

ALCALOÏDES DES FEUILLES DU *STRYCHNOS VARIABILIS*

par M. TITS et L. ANGENOT

Laboratoire de Pharmacognosie, Institut de Pharmacie
de l'Université de Liège, rue Fusch, 5, B-4000 Liège, Belgique

RÉSUMÉ

Les deux alcaloïdes majoritaires des feuilles du *Strychnos variabilis* sont l'acétylisorétuline isolée pour la première fois et l'isorétuline découverte antérieurement dans l'écorce des racines de ce même *Strychnos*. En outre, on y trouve un peu de rétuline.

SUMMARY

The two major alkaloids of the leaves of *Strychnos variabilis* are : acetylisorretuline which is found for the first time from a natural source and isoretuline previously discovered in the roots of the same *Strychnos*.

Moreover, the minor alkaloid, retuline, has been isolated. The spectral data (UV, IR, MS, NMR) are recorded for the new compound.

INTRODUCTION

Le *Strychnos variabilis* est une espèce endémique de la région de Kinshasa au Zaïre.

En 1951, DENOËL et coll. mirent en évidence la présence d'alcaloïdes dans les feuilles de ce *Strychnos*. Ils y détectèrent 0,16 % d'alcaloïdes par dosage titrimétrique [3].

En juin 1980, le Professeur KAMBU KABANGU, venu faire un séjour d'études à Liège, eut la gentillesse de couper des feuilles de *Strychnos variabilis* le jour même de son départ. Grâce à cela, nous avons pu comparer, par voie chromatographique, le lot de 1951 avec des feuilles récoltées en 1980, la veille de l'analyse.

Après quelques essais effectués sur les deux lots, nous avons constaté qu'il y avait deux alcaloïdes majoritaires identiques. Ils se colorent en orange avec $\text{FeCl}_3/\text{HClO}_4$ après chauffage mais ne se colorent pas avec $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2/\text{H}_2\text{SO}_4$ [11]. Ces colorations nous renseignent sur l'absence d'alcaloïdes dimères semblables à ceux précédemment isolés des racines de ce même *Strychnos*. En effet, ces derniers donnent des colorations violettes avec ces réactifs de pulvérisation [8, 9].

MATÉRIEL VÉGÉTAL EXTRAIT

Ce sont les feuilles récoltées en 1951 dans le Jardin Botanique de Kisantu [3] et bien conservées à l'abri de la lumière dans les collections du Service de Pharmacognosie que nous avons étudiées.

Les feuilles de *Strychnos variabilis* ont un aspect ciréux et de nombreux poils sur toute leur surface.

EXTRACTION ET FRACTIONNEMENT

1.200 g de feuilles réduites en poudre ont été extraites dans un appareil SOXHLET par l'éthanol à 94 °C. Après évaporation du solvant, le résidu est repris par un peu de chloroforme et de l'eau acétique à 1 %. Le chloroforme est évaporé. Cette opération est répétée plusieurs fois afin d'éliminer par filtration la chlorophylle se trouvant en suspension dans l'eau acétique contenant les alcaloïdes.

Les solutions aqueuses acétiques rassemblées sont ensuite extraites par du chloroforme. Le chloroforme contient presque uniquement l'alcaloïde A et un peu d'alcaloïde B. La phase aqueuse restante est alcalinisée par du carbonate sodique puis extraite au chloroforme. Dans cette solution chloroformique, on retrouve encore un peu d'alcaloïde A, surtout du B et un très faible pourcentage d'alcaloïde C.

On purifie ces deux extraits, d'une part, en précipitant les alcaloïdes qu'ils contiennent par le réactif de MAYER puis en faisant passer ces précipités sur une résine échangeuse d'ions et, d'autre part, en faisant passer les solutions méthanoliques sur une courte colonne d'alumine BROCKMANN.

Après ces différentes opérations, l'extrait obtenu en milieu acétique pèse 615 mg et celui provenant de l'extraction en milieu carbonaté pèse 135 mg [rendement en alcaloïdes totaux isolés = 0,062 %].

La séparation finale se fait par CCM préparative dans les phases suivantes:

- I. — Toluène-acétone-ethanol-ammoniaque (45 : 45 : 7 : 3).
- II. — Acétate d'éthyle-isopropanol-ammoniaque (80 : 15 : 5).
- III. — Chloroforme-méthanol (8 : 2).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

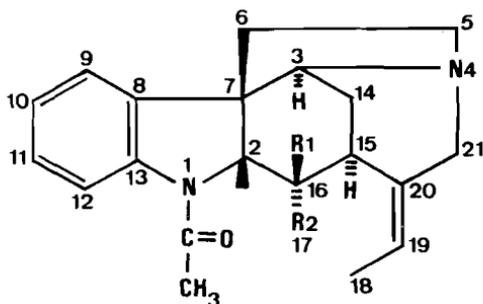
— L'alcaloïde A migre à un Rf moyen de 0,45 dans le système I, 0,68 dans le II et 0,7 dans le III.

Il donne une coloration orange après chauffage avec $\text{FeCl}_3/\text{HClO}_4$ et ne se colore pas avec $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2/\text{H}_2\text{SO}_4$.

Il n'avait jamais été isolé à l'état naturel mais fut déjà synthétisé à partir de la strychnine via Wieland-Gumlich-aldehyd [4, 12]. En fait, il s'agit de l'acétylisorétuline. Son spectre UV est de type N-acylindolinique :

$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ) 213 (4,26); 251 (3,92); 282 (3,27); 290 (3,19). Il ne se modifie pas en milieu acide ni en milieu alcalin.

Son spectre IR (KBr) présente bien les 2 bandes caractéristiques d'une fonction ester à 1.240 et 1.740, une bande amide à 1.655 et une indole à 752 cm^{-1} .



	R1	R2
Acétylisorétuline	CH ₂ OAc	H
Isorétuline	CH ₂ OH	H
Rétuline	H	CH ₂ OH

Dans le spectre de masse, on trouve une fragmentation analogue à celle des alcaloïdes type « rétuline » [2, 5]. Cependant certains pics sont modifiés, notamment le pic caractéristique « 166 » qui, alourdi de 42 unités (acétyle), donne un pic à 208. SM à 225 °C, 70 eV, m/z (abondance en pourcentage du pic de base) : 380 (62) [C₂₃H₂₈N₂O₃], 365 (11), 338 (8), (M⁺-Ac.) 322 (30) (M⁺-OAc), 293 (89), 208 (19), 186 (30), 144 (100%), 143 (16), 130 (13), 121 (56).

Le spectre ¹H RMN à 300 MHz (BRUKER) dans le CDCl₃, indique la présence de deux rotamères : 10 % de rotamère a et 90 % de rotamère b.

Le rotamère b correspond à celui dont l'oxygène de l'amide est orienté vers le proton 2. Nous ne donnons ici que les déplacements du rotamère b puisqu'il est nettement majoritaire. A $\delta = 1,59$ ppm (dd Me₁₈, ³J_{Me18-19} = 6,6 Hz/⁵J_{Me18-21 β} = 2 Hz); 1,61 (H_{14B}); 1,78 (H_{6B}); 1,90 (H_{14A}); 1,98 (O-acétyle); 2,02 (H₁₆, ³J₁₆₋₂ = 10,8 Hz); 2,40 (H_{6A} et N-acétyle superposés); 2,82 (H_{5B}); 2,95 (H₁₅); 3,16 (H_{5A} et H_{21B}); 3,52 (H₃); 3,54 (H_{21A}); 3,78 (H_{17B}); 4,40 (H_{17A}); 4,58 (H₂); 5,55 (q. H₁₉) entre 7,12 et 7,25 (protons aromatiques). La grande constante de couplage J₂₋₁₆ (10,6 Hz) et la présence du couplage homoallylique J_{21B-Me18} = 2 Hz, sont des caractéristiques des alcaloïdes de ce type ayant le H₁₆ en α [6].

La structure de ce produit est également confirmée par corrélation

chimique : 5 mg d'isorétuline sont solubilisés dans 0,5 ml de pyridine et 2 ml d'anhydride acétique. On laisse en contact pendant 24 h à température ordinaire. On évapore à sec et on reprend par 0,5 ml de chloroforme. On lave par 0,5 ml d'ammoniaque dilué puis par un peu d'eau. Enfin, on sèche sur sulfate sodique anhydre et on évapore à sec. On obtient donc de l'acétylisorétuline. Les comparaisons chromatographiques et spectrales (UV, IR, SM, ^1H RMN) de ce produit de synthèse avec le produit isolé de la plante écartent toute contestation. De plus, l'acétylation de la rétuline effectuée dans les mêmes conditions donne un produit migrant à un Rf différent de celui de l'acétylisorétuline dans les systèmes précités.

— L'alcaloïde B migre à un Rf moyen de 0,36 dans le système I, 0,57 dans le système II et 0,45 dans le système III.

Il donne également une coloration orange avec $\text{FeCl}_3/\text{HClO}_4$ après chauffage et ne se colore pas avec le $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2/\text{H}_2\text{SO}_4$. Son analyse a révélé qu'il s'agissait de l'isorétuline que nous avons aussi synthétisée à partir de la strychnine [4 et 12] et qui fut isolée à l'état naturel des racines de ce même *Strychnos* [7].

Son spectre UV est à nouveau le spectre UV d'un alcaloïde N-acylindolinique : $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ) à 211 (4,33) ; 250 (4,03) ; 280 (3,40) ; 2,87 (3,34). Son spectre IR (KBr) présente une bande hydroxyle à 3.225, une bande amide à 1.655 et une bande indole à 760 cm^{-1} .

La fragmentation du SM est pratiquement identique à celle de la rétuline [2 et 5], à savoir : 338 (80) [$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2$], 337 (13), 323 (20), 321 (7), 307 (13), 295 (13), 294 (27), 293 (100 %), 241 (7), 186 (16), 180 (20), 168 (27), 167 (27), 166 (54), 144 (100 %), 143 (47), 130 (80), 122 (27), 121 (93). Quant au spectre ^1H RMN, il avait été étudié en détail et comparé à celui de la rétuline et de son dérivé désacétylé [6].

Enfin, l'alcaloïde C a été identifié à la rétuline. Les spectres UV, IR, SM de cet alcaloïde isolé antérieurement du *Strychnos henningsii* sont très proches de ceux de l'isorétuline et ont été décrits dans d'autres publications [2, 5]. La différence de stéréochimie au niveau du C_{16} influence surtout le spectre ^1H RMN [6]. Rappelons que nous avons déjà signalé sa présence dans les racines du *Strychnos variabilis* [7].

CONCLUSIONS

Malgré le faible pourcentage alcaloïdique des feuilles du *Strychnos variabilis*, nous avons pu en isoler 3 alcaloïdes indoliniques monomères de structure voisine : l'acétylisorétuline, l'isorétuline et la rétuline.

Il n'y a pas de dimères analogues à ceux trouvés dans les écorces des racines de ce *Strychnos*. Ce fait peut s'expliquer par l'absence, dans les feuilles, de dérivés désacétylés et d'autres alcaloïdes porteurs d'une fonction aldéhydique, notamment en 16, indispensables à la formation de ces dimères [7 et 10].

L'isorétuline et l'acétylisorétuline n'ont jamais été trouvées dans un autre *Strychnos*. Cependant, des alcaloïdes très proches de ceux-ci ont été isolés du *Strychnos henningsii*. Il s'agit notamment de la tsilanimbine (10 méthoxy-acétylisorétuline), de la désacétylisorétuline (elle-même retrouvée dans les racines du *Strychnos variabilis*) et enfin de l'acétylrétuline [5, 1].

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier vivement le Professeur KAMBU KABANGU (Université Nationale du Zaïre) pour la récolte des feuilles du *Strychnos variabilis* et le Dr D. TAVERNIER (Rijksuniversiteit Gent) pour la réalisation du spectre ^1H RMN de l'acétylisorétuline.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ANGENOT (L.) et TITS (M.). — *Planta Medica* (sous presse).
- [2] BISSET (N. G.). — Alkaloids of some African species of *Strychnos* (Thèse de doctorat, Londres), 1968.
- [3] DENOËL (A.), JAMINET (F.), DETILLEUX (G.), VAN SUMSEN (M.) et MERVEILLE (L.). — Contribution à l'étude chimique des *Strychnos* du Congo Belge, Ministère des Colonies, 1953.
- [4] HYMON (J. R.), SCHMID (H.) et KARRER (P.). — *Helv. Chim. Acta*, 1969, **52**, 1564.
- [5] KOCH (M.), FELLION (E.) et PLAT (M.). — *Phytochem.*, 1976, **15**, 321.
- [6] TAVERNIER (D.), ANTEUNIS (M. J. O.), TITS (M.) et ANGENOT (L.). — *Bull. Soc. Chim. Belg.*, 1978, **87**, 595.
- [7] TITS (M.), TAVERNIER (D.). — *Pl. Méd. Phytothér.*, 1978, **12**, 32.
- [8] TITS (M.) et ANGENOT (L.). — *Planta Medica*, 1978, **34**, 57.
- [9] TITS (M.), TAVERNIER (D.) et ANGENOT (L.). — *Phytochem.*, 1979, **18**, 515.
- [10] TITS (M.), ANGENOT (L.) et TAVERNIER (D.). — *Tetrahedron Letters*, 1980, **21**, 2439.
- [11] VERPOORTE (R.). — Pharmacognostical studies of some African *Strychnos* species (Thèse de doctorat, Leiden), 1976.
- [12] WENKERT (E.) et SKLAR (R.). — *J. Org. Chem.*, 1966, **31**, 2689.