21B	3,89	² J _{21A,21B} = -11,4 Hz; ³ J _{21B,20} = 6,6 Hz

Spectres pris dans D₂O à 360 MHz et à t° ordinaire - Référence: Me₃SiCD₂CD₂COONa



Formule 1. Strychnoxanthine (numérotation phytochimique).

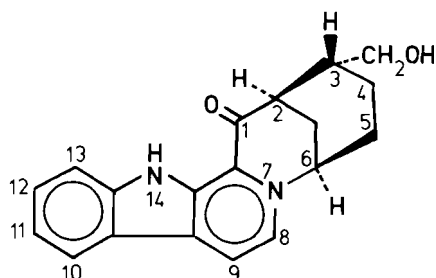


Formule 2. Vallésichotamine (numérotation phytochimique).

La configuration relative des autres centres de chiralité est établie par RMN¹H en supposant une conformation chaise de la partie cyclohexanique. Lors de la construction du modèle moléculaire, il est de suite apparu que seule la configuration R pouvait être attribuée au C17. Quant à la configuration R du C20, elle est déduite de la valeur des constantes de couplages vicinaux $J_{H20-H15} \sim 1$ à 2 Hz, $J_{H20-H19ax} = 5,5$ Hz et $J_{H20-H19éq} \leq$

1 Hz, correspondant tous à des angles dièdres „gauche“ (~ 60°). Le proton H20 est donc équatorial et le groupement hydroxyméthyle se trouve en position axiale.

Selon les normes de nomenclature „IUPAC“, la strychnoxanthine est l'hydroxyméthyle-3 oxo-1 hexahydro-1,2,3,4,5,6 methano-2,6 14H-azocino 1',2': 1,2 pyrido 3,4-b indolium-7 (2R, 3R, 6R) représenté sur la formule 3.



Formule 3. Strychnoxanthine (numérotation IUPAC).

Conclusions

C'est à notre connaissance la première fois qu'un alcaloïde de cette structure est décrit. Néanmoins, nous pensons que la strychnoxanthine peut être rattachée à la filière biogénétique des alcaloïdes indoliques monoterpéniques telle qu'elle est connue aujourd'hui (7). Nous pouvons en effet admettre que la strychnoxanthine est élaborée à partir de la strictosidine: après une hydrolyse de la liaison hétérosidique, le cycle D serait formé par une liaison C17-N4 et le cycle E par une liaison C17-C18. La formule 1 concrétise ces hypothèses sous la forme de la numérotation „phytochimique“ habituelle. La strychnoxanthine apparaît donc comme un dérivé de la vallésia-chotamine possédant une liaison supplémentaire entre C17 et C18 comme on en rencontre par exemple chez les dérivés de la yohimbine. La présence de dérivés de la vallésia-chotamine est rare mais non exceptionnelle chez les *Strychnos* puisque l'antirhine et son dérivé méthylé ont été isolés des *S. camptoneura* et *S. usambarensis* (12), tandis que la vallésia-chotamine et son isomère ont été retrouvés récemment dans les graines du *S. tricalysioides*, très proche d'un point de vue chimiotaxinomique de *S. gossweileri* (13). En effet, Leeuwenberg a classé le *S. tricalysioides* dans la section *Dolichanthae* dont l'espèce-type est précisément le *S. gossweileri* (14).

On peut se poser la question de savoir si la strychnoxanthine est bien une substance naturelle. On sait en effet que la vallésia-chotamine peut être produite *in vitro* par une simple hydrolyse acide de la strictosidine (8) et qu'elle est, de ce fait, suspecte d'être au moins en partie, un artefact. Nous pensons toutefois qu'il faudrait pour passer de la vallésia-chotamine à la strychnoxanthine, postuler un tel nombre de réactions chimiques différentes que la possibilité d'un artefact nous paraît exclue.

Signalons enfin que la substitution du C14 est extrêmement rare chez les alcaloïdes indoliques monoterpéniques. On rencontre une substitution semblable dans la camptoneurine [9], la pauidianthine (10) et l'alstonilidine (11). Il convient de remarquer qu'il s'agit chaque fois de dérivés de la β -carboline.

Partie Experimentale

Isolement

Le totum des bases anhydronium, séparé des autres alcaloïdes selon une méthode déjà décrite (3) est pré-fractionné par chromatographie sur colonne de cellulose microcristalline avec comme éluant de la buta-

none saturée d'eau contenant du méthanol, en gradient de 0,5 à 2%. Les fractions colorées en jaune orangé sont rassemblées et la strychnoxanthine purifiée par chromatographie descendante sur papier Whatmann 3 MM avec comme phase mobile de la butanone saturée d'eau. Après élution, la strychnoxanthine est dissoute dans de l'alcool absolu contenant un très faible excès d'acide chlorhydrique; le chlorure est précipité par l'éther puis cristallisé dans un mélange d'alcool et d'eau (6:4).

Caractères physico-chimiques

UV: $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ) 426 (3,50), 365 (4,07), 285 (4,32), 240 ép. (4,01), 217 (4,39). $\lambda_{\max}^{\text{MeONa}}$ nm (log ϵ) 530 (3,27), 369 (3,99), 311 (4,40), 305 ép. (4,36), 292 ép. (4,24), 245 ép. (4,05). IR: ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} 3150, 1720, 1690, 1630, 1520, 1450, 1405, 1330, 1260, 760. DC (MeOH) $\Delta\epsilon_{359\text{nm}} = +2.2$.

SM: 200° C, 70 eV, m/z (ab. relat. en pourcentage du pic de base) 307 (M^+ , 84), 284 (95), 269 (19), 255 (33), 247 (15), 235 (11), 219 (34), 206 (17), 197 (24), 182 (80), 168 (100), 176 (91), 154 (7), 140 (45), 128 (24).

RMN¹H Bruker 360 MHz, D₂O, t° ordinaire (δ Me₃SiCD₂CD₂COONa = 0 ppm) (voir tableau I et figure n° 1).

RMN¹³C, D₂O, $\delta_{\text{TMS}} = \delta_{\text{dioxanne}}$ 67.4 ppm: 196 (C14), 147 (C3), 139.5 (C2), 134.5 (C5 ou C6), 134.3 (C6 ou C5), 130.3 (C13), 124.3 (C11), 124.1 (C8), 123.8 (C9), 121.8 (C10), 119.5 (C7), 113.9 (C12), 63.6 (C17), 61.8 (C21), 42.2 (CH), 38.5 (CH), 26.9 (CH₂), 25.4 (CH₂), 18.5 (CH₂).

Remerciements

Les auteurs remercient le Prof. R. C. Moreau (Paris) et le Dr. Monique Tits (Liège) pour les discussions fructueuses dont ils ont bénéficié.

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

References

- (1) Coune, C., Angenot, L. (1978) *Phytochemistry* 17, 1447.
- (2) Coune, C., Angenot, L. (1978) *Planta Med.* 34, 53.
- (3) Coune, C. (1978) *Pl. médicin. et Phyto.* 12, 106.
- (4) Coune, C., Angenot, L. (1980) *Herba Hungarica* 19, 189.
- (5) Caprasse, M., Coune, C., Angenot, L. (1983) *J. Pharm. Belg.* à paraître.
- (6) Djerassi, C., Monteiro, H. J., Walser, A., Durham, L. J. (1966) *J. Amer. Chem. Soc.* 88, 1792.
- (7) Bisset, N. G.: *Alkaloids of the Loganiaceae*. Chapter 3 in: *Indole and Biogenetically Related Alkaloids*. Edited by J. D. Phillipson and M. H. Zenk, London 1980, Academic Press.
- (8) De Silva, K. T. D., Smith, G. N., Warren, K. E. H. (1971) *Chem. Comm.* 905.
- (9) Koch, M., Garnier, J., Plat, M. (1972) *Ann. pharm. fr.* 30, 299.
- (10) Pousset, J. L., Bouquet, A., Cave, An., Cave, Ad., Paris, R. R. (1971) *Compt. rend. Paris, C.* 272, 665.
- (11) Crow, W. D., Hancox, N. C., Johns, S. R., Lambertson, J. A. (1970) *Austral. J. Chem.* 23, 2489.
- (12) a. Bisset, N. G., Phillipson, J. D. (1974) *Phytochemistry* 13, 1265
b. Caprasse, M., Tavernier, D., Angenot, L. (1983) *Planta Med.*, sous presse.
- (13) Waterman, P. G., Zhong, S. (1982) *Planta Med.* 45, 28.
- (14) Leeuwenberg, A. J. M. Chapter 2 in: „Die Natürlichen Pflanzenfamilien - Band 28b1 - Angiospermae: Ordnung Gentianales. Fam. Loganiaceae. Berlin 1980, Duncker und Humblot.