

**DÉCOUVERTES RÉCENTES DANS LA CHIMIE  
DES ALCALOÏDES DU *STRYCHNOS USAMBARENSIS* GILG**

par L. ANGENOT et A. DENOËL

Laboratoire de Pharmacognosie de l'Université de Liège  
[Dir. : Pr. A. DENOËL], rue Fusch, 5, B-4000 Liège [Belgique]

RÉSUMÉ

Dix alcaloïdes isolés du *S. usambarensis* (Loganiacée africaine) ont, jusqu'à présent, été identifiés. Il s'agit, dans la majorité des cas, d'alcaloïdes *bis*-indoliques, tantôt di-quaternaires symétriques responsables de l'activité curarisante de la drogue rwandaise, tantôt asymétriques, d'un type nouveau, présent également dans les Apocynacées et les Rubiacées.

Ces différents alcaloïdes possèdent vraisemblablement une même origine biogénétique ; le rôle de l'acide loganique présent dans cette espèce est aussi discuté.

Le *Strychnos usambarensis* est une plante toxique du Rwanda où elle entre dans la préparation d'un poison de chasse curarisant [1]. Les *écorces de racines* — objet de nos recherches — contiennent une série d'alcaloïdes indoliques tertiaires et quaternaires, que nous avons répartis de la sorte suivant la polarité des molécules (fig. 1).

I. — ALCALOÏDES PRÉCIPITANT A pH 8

a) Alcaloïdes tertiaires :

— monomères tel l'harmane [3] ;

— dimères : usambarensine [2], 3,4 dihydro-usambarensine.

b) Alcaloïdes hybrides possédant à la fois une fonction amine tertiaire et une fonction ammonium quaternaire : N<sup>6</sup>-méthyl-usambarensine et N<sup>6</sup>-méthyl-3,4 dihydro-usambarensine [2].

II. — ALCALOÏDES SOLUBLES A pH 8

a) Base anhydronium extractible par le CHCl<sub>3</sub> à pH 11 : 6,7-dihydro-flavopéirine [4].

b) Alcaloïdes diquaternaires : C-dihydrotoxiférine et C-curarine [5]. Seuls ces deux alcaloïdes expliquent jusqu'à présent l'activité curarisante élevée de la drogue et, de ce fait, l'efficacité du poison de chasse qui en dérive.

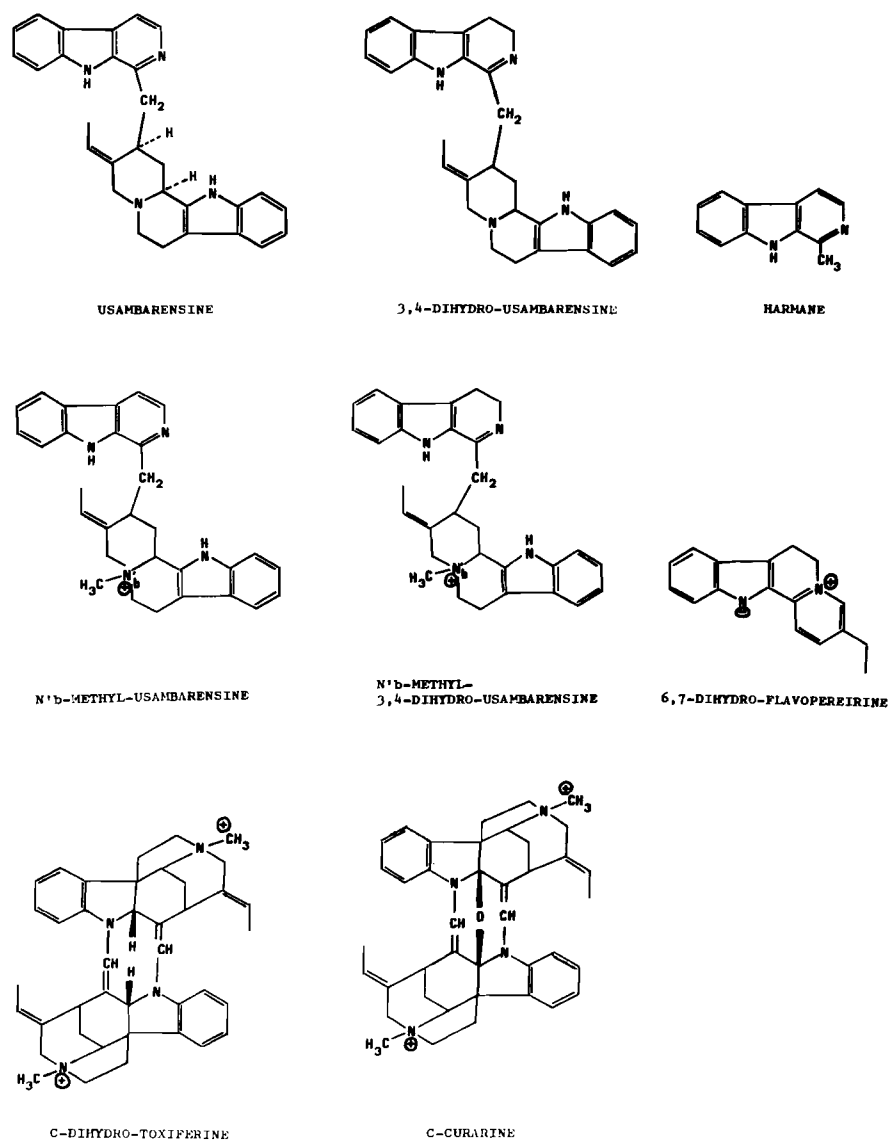


FIG. 1. — Alcaloïdes du *S. usambarensis* du Rwanda.

Des recherches parallèles aux nôtres ont été entreprises sur les feuilles de la même espèce récoltées en Côte-d'Ivoire, où ce *Strychnos* ne se présente pas sous forme arborescente comme au Rwanda mais sous forme lianeuse. Ces recherches ont permis l'isolement d'une faible quantité d'alcaloïdes tertiaires (usambarine et usambaridine) qui possèdent le même squelette que l'usambarensine [14], [15]. La seule différence réside dans le fait que l'usam-

barensine possède deux chromophores distincts, tandis que l'usambarine (fig. 2) possède deux chromophores identiques.

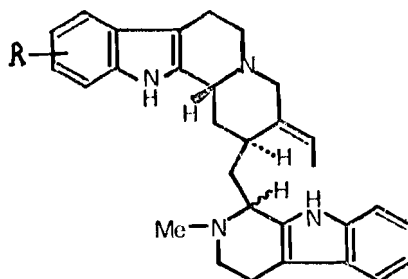


FIG. 2. — Alcaloïdes du *S. usambarensis* de la Côte-d'Ivoire.  
R = H usambarine ; R = OH usambaridine.

Jusqu'à présent, les recherches entreprises sur le *S. usambarensis* ont ainsi permis l'isolement d'alcaloïdes de type *Corynanthe*, telles l'usambarensine et l'usambarine et d'alcaloïdes de type *Strychnos* telles la C-dihydrotoxiférine et la C-curarine, ce qui est explicable par la biogenèse des alcaloïdes indoliques qui s'effectuerait de la façon exposée dans le chapitre suivant.

#### 1. — BIOGENÈSE PROBABLE DES ALCALOÏDES DU *S. USAMBARENSIS* (rôle possible de l'acide loganique)

Des études récentes ont montré que les relations étroites existant entre les alcaloïdes des familles des Loganiacées, Apocynacées et Rubiacées étaient dues à la biogenèse des alcaloïdes, biogenèse dont les principales étapes ont été élucidées au terme de brillantes recherches poursuivies ces dernières années [6], [12], [19]. L'essentiel de ces recherches est résumé dans les tableaux suivants qui illustrent d'une part les similitudes existant lors de la biogenèse des alcaloïdes contenus dans les 3 familles, d'autre part le rôle essentiel de la loganine (et vraisemblablement de l'acide loganique) d'où est issue la partie monoterpénique des alcaloïdes.

Ainsi que l'indique le tableau I, la biogenèse des alcaloïdes indoliques résulte de la condensation de l'acide aminé (tryptophane) ou de l'amine dérivée (tryptamine) avec un monoterpénoïde (sécologanine). Les différentes étapes ont été établies après incorporation des différents produits intermédiaires marqués au  $^{14}\text{C}$  et/ou à  $^3\text{H}$  dans des positions déterminées (analyse par dilution isotopique).

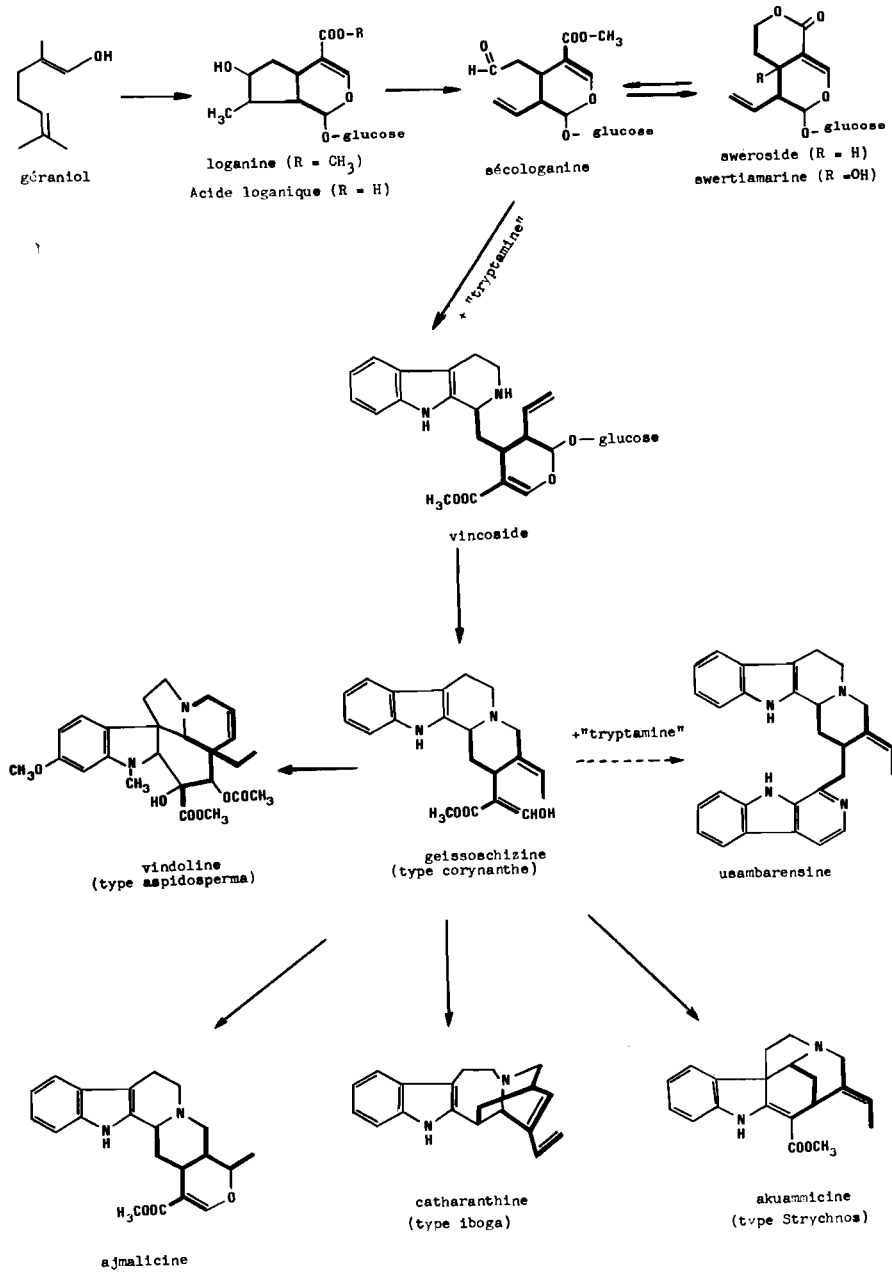
— Le géraniol provient de deux molécules d'acide mévalonique qui sont transformées en isopenténylpyrophosphate puis en géranylpyrophosphate.

— Dans les *Strychnos*, la sécologanine provient de la loganine ou de l'acide loganique.

— Il a été démontré que les alcaloïdes de squelette *Corynanthe* apparaissent dans les plantules de *Catharanthus roseus* avant les alcaloïdes de

TABLEAU I

BIOSYNTHESE POSSIBLE DES ALCALOÏDES INDOLIQUES



squelette *Strychnos*, *Iboga* et *Aspidosperma*. Les étapes se produisant lors de la transformation des différents squelettes sont actuellement à l'étude. Le mécanisme par lequel le squelette *Corynanthe* est converti en squelette *Strychnos* « type akuammicine » nous intéresse particulièrement car ce sont les deux types d'alcaloïdes rencontrés jusqu'à présent dans le *S. usambarensis*.

La présence concomitante dans le *S. usambarensis* de la C-dihydrotoxiférine (alcaloïde de squelette *Strychnos*, car dimère du type de l'akuammicine) et de l'usambarensine (alcaloïde de squelette *Corynanthe*) peut ainsi s'expliquer aisément. Ces alcaloïdes proviennent vraisemblablement des mêmes précurseurs biogénétiques (notamment loganine ou acide loganique).

## 2. — IDENTIFICATION DE L'ACIDE LOGANIQUE

L'acide loganique (ou loganosique) ainsi que la loganine (ou loganoside) font partie des iridoïdes qui sont des produits possédant un cycle cyclopentane accolé à un cycle pyrane. Le terme iridoïde provient de la parenté que présentent ces composés avec l'iridodial sous sa forme énol-hémiacétalique.

La loganine est un hétéroside isolé dès le siècle passé de la pulpe des fruits de *Strychnos nux-vomica*. Sa mise en évidence aisée (apparition d'une coloration rouge violacé avec l'acide sulfurique chaud) a été mise à profit pour l'identification des préparations galéniques de *S. nux-vomica* (voir diverses pharmacopées).

Cet hétéroside avait été recherché lors du screening entrepris par l'un de nous (A. D.) sur les *Strychnos* du Zaïre (ex-Congo belge) [11]. Seul le *Strychnos phaeotricha* Gilg contenait de la loganine en quantité appréciable, mais par contre un composé voisin fut décelé dans de nombreuses espèces. Cet hétéroside fut isolé des graines de *S. angolensis* Gilg et appelé acide loganosique par JAMINET [13]. Ce produit fut retrouvé en 1968 dans le *Swertia caroliniensis* (Walt) Kuntze (Gentianacées) [10] et récemment dans les fruits de *Strychnos nux-vomica* [8].

L'acide loganique présente la même coloration que la loganine sous l'effet de l'acide sulfurique à chaud et un spectre U. V. très proche. Cependant, en chromatographie, les deux produits sont aisément séparés.

Nous avons donc recherché ces hétérosides par la technique mise au point précédemment dans le laboratoire [11]. Il était indispensable de purifier les extractifs car il y avait trop de substances colorées dans l'extractif de *Strychnos usambarensis*, ce qui empêchait d'observer la coloration rouge violacé qui apparaît avec l' $H_2SO_4$  chaud lors de la présence de ces hétérosides.

*Mode opératoire suivi d'après* [11] (p. 59-60) :

Dix grammes de poudre sèche d'écorce de racines sont épuisés par macération au reflux au bain-marie bouillant pendant 3 h au moyen de 100 ml d'éthanol à 50°. Après refroidissement, la poudre épuisée est filtrée et lavée avec 50 ml d'éthanol à 50° employés en trois fois. Les extraits alcooliques sont concentrés sous vide jusqu'au départ de l'éthanol. On reprend

par 100 ml d'eau distillée tiède puis on filtre. Au filtrat limpide obtenu, on ajoute 25 ml de solution d'acétate de plomb neutre et 25 ml de solution d'acétate de plomb basique. On laisse déposer pendant 15 mn le précipité formé, on filtre et on lave avec 50 ml d'eau distillée employés en quatre fractions. Les solutions aqueuses sont réunies et traitées pendant 2 h par un courant d'acide sulfhydrique pour éliminer l'excès de plomb. Le précipité de PbS formé est filtré, lavé par 50 ml d'eau distillée employés en quatre fois et les solutions aqueuses filtrées sont réunies et évaporées au bain-marie jusqu'au volume de 10 ml.

Cette solution a été utilisée pour réaliser les essais suivants :

A. *Test global.* — Recherche des iridoïdes par la réaction à l'acide sulfurique chaud effectuée dans une capsule de porcelaine. Evaporer au bain-marie le mélange d'1 ml de solution et de 10 gouttes d'acide sulfurique dilué : il se produit graduellement une coloration violette s'étendant du bord vers le centre (réaction positive). Les séco-iridoïdes ne donnent pas cette réaction.

B. *Recherche de la loganine (loganoside) et/ou de l'acide loganique (loganique) par chromatographie sur papier Whatman I.* — Grâce à l'obligeance de MM. les Drs BISSET et CHOUDHURY (Chelsea College, University of London), nous avons pu disposer de substances de référence (loganine et acide loganique) afin de rechercher la présence de ces hétérosides dans le *Strychnos usambarensis* (épreuve de l'étalon interne).

Phase mobile : phase de Partridge = *n*-Butanol-HAc-Eau distillée 4 : 1 : 5.

Révéléteurs :

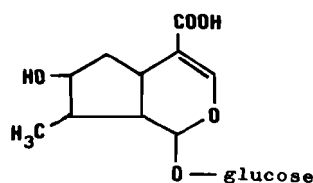
- I. Acide sulfurique à 10 % dans l'éthanol à 80°. Le chromatogramme ainsi vaporisé est placé à l'étuve à 100 °C pendant quelques minutes. La loganine et l'acide loganique apparaissent sous la forme de spots rouge violacé.
- II. Solution de trichlorure d'antimoine à 15 % dans le chloroforme [15]. Il y a également apparition d'une coloration rouge-violette après chauffage de quelques minutes à l'étuve portée à 100 °C.

De la sorte, nous notons l'absence de loganine d'une part et la présence d'acide loganique (spot à  $R_f$  0,50) (étalon interne) et d'une autre substance révélée en bleu par les deux réactifs (substance migrant à un  $R_f$  de 0,55).

C. *Spectre U. V. du produit d'éluion de la substance migrant à  $R_f$  0,50.* — Nous réalisons au préalable une chromatographie préparative sur papier Whatman 3 MM dans la phase de Partridge. Après dessiccation du chromatogramme et éluion à l'aide de méthanol, nous avons pris le spectre de la substance migrant à  $R_f$  0,50. Ce spectre est superposable au spectre de la substance de référence.

Ces essais nous permettent de conclure à la présence d'acide loganique dont la structure est reprise ci-dessous :

PRECURSEUR BIOGENETIQUE  
DES ALCALOIDES



ACIDE LOGANIQUE

FIG. 3.

TABLEAU II

Biosynthèse d'alcaloïdes possédant deux unités "amine"  
pour une unité monoterpénique

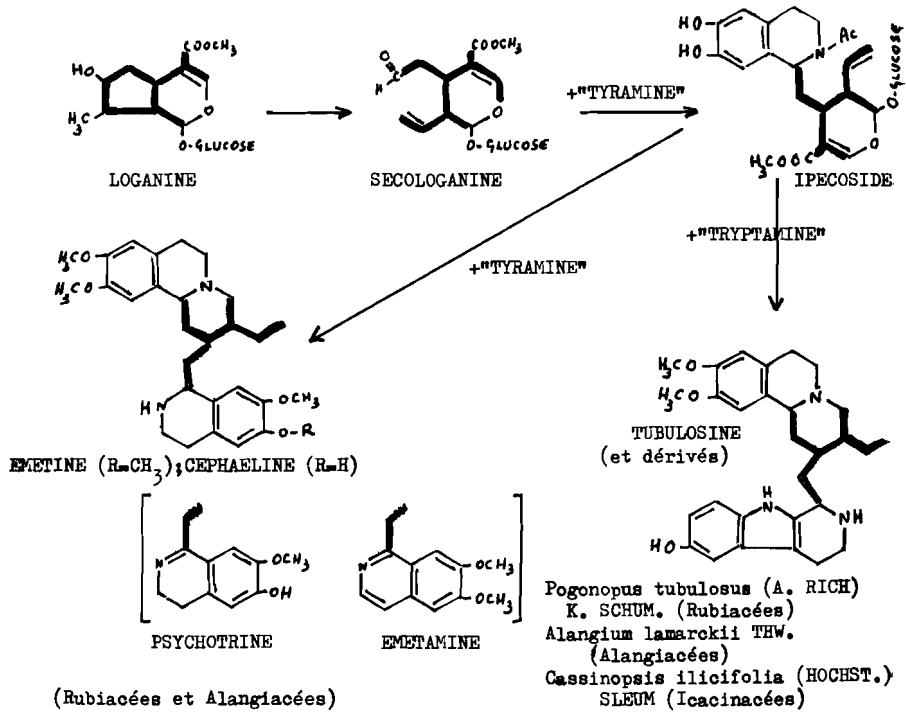
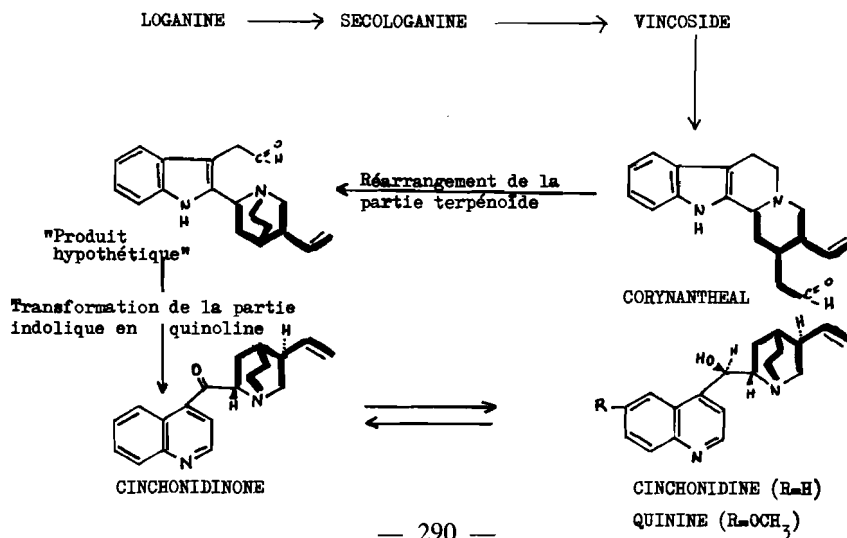


TABLEAU III

Biosynthèse de la quinine



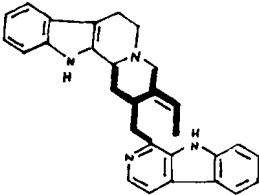
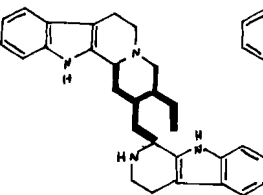
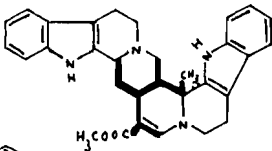
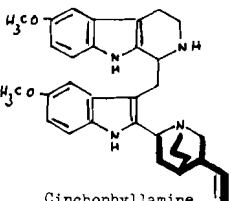
3. — CORRÉLATIONS ENTRE LA BIOGÈNESE DE L'USAMBARENSINE  
ET CELLE DES ALCALOÏDES DE L'IPÉCA (RUBIACÉES),  
DU QUINQUINA (RUBIACÉES) ET DES OCHROSIA (APOCYNACÉES)

Les tableaux II et III montrent le rôle essentiel de la loganine dans la biosynthèse des alcaloïdes de l'ipéca et du Quinquina (famille des Rubiacées). Avant cette découverte, les relations liant ces deux types d'alcaloïdes aux alcaloïdes indoliques des Apocynacées, Loganiacées et d'autres Rubiacées étaient mystérieuses.

En fin de compte, la biogénèse de l'émétine et alcaloïdes dérivés est semblable à celle d'alcaloïdes indoliques, telle l'usambarensine ; la sécologanine se condense à une unité tyramine (au lieu de tryptamine) pour donner l'ipécoside (glucoside basique correspondant au vincoside). Ce composé se condense avec une seconde unité « tyramine » pour donner les différents alcaloïdes du *Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich, alcaloïdes retrouvés aussi dans *Alangium lamarckii* Thw (Alangiacées). Lorsque l'ipécoside se

TABLEAU IV

ALCALOÏDES POSSEDANT DEUX UNITÉS TRYPTAMINE ET UNE UNITÉ MONOTERPENOÏDE

LOGANIACÉES	APOCYNACÉES	RUBIACÉES
		
Usambarensine (et dérivés) Strychnos usambarensis GILG [2, 14, 15]	Ochrolifuanines A et B (Stéréoisomères) Ochrosia lifuana GUILL. [16] Ochrosia confusa PICHON [7] Ochrosia oppositifolia (LAM.) K. SCHUM. [17]	Roxburghines A et B (Stéréoisomères) Uncaria gambir ROXB. [9]  Cinchophyllamine (et isomère) * Cinchona ledgeriana MOENS [12]

(\*) Une étude aux rayons X aurait prouvé que la cinchophyllamine possédait en fait également une partie de type corynane et une partie de type tétrahydro-β-carboline (Communication de M. KOCH au Colloque d'Angers).



condense avec une unité tryptamine, on obtient la tubulosine et autres dérivés.

Quant à la biosynthèse de la quinine (tabl. III), il est surprenant de constater le rôle de la sécologanine qui se condense avec une unité « tryptamine » pour fournir le vincoside qui après passage en corynanthéal subit un réarrangement de la partie monoterpénoïde en quinuclidine qui aboutit au produit hypothétique (tabl. III) à rapprocher de la formule de la cinchophyllamine (tabl. IV). Il se produit alors une transformation de la partie indolique en quinoléine pour en arriver à la structure finale de la quinine et alcaloïdes voisins.

Les structures des alcaloïdes repris dans le tableau IV représentent des alcaloïdes possédant deux unités « tryptamine » pour une unité monoterpénoïde. C'est le cas de l'usambarensine et d'autres alcaloïdes provenant des Apocynacées et des Rubiacées, ce qui confirme bien les corrélations étroites préexistantes.

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] ANGENOT (L.). — *Ann. Pharm. Franç.*, 1971, **29**, 353.
- [2] ANGENOT (L.) et BISSET (N. G.). — *J. Pharm. Belg.*, 1971, **26**, 585.
- [3] ANGENOT (L.), BISSET (N. G.) et DENOËL (A.). — *Pl. Médic. et Phyt.*, 1973, **7**, 33.
- [4] ANGENOT (L.) et DENOËL (A.). — *Planta Medica*, 1973, **23**, 226.
- [5] ANGENOT (L.). — Thèse de Doctorat, Université de Liège, 1973.
- [6] BATTERSBY (A. R.) dans « The Alkaloids ». — Vol. I, Specialist Periodical Reports. The Chemical Society. Burlington House London (1971), p. 31 à 47.
- [7] BRUNETON (J.) et CAVÉ (A.). — *Phytochemistry*, 1972, **11**, 2618.
- [8] CHOUDUHRY. — Thèse de Doctorat, London, June 1972.
- [9] CISTARO (C.), MERLINI (L.), MONDELLI (R.) et NASINI (G.). — *Chem. Comm.*, 1972, 785.
- [10] COSCIA (C. J.) et GUARNACCIA (R.). — *Chem. Comm.*, 1968, 138.
- [11] DENOËL (A.), JAMINET (F.), DETILLEUX (G.), VAN SUMSEN (M.) et MERVELLE (L.). — Contribution à l'étude chimique des *Strychnos* du Congo belge. Ministère des Colonies, Direction de l'Agriculture, Bruxelles, 1953, 208 p.
- [12] FRANCIS (M. J. O.) dans « Aspects of Terpenoid Chemistry and Biochemistry ». — Edited by T. W. GOODWIN, Academic Press, 1971, London and New York, p. 29-51.
- [13] JAMINET (F.). — *Lejeunia*, 1951, **15**, 23.
- [14] KOCH (M.) et PLAT (M.). — *C. R. Acad. Sci.*, 1971, **273 c**, 753.
- [15] KOCH (M.), FELLION (E.) et PLAT (M.). — *Ann. Pharm. Franç.*, 1973, **31**, 45.
- [16] PEUBE-LOCOU (N.), KOCH (M.), PLAT (M.) et POTIER (P.). — *Ann. Pharm. Franç.*, 1972, **30**, 775.
- [17] PEUBE-LOCOU (N.), KOCH (M.), PLAT (M.) et POTIER (P.). — *Phytochemistry*, 1972, **11**, 2109.
- [18] POTIER (P.), KAN (C.), LE MEN (J.), JANOT (M. M.), BUDZIKIEWICZ (H.) and DJERASSI (C.). — *Bull. Soc. Chim. France*, 1966, 2309.
- [19] STAUNTON (J.) dans « The Alkaloids ». — Vol. II, Specialist Periodical Reports. The Chemical Society. Burlington House London, 1972, p. 1-32.
- [20] WIEFFERING (J. H.). — *Phytochemistry*, 1966, **5**, 1053.