

DEUX NOUVEAUX ALCALOÏDES QUATERNAIRES ISOLÉS À PARTIR DES FEUILLES DU *STRYCHNOS USAMBARENSIS* GILG DU RWANDA: Nb-MÉTHYL HYDROXY-10 ET HYDROXY-11 USAMBARINES

par

M. CAPRASSE (*), D. TAVERNIER (***) et L. ANGENOT (*)

SUMMARY

The isolation and structure elucidation of two new quaternary alkaloids from *Strychnos usambarensis* GILG leaves of Rwanda: Nb-methyl-10- and 11-hydroxy-usambarine

Two new isomeric bis-indole alkaloids have been isolated from *Strychnos usambarensis* leaves. They are phenolic dimers of the "usambarine type" and correspond to the Nb-methyl-derivatives of 10- and 11-hydroxy-usambarine. The structure elucidation and the stereochemistry of these molecules are discussed from their spectroscopic properties. TLC comparison with quaternarised 10- and 11-hydroxy-usambarine provides corroborative structural proof. The separation of the two alkaloids by "DCCC" (Droplet Counter Current Chromatography) gives a new example of the application of this suitable technique for the purification of polar compounds. A systematic nomenclature of "usambarine" alkaloids is proposed.

INTRODUCTION

Jusqu'à présent, les feuilles du *S. usambarensis* ont permis l'isolement de quatorze alcaloïdes tertiaires, dimères asymétriques bisindoliques, contenant une partie corynane à chaîne vinylique ou éthylique associée à un monomère de type Nb-méthyl tétrahydro- β -carboline (1 à 4). Plusieurs alcaloïdes de ce type ont déjà été isolés dans le monde végétal, non seulement à partir de plusieurs espèces du genre *Strychnos* (Loganiacées), mais également

de familles chimiotaxonomiquement proches, telles que les Rubiacées (*Uncaria*, *Cinchona*) et les Apocynacées (*Ochrosia*, *Rauwolfia*) (5).

Suite à la purification de certaines fractions d'alcaloïdes très polaires des racines du *Strychnos usambarensis* par «DCCC» (Chromatographie goutte à goutte à contre-courant) (6, 7), nous avons entrepris l'isolement de deux composés à partir d'une fraction d'alcaloïdes non extractibles en milieu alcalin, présents dans les feuilles de ce même *Strychnos* (1).

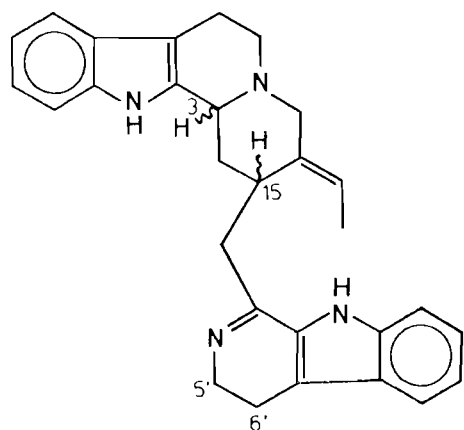
La purification et les déterminations de structure et de stéréochimie de ces alcaloïdes dimères bisindoliques font l'objet du présent travail.

Des alcaloïdes de ce type ont été isolés jusqu'à présent de quatre espèces différentes de *Strychnos* [*S. usambarensis*, *S. nigrifolia* (8, 9), *S. barteri* (10) et *S. tchibangensis* (11)]; des composés semblables ont été baptisés différemment, ce qui induit parfois à de malheureuses confusions. Le *S. usambarensis* renfermant un grand nombre d'alcaloïdes de ce type auxquels viennent s'ajouter les nouvelles molécules, sujet de cette publication, il nous a paru intéressant de comparer les dimères isolés du genre *Strychnos*, objets des confusions susmentionnées, et, par souci de simplification, de proposer une nomenclature uniformisée pour les dérivés à chaîne vinylique ou éthylique.

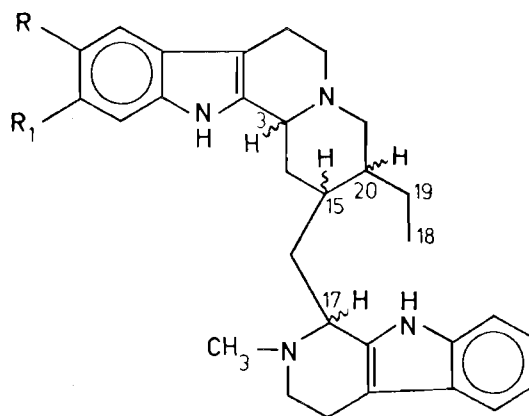
(*) Laboratoire de Pharmacognosie, Institut de Pharmacie de l'Université de Liège, rue Fusch, 5, B-4000 Liège.

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

TABLEAU I

Dimères bisindoliques de type «Corynanthe-tryptamine» isolés du genre *Strychnos*

A



B

| Matériel végétal | Nomenclature triviale | Nomenclature proposée | Structure | Références |
|---|--------------------------------------|--|---|----------------------|
| Racines du <i>S. usambarensis</i> | dihydro-3,4 usambarensine | dihydro-5',6' usambarensine | fig. A: 3 α cis, 15 α | 13 à 17 |
| Feuilles du <i>S. usambarensis</i> | usambarine | usambarine | fig. B: R = R ₁ = H, Δ 18-19, 3 α trans, 17 α , 15 α , 20 β | 12, 18, 3, 1, 19, 20 |
| | usambaridine Br | hydroxy-11 usambarine | fig. B: R = H, R ₁ = OH, Δ 18-19, 3 α trans, 17 α , 15 α , 20 α | 18 (1), 1 |
| | usambaridine Vi (2) | hydroxy-10 usambarine | fig. B: R = OH, R ₁ = H, Δ 18-19, 3 α trans, 17 α , 15 α , 20 β | 18, 1, 2, 21 |
| | dihydro-18,19 usambarine (3) | dihydro-18,19 usambarine | fig. B: R = R ₁ = H, 3 α trans, 17 α , 15 α , 20 β | 1, 21 |
| | dihydro-18,19 usambaridine (4) | 1) dihydro-18,19 hydroxy-11 usambarine | fig. B: R = H, R ₁ = OH, 3 α trans, 17 α , 15 α , 20 β | 1 |
| | | 2) dihydro-18,19 hydroxy-10 usambarine | fig. B: R = OH, R ₁ = H, 3 α trans, 17 α , 15 α , 20 β | 1 |
| Racines et tiges du <i>S. tchibangensis</i> | tchibangén-sine (5) | dihydro-5',6' usambarensine | fig. A: 3 α cis, 15 α | 11 |
| Feuilles du <i>S. nigrimana</i> | nigritanine (6) | dihydro-18,19 usambarine | fig. B: R = R ₁ = H, 3 α trans, 17 α , 15 α , 20 β | 8, 9 |
| Feuilles du <i>S. nigrimana</i> et du <i>S. barteri</i> | déhydro-18,19 nigritanine | usambarine | fig. B: R = R ₁ = H, Δ 18-19, 3 α trans, 17 α , 15 α , 20 α | 8, 9, 10 |
| | hydroxy-10 nigritanine | dihydro 18,19 hydroxy-10 usambarine | fig. B: R = OH, R ₁ = H, 3 α trans, 17 α , 15 α , 20 β | 8, 9, 10 |
| | hydroxy-10 déhydro-18,19 nigritanine | hydroxy-10 usambarine | fig. B: R = OH, R ₁ = H, Δ 18-19, 3 α trans, 17 α , 15 α , 20 β | 8, 9, 10 |

(7)

que, basée sur le premier composé de la série isolé par une équipe française en 1971, à partir du *S. usambarensis* de la Côte d'Ivoire (12); il s'agit de l'usambarine dont la révision de structure a été publiée en 1978 (3) (tableau I).

RÉSULTATS

Lors du procédé d'extraction des feuilles du *S. usambarensis* (1), les alcaloïdes non extractibles par le chloroforme ont été précipités sous forme de picrates.

Ce sont des produits fortement polaires que nous avons tenté de purifier par «DCCC» après transformation en chlorures. Dans le but de choisir un système de solvants adéquat, plusieurs essais ont été réalisés (en CCM) en utilisant comme phase aqueuse stationnaire des solutions tampons de différents pH. Le tampon acétate pH 3.6 associé au chloroforme et au méthanol dans les proportions 9/12/8, constitue le système utilisé en «DCCC» pour la purification des deux alcaloïdes majoritaires de l'extrait.

L'éluion des alcaloïdes (phase inférieure chloroformique = phase mobile) fut extrêmement lente, témoignant de leur forte polarité. Les quantités d'alcaloïdes purs séparés l'un de l'autre sont malheureusement faibles vu les nombreuses impuretés qui souillaient l'extrait brut et la similitude structurale des deux molécules. Elles migrent en effet à des R_f très

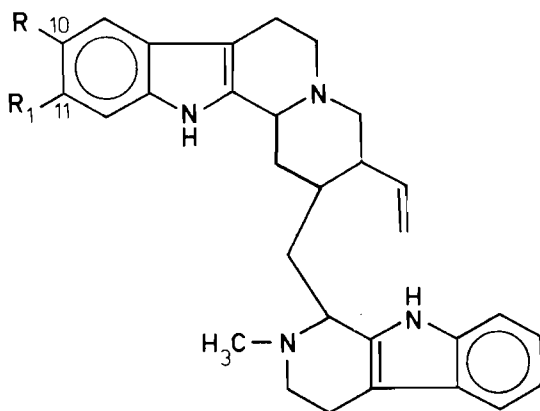


Fig. 1
R = OH, R₁ = H; hydroxy-10 usambarine
R = H, R₁ = OH; hydroxy-11 usambarine

- (1) La structure de cet alcaloïde a été établie au même moment que celle de l'usambarine (18). Il est vraisemblable que la même erreur de structure avait été commise (1). La position de l'hydroxyle phénolique ainsi que la détermination de la configuration du C17 de la molécule isolée par l'équipe française n'ont pas été précisées.
- (2) La position de l'hydroxyle phénolique, initialement définie sur le C12 (1), a été ultérieurement rectifiée sur la base de plusieurs observations (voir texte) (2) et ensuite confirmée en RMN¹³C (21).
- (3) La configuration du C17, établie initialement par dichroïsme circulaire, a été confirmée par RMN¹³C (21).
- (4) La position de l'hydroxyle en 12 pour l'un des deux isomères était basée sur la comparaison de ses spectres avec ceux de «l'usambaridine Vi». Dans cette dernière, la position du phénol ayant été revue et corrigée (voir (2)) (2-21), une rectification semblable s'impose pour l'un des isomères à chaîne éthylique (22).
- (5) Bien qu'aucune comparaison CCM n'ait été réalisée pour les produits isolés des deux espèces de *Strychnos* (5), la comparaison de leur spectre C13 confirme leur identité (16).
- (6) De nombreuses fois, l'hypothèse d'une similitude entre nigritanine (et dérivés) et usambarine (et dérivés) a été émise (22-23). Elle semble confirmée par RMN¹³C (21). De plus, une comparaison CCM entre nigritanine et dihydro-18,19 usambarine a établi l'identité de structure de ces deux alcaloïdes.
- (7) D'autres alcaloïdes dimères de type Corynanthe-tryptamine ont été isolés des racines et des feuilles du *S. usambarensis*. Bien qu'ils n'aient pas engendré de confusions, quelques erreurs ou omissions se sont glissées dans la récente revue bibliographique de ces alcaloïdes (5). Des racines, a été isolée l'usambarensine (fig. A: Δ 5'-6', 3 α *cis*, 15 α (13, 14, 15, 16, 24). La stéréochimie absolue de ce produit a été déterminée par diffraction aux rayons X du bromhydrate d'usambarensine (24). La configuration préalablement établie 3 β *cis* (13-14) a dès lors été rectifiée (24) et ensuite confirmée par RMN¹³C (16).
A partir des feuilles ont été isolés:
 - la strychnobaridine (1) alcaloïde diphenolique pour lequel on n'a jamais pu préciser la position des hydroxyles phénoliques
 - la strychnopentamine (1-25) dont la structure et la stéréochimie ont été déterminées par diffraction aux rayons X
 - deux isomères de l'alcaloïde précédent, isostrychnopentamines A et B (1). Si l'on peut supposer valable la proposition de structure avancée par Saxton (5) pour l'isomère A, la comparaison réalisée entre l'isomère B et l'«usambaridine Vi» dont la rectification de structure a été omise (voir (2)) n'est plus valable. La structure proposée pour l'isostrychnopentamine B doit éventuellement être modifiée dans le même sens que l'alcaloïde de comparaison, à savoir une substitution en 10 pour la fraction phénol. Toutefois, les quantités disponibles des isostrychnopentamines ou de strychnobaridines ainsi que la mauvaise résolution des spectres RMN¹H (90 MHz) obtenus pour ces molécules n'ont pas permis de préciser leur structure
 - quatre dérivés oxindoliques (iso)strychnofoline et (iso)strychnophylline (26-4-21) dont il n'est pas fait mention dans la revue bibliographique susmentionnée.

proches dans les systèmes chromatographiques habituels et sont révélées, l'une en mauve et l'autre en gris, par le sel de bleu solide, comportement rappelant celui des hydroxy-10 et hydroxy-11 usambarines préalablement isolées du même matériel (1, 2) (fig. 1). Nous montrerons que les deux nouveaux alcaloïdes correspondent aux Nb-méthyl hydroxy-10 et hydroxy-11 usambarines (fig. 2).

Le poids moléculaire des 2 alcaloïdes est identique et égal à 481 (spectres de masse en désorption de champ).

La fragmentation observée en spectrométrie de masse (EI), semblable pour les deux alcaloïdes, montre, outre les pics de l'indole à 130, 143 et 144, un pic à $m/z = 160$, caractéristique de l'indole phénolique (27) et un grand nombre d'ions caractéristiques d'une partie corynane phénolique et d'une partie Nb-méthyl tétrahydro- β -carboline (voir ci-dessous) (28).

Les deux monomères étant constitués en tout ou en partie d'un fragment tétrahydro- β -carboline méthylée, l'attribution des différents ions de masse plus faible se trouve relativement complexe.

Toutefois, l'ion 295, interprété comme une fraction corynane phénolique quaternaire sur laquelle reste fixé le pont méthylène, nous permet de déterminer la position de l'hydroxyle phénolique et du méthyle quaternaire sur le monomère de type Corynanthe. Comme dans l'hydroxy-10 usambarine (1) et l'hydroxy-10 dehydro-18-19 nigritanine (8), nous observons également les fragments 265, 266 et 267 attribués au squelette corynane porteur de la fonction phénolique tandis que ces mêmes ions additionnés de 14 unités de masse témoigneraient de la rupture au niveau de la liaison C16-C17 (m/z : 279, 280, 281). L'ion 280 peut également représenter la partie corynane quaternaire et phénolique.

Signalons les fragments 223 et 225 résultant d'une rupture analogue à celle renseignée pour la mélinonine A (27). Les ions caractéristiques d'une fraction Nb-méthyl tétrahydro- β -carboline peuvent également être issus du mo-

nomère de type Corynanthe (m/z : 156, 169, 170, 171, 185) (28).

Seuls, les pics 185 (par ailleurs pic de base) et 199, peuvent être attribués avec plus d'assurance à la partie Nb-méthyl tétrahydro- β -carboline elle-même (29, 30) tandis que le pic 201 proviendrait d'une fragmentation du monomère de type Corynanthe.

Le déplacement bathochrome en milieu alcalin du spectre UV, d'allure semblable à celui des hydroxy-10 et hydroxy-11 usambarines confirme la présence de la fonction phénolique.

Reste à préciser la position des fonctions phénoliques sur le benzène. L'analogie des coloris obtenue après révélation au sel de bleu solide, sur la paire hydroxy-10 et hydroxy-11 usambarines d'une part, et sur la paire des nouveaux alcaloïdes, d'autre part, nous fournit une première indication. L'alcaloïde à coloration mauve semble correspondre au dérivé hydroxy-10 («usambaridine Vi» et sérotonine) tandis que la coloration grise serait donnée par le dérivé hydroxy-11 (2). Les autres critères utilisés dans le but de préciser la position de la fonction phénolique sur l'hydroxy-10 usambarine sont également d'application pour ces alcaloïdes, à savoir les légères différences observées sur les spectres UV (les dérivés hydroxy-11 présentent une bande d'absorption entre 268 et 275 nm et le déplacement bathochrome observé en milieu alcalin est moins accentué que celui des alcaloïdes substitués en position 10) (2).

La multiplicité des signaux RMN¹H laisse également prévoir une substitution en position 10 ou 11. D'autre part, ce spectre RMN¹H nous fournit une preuve irréfutable quant à la position de la fonction phénol. Pour l'indole non substitué, la constante de couplage $^3J_{H_{11}-H_{12}}$ est supérieure à $^3J_{H_{10}-H_9}$ (numérotation «phytochimique») (31). En vertu de cette donnée, l'alcaloïde hydroxy-10 doit avoir une constante de couplage 3J des deux protons en ortho du benzène, plus importante que l'alcaloïde hydroxy-11. Nous avons mesuré 8,60 et 8,37 Hz respectivement. Cette hypothèse est confirmée par le déplacement chimique du

proton benzénique isolé (H9 ou H12 à $\delta = 6,82$ et $6,65$ ppm), plus déblindé pour l'alcaloïde substitué en 10. Nous avons vérifié ces deux éléments (couplage 3J et déplacement chimique) pour les hydroxy-10 et hydroxy-11 usambarines. De plus, la méthoserpidine substituée sur le C10 et précédemment comparée à l'hydroxy-10 usambarine, montre une constante de couplage $^3J_{H11-H12} = 8,5$ Hz semblable et un déplacement chimique du H9 à $\delta 6,93$ ppm encore plus déblindé ($\delta H9 = 6,78$ ppm pour l'hydroxy-10 usambarine) (2).

Outre les caractéristiques spectrales mentionnées ci-dessus, la présence des méthyles de l'ammonium quaternaire et de l'amine tertiaire, des 7 protons aromatiques et de la chaîne vinylique confirme l'attribution des deux formules planes proposées (fig. 2).

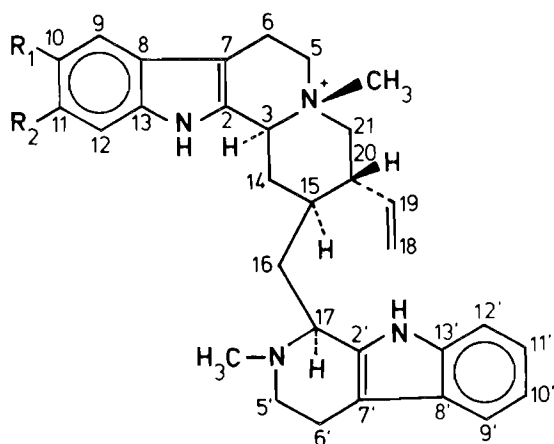


Fig. 2

$R_1 = OH, R_2 = H$; Nb-méthyl hydroxy-10 usambarine
 $R_1 = H, R_2 = OH$; Nb-méthyl hydroxy-11 usambarine

La stéréochimie de ces molécules est basée sur des considérations biogénétiques et spectroscopiques. La configuration de cinq centres d'asymétrie, H3, Nb⁺-méthyle, H17, H19 et H20 doit être précisée.

La détermination de la stéréochimie des différents centres d'asymétrie et, en particulier, de la jonction C/D de la partie corynane est un problème complexe étant donné l'impossibilité d'utiliser la présence (ou l'absence) des ban-

des de Bohlmann (masquées par l'absorption des N-méthyle) (32), et la difficulté d'interpréter les spectres de dichroïsme circulaire due à la superposition des courbes résultant de deux chromophores [la règle de KOCH (33) ne s'applique pas à ces molécules étant donné la quaternarisation de la partie corynane].

Puisqu'il s'agit de composés naturels de type Corynanthe, la règle de WENKERT et BRINGI permet d'attribuer la configuration 15α (34).

La comparaison en CCM des produits méthylés avec les hydroxy-10 et hydroxy-11 usambarines (elles-mêmes méthylées) et dont la configuration a été étudiée (H3 α -H17 α -H15 α -H20 β -jonction C/D *trans*) permet d'attribuer aux C asymétriques, des configurations semblables à celles de ces molécules, l'incertitude persistant quant à la nature de la jonction C/D. En effet, lors de la méthylation des hydroxy-10 et hydroxy-11 usambarines, on obtient dans un premier temps (après 5 min.) deux produits résultant de la monoquaternarisation sur la partie corynane (spot correspondant aux alcaloïdes isolés) ou sur la partie tétrahydro- β -carboline. Après une nuit de contact avec MeI, on obtient 2 autres spots de Rf nettement inférieur dont l'un correspond aux alcaloïdes nouveaux eux-mêmes méthylés (di-quaternaires); l'autre représentant vraisemblablement l'isomère diquaternaire (*cis* ou *trans*) sur la partie corynane.

En vue de confirmer la configuration de la jonction C/D, on peut néanmoins utiliser le déplacement chimique du N-méthyle quaternaire vers les hauts champs ($\delta = 3,16$ ppm) (35). Il s'agirait donc d'une jonction 3α *trans*, pour la partie corynane, semblable à celle donnée pour tous les dimères de ce type, possédant une chaîne vinyloéthyle, isolés du *S. usambarensis*. D'autre part, les paramètres RMN¹H des nouveaux alcaloïdes confirment pleinement les configurations établies. En particulier, en admettant une conformation chaise pour le cycle D, l'ensemble des constantes de couplage des protons H3, H14, H15, H20 et H21 indique les positions H3 ax., H15 ax. et H20 ax. en accord avec les configurations proposées.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Extraction et purification

— Les feuilles (*) du *Strychnos usambaren-sis* GILG ont été extraites selon un procédé décrit préalablement (1).

Les alcaloïdes non extractibles par le chloroforme ont été précipités sous forme de picrates et séchés sous vide à 40 °C. Avant leur purification par «DCCC», ils ont été convertis en chlorures sur résine Amberlite IRA 400, après dissolution dans le mélange acétone:méthanol:eau 6:2:1. Les solutions aqueuses récupérées après évaporation des solvants organiques ont été lyophilisées.

— Purification par «DCCC».

La chromatographie «DCCC» a été réalisée sur un appareil Tokyo Rikakikai, Tokyo, Japan, modèle DCCA, équipé de 300 tubes (Ø int.: 2 mm) (6).

Système de solvants: Phase stationnaire: phase supérieure (plus polaire) du système chloroforme:méthanol:tampon acétate (pH 3.6) 9:12:8. Phase mobile: phase inférieure du même système.

L'éluion a été effectuée selon les modalités décrites précédemment (6).

Nb-méthyl hydroxy-10 usambarine et Nb-méthyl hydroxy-11 usambarine

Poudres jaunâtres. Les deux alcaloïdes migrent pratiquement au même Rf dans les systèmes chromatographiques habituels (méthanol:nitrate d'ammonium 1 M: ammoniacque 2 M 7:2:1 (Rf = 0,55 et 0,56) et acétate d'éthyle:isopropanol:ammoniacque 1,5% 45:35:20 (Rf = 0,35 et 0,37 respectivement pour le dérivé hydroxy-10 et hydroxy-11. Ils sont révélés l'un en mauve (dérivé hydroxy-10) et l'autre en gris (dérivé hydroxy-11) par le sel de bleu solide B (Echtblau Salz B® Merck).

(*) Les échantillons analysés proviennent du Parc National de l'Akagera au Rwanda (Herbier ANGENOT n° 22 — Bruxelles; Butare).

— Nb-méthyl hydroxy-10 usambarine (C₃₁H₃₅N₄O)

UV $\lambda_{\text{MeOH}}^{\text{max}}$ nm (log ϵ): 223 (4,72), 274 (4,11), 280 ép. (4,06), 289 (3,97), 307 ép. (3,68)

$\lambda_{\text{MeONa}}^{\text{max}}$ nm (log ϵ): 223 (4,66), 275 (4,13), 289 (3,96), 317 (3,58)

IR $\tilde{\nu}_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3450, 2950, 1600, 1460, 1395, 1360, 1240, 1200, 1160, 1140, 1120, 945, 920, 760

SM 250°, 70 eV, m/z (ab. relat. en pourcentage du pic de base): 130 (3), 143 (6), 144 (9), 155 (9), 160 (5), 171 (8), 185 (100), 199 (19), 201 (42), 211 (9), 215 (11), 223 (4), 225 (3), 239 (17), 249 (3), 265 (14), 266 (4), 267 (7), 279 (5), 280 (5), 281 (3), 285 (3), 293 (2), 295 (2), 313 (6), 339 (6), 383 (6), 411 (8), 436 (5), 451 (1), 466 (M⁺-15; 6), 480 (M⁺-1; 7), 481 (M⁺; 3)

RMN¹H Bruker 360 MHz, CD₃OD, TMS, δ (ppm): semblable au spectre de la Nb-méthyl hydroxy-11 usambarine (voir ci-dessous) à l'exception des protons aromatiques: 7,41 (H9; d), 7,27 (H12; d; ³J_{H11-H12} = 8,6 Hz), 7,10 (H12'; d), 7,00 (H10' + H11'; t), 6,82 (H9; s), 6,70 (H11; d).

DC MeOH: $\Delta\epsilon_{274 \text{ nm}} = +4,8$;
 $\Delta\epsilon_{308 \text{ nm}} = -0,6$

— Nb-méthyl hydroxy-11 usambarine (C₃₁H₃₅N₄O)

UV $\lambda_{\text{MeOH}}^{\text{max}}$ nm (log ϵ): 225 (4,74), 271 (4,13), 284 (4,12), 291 (4,13), 305 (3,89)

$\lambda_{\text{MeONa}}^{\text{max}}$ nm (log ϵ): 226 (4,75), 268 ép. (4,19), 274 (4,21), 283 ép. (4,10), 291 (4,08), 312 (3,97)

IR $\tilde{\nu}_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3450, 3200, 3050, 2950, 1640, 1580, 1460, 1400, 1340, 1320, 1270, 1240, 1180, 1020, 985, 920, 760

SM 250°, 70 eV, m/z (ab. relat. en pourcentage du pic de base): 130 (4), 143 (16), 144 (11), 155 (7), 160 (5), 171 (5), 185 (100), 199 (11), 201 (22), 211

(5), 215 (8), 223 (4), 225 (3), 239 (9), 249 (2), 265 (10), 266 (4), 267 (5), 279 (4), 280 (3), 281 (3), 285 (2), 293 (1), 295 (2), 313 (2), 339 (2), 383 (3), 411 (3), 436 (3), 451 (1), 466 ($M^+ - 15$; 5), 480 ($M^+ - 1$; 4), 481 (M^+ ; 1)

RMN¹H Bruker 360 MHz, CD₃OD, δ CD₂HOD = 3,28 ppm, δ (ppm): 8,6 (OH/NH; s), 7,34 (H9'; d), 7,24 (H9; d; ³J_{H9-H10} = 8,37 Hz), 7,21 (H12'; d), 6,99 (H10'; t), 6,96 (H11'; t), 6,65 (H12; d; ⁴J_{H12-H10} \approx 2,1 Hz), 6,59 (H10; dd), 5,5 (H19; m; ³J_{H19-H20} \approx 9 Hz), 5,35 (H18A; m), 5,31 (H18B; m), 4,52 (H3; dd; ³J_{H3-H14B} = 12 Hz; ³J_{H3-H14A} = 4,8 Hz), 3,64 (H17; m; ΣJ \approx 11,2 Hz), 3,60 (H21A; m; ²J_{H21A-H21B} = 12,8 Hz; ³J_{H21A-H20} = 4 Hz), 3,51 (H21B; m; ³J_{H21B-H20} \approx 12,8 Hz), 3,16 (Nb-Me; s), 2,63 (H20; m), 2,44 (N'b-Me; s), 2,34 (H14A; d él.; ²J_{H14A-H14B} = 14 Hz, 2,16 (H16A; m; ²J_{H16A-H16B} = 14 Hz; ³J_{H16A-H15} = 3 Hz; ³J_{H16A-H17} = 6 Hz), 2,07 (H15; m; ³J_{H15-2H16} \approx 12 Hz), 1,7 (H14B; m; ³J_{H14B-H15} \approx 12 Hz), 1,65 (H16B; m; ³J_{H16B-H15} = 8,8 Hz; ³J_{H16B-H17} = 5,5 Hz)

DC MeOH: $\Delta\epsilon_{268\text{ nm}}$ = +3,4;
 $\Delta\epsilon_{296\text{ nm}}$ = +3,3

CONCLUSIONS

Il est intéressant de constater la présence d'alcaloïdes quaternaires dans les feuilles du *S. usambarensis*. En général, il existe très peu de dérivé quaternaires isolés à partir des feuilles, la méthylation se réalisant le plus souvent dans les organes souterrains des plantes.

On remarquera également la grande uniformité de structure de ces alcaloïdes (dimères de type Corynanthe-tryptamine) (5), par rapport aux molécules isolées à partir des racines, similitude non seulement structurale mais aussi stéréochimique (3 α trans; 17 α).

Enfin, l'intérêt porté à de nouvelles méthodes de purification d'alcaloïdes polaires, telle que la «DCCC» n'est pas vain, puisqu'elle nous a permis de séparer ces deux isomères (quaternaires et phénoliques) l'un de l'autre. On se rappellera qu'à l'aide des techniques chromatographiques classiques, la purification des deux isomères tertiaires correspondants s'était déjà révélée très difficile.

REMERCIEMENTS

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

Reçu en mars 1983

Prof. Dr LUC ANGENOT
Service de Pharmacognosie
Institut de Pharmacie de
l'Université de Liège
Rue Fusch 5
B-4000 Liège

Résumé

Deux nouveaux alcaloïdes bisindoliques isomères ont été isolés des feuilles du *S. usambarensis*. Il s'agit de dimères phénoliques de type «usambarine», correspondant en fait aux hydroxy-10 et hydroxy-11 usambarines Nb-méthylées. Leur détermination de structure et leur stéréochimie a été établie sur base de leurs propriétés spectroscopiques et par comparaison CCM avec les hydroxy-10 et hydroxy-11 usambarines quaternarisées.

Leur purification constitue une nouvelle application de la chromatographie goutte à goutte à contre-courant («DCCC»).

Une nomenclature uniformisée des alcaloïdes de type «usambarine» est proposée.

Samenvatting

Er werden twee nieuwe isomere bisindolalkaloïden geïsoleerd uit de bladeren van *S. usambarensis*. Het betreft hier fenoldimeren van het type „usambarine”, die in feite beantwoorden aan de Nb-gemethyleerde 10-hydroxy en 11-hydroxy usambarines. De bepaling van hun structuur en van hun stereochemie werd tot stand gebracht aan de hand van hun spectroscopische eigenschappen en door TLC vergelijking met de gekwaternariseerde 10-hydroxy en 11-hydroxy usambarines.

De zuivering ervan vormt een nieuwe toepassing

van de druppelsgewijze chromatografie in tegenstroom („DCCC”).

Ook wordt een systematische nomenclatuur van de alkaloiden van het „usambarine”-type voorgesteld.

Références

- (1) ANGENOT, L., COUNE, C. et TITS, M., *J. Pharm. Belg.*, **33**, 11 (1978).
- (2) ANGENOT, L., COUNE, C. et TITS, M., *J. Pharm. Belg.*, **33**, 284 (1978).
- (3) ANGENOT, L., COUNE, C., TITS, M. et YAMADA, K., *Phytochemistry*, **17**, 1687 (1978).
- (4) ANGENOT, L., *Pl. méd. et Phyt.*, **12**, 123 (1978).
- (5) CORDELL, G. et SAXTON, E., Bisindole Alkaloids, Chapter 1 in: *The Alkaloids*, vol. XX, Academic Press, London. Edited by RODRIGO (1981).
- (6) CAPRASSE, M., COUNE, C. et ANGENOT, L., *J. Pharm. Belg.*, **36**, 243 (1981).
- (7) CAPRASSE, M., COUNE, C. et ANGENOT, L., *J. Pharm. Belg.*, **38**, 135 (1983).
- (8) OGUAKWA, J. U., GALEFFI, C., MESSANA, I., LA BUA, R., NICOLETTI, M. et MARINI-BETTOLO, G. B., *Gazz. Chim. Ital.*, **108**, 615 (1978).
- (9) OGUAKWA, J. U., NICOLETTI, M., MESSANA, I., GALEFFI, C. et MARINI-BETTOLO, G. B., *Atti Accad. Naz. Lincei Cl. Sci. Fis., Mat. Nat. Rend.*, **65**, 299 (1978).
- (10) NICOLETTI, M., OGUAKWA, J. U. et MESSANA, I., *Fitoterapia*, **3**, 131 (1980).
- (11) RICHARD, C., DELAUDE, C., LE MEN-OLIVIER, L. et LE MEN, J., *Phytochemistry*, **17**, 539 (1978).
- (12) KOCH, M. et PLAT, M., *C.R. Acad. Sc. Paris*, **273**, 753 (1971).
- (13) ANGENOT, L. et BISSET, N. G., *J. Pharm. Belg.*, **5**, 585 (1971).
- (14) ANGENOT, L. et DENOËL, A., *Planta Med.*, **21**, 96 (1972).
- (15) ANGENOT, L., DUBOIS, M., GINION, Ch., VAN DORSSER, W. et DRESSE, A., *Arch. Intern. Pharmacodyn. Ther.*, **215**, 246 (1975).
- (16) COUNE, C., ANGENOT, L. et DENOËL, J., *Phytochemistry*, **19**, 2009 (1980).
- (17) YAMADA, K., AOKI, K. et UEMURA, D., *J. Org. Chem.*, **40**, 2572 (1975).
- (18) KOCH, M., FELLION, E. et PLAT, M., *Ann. Pharm. Fr.*, **31**, 45 (1973).
- (19) RUEFFER, M., NAGAKURA, N. et ZENK, M. H., *Tetrahedron Lett.*, 1593 (1978).
- (20) SEGUIN, E. et KOCH, M., *J. Med. Plant. Res.*, **37**, 175 (1979).
- (21) COUNE, C., TITS, M. et ANGENOT, L., *J. Pharm. Belg.*, **37**, 189 (1982).
- (22) BISSET, N. G., *Alkaloids of the Loganiaceae*, Chapter 3 in: *Indole and Biogenetically Related Alkaloids*, Academic Press, London. Edited by J. D. PHILIPSON and M. H. ZENK (1980).
- (23) SAXTON, J. E., *Indole Alkaloids*, Chapter 11 in: *The Alkaloids*, Specialist Periodical Report, Volume 10. Royal Society of Chemistry, London (1981).
- (24) DIDEBERG, O., DUPONT, L. et ANGENOT, L., *Acta Cryst.*, **B31**, 1571 (1975).
- (25) DUPONT, L., LAMOTTE-BRASSEUR, J., DIDEBERG, O., CAMPSTEYN, H., VERMEIRE, M. et ANGENOT, L., *Acta Cryst.*, **B33**, 1801 (1977).
- (26) DIDEBERG, O., LAMOTTE-BRASSEUR, J., DUPONT, L., CAMPSTEYN, H., VERMEIRE, M. et ANGENOT, L., *Acta Cryst.*, **B33**, 1796 (1977).
- (27) HESSE, M., *Indolalkaloide*, *Progress in Mass Spectrometry*, Verlag Chemie, Weinheim. Edited by H. BUDZIKIEWICZ (1974).
- (28) BUDZIKIEWICZ, H., DJERASSI, C. et WILLIAMS, D. H., *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry*, vol. I, Alkaloids. Holden-Day, San Francisco (1964).
- (29) COUNE, C. et ANGENOT, L., *Phytochemistry*, **17**, 1447 (1978).
- (30) COUNE, C., Contribution à l'étude du *S. gossweileri* du Zaïre. Isolement et détermination de structure de nouveaux alcaloïdes. Thèse de doctorat en Sciences Pharmaceutiques, Université de Liège (1981).
- (31) BLACK et HEFFERNAN, *Aust. J. Chem.*, **18**, 353 (1965); BATTERHAM, T. J. *NMR Spectra of Simple Heterocycles*. Wiley-Interscience, London (1973).
- (32) GAUDEMER, A., GOLFIER, M., MANDELBAUM, A. et PARTHAS ARATEY, R. in: *Stereochemistry (Fundamentals and Methods)*, volume 1, *Determination of Configurations by Spectrometric Methods*, Georg Thieme Publishers, Stuttgart. Edited by KAGAN, H. B. (1977).
- (33) KOCH, M., PLAT, M. et PREAUX, N., *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 2868 (1973).
- (34) WENKERT, E. et BRINGI, N. V., *J. Amer. Chem. Soc.*, **81**, 1474 (1959).
- (35) MOYNEHAM, T. M., SCHOFIELD, K., JONES, R. A. Y. et KATRITZKY, A. R., *J. Chem. Soc.*, 2637 (1962).