

NOUVEAUX ALCALOÏDES DES FEUILLES DU *STRYCHNOS USAMBARENSIS*

par

LUC ANGENOT, CLAUDE COUNE et MONIQUE TITS

SUMMARY

New alkaloids from *Strychnos usambarensis* leaves

Fourteen bis-indole alkaloids have been isolated from Strychnos usambarensis leaves. Nine are described here for the first time: 18,19-dihydro-usambarine; usambaridines and their dihydroderivatives; strychnobaridine; strychnopentamine and isomers. The elucidation of structure and the stereochemistry of these new compounds are also discussed. They possess the "usambarensine" skeleton; moreover many are phenolic and amongst them, strychnopentamine and isomers are curious indole alkaloids with five nitrogen atoms: a methylpyrrolidine group is joined to the benzene ring of the corynane part of the molecule.

KEY WORDS

Strychnos usambarensis – Loganiaceae – New indole alkaloids: 18,19 dihydro-usambarine, usambaridines (Vi and Br), 18,19 dihydro-usambaridines, strychnobaridine, strychnopentamine, isostrychnopentamines A and B.

I. INTRODUCTION

Il pourrait paraître étonnant que des recherches soient encore consacrées aux représentants du genre *Strychnos*. Cependant, quand on fait un bilan, on constate rapidement que le sujet n'est guère épuisé. Ce qui justifie la nouvelle vague d'intérêt que suscite l'étude des *Strychnos* dans de nombreux laboratoires européens et notamment à Londres, Paris, Rome, Uppsala, Leyde et Liège.

Parmi les causes de ce regain d'intérêt figurent, d'une part, le petit nombre d'espèces étudiées jusqu'à présent, d'autre part, la diversité chimique des principes actifs, enfin, les effets pharmacologiques multiples (curarisants, tétanisants, atropiniques, hypotenseurs, I.M.A.O., antitumoraux...) que l'on découvre pour ces nouveaux alcaloïdes des *Strychnos* (1).

La première étude phytochimique systématique des *Strychnos* africains fut réalisée à Liège, au cours des années 1948 à 1953, dans le laboratoire de Pharmacognosie auquel nous appartenons et que dirigeait alors M^r le Professeur Albert DENOËL, qui avait, le premier, prévu l'intérêt que présenteraient ces plantes (2).

La révision taxinomique détaillée du genre *Strychnos* ouvrit la voie à l'exploitation des résultats obtenus en travaillant des plantes soigneusement identifiées; de plus, le nombre d'espèces de *Strychnos* fut ramené de 300 à 75 (3).

Ces plantes renferment de nombreux alcaloïdes, c'est pourquoi les techniques chromatographiques s'avèrent indispensables pour séparer les constituants qui sont ensuite soumis aux méthodes modernes d'investigation structurale. Il a fallu 150 ans et des kilogrammes d'alcaloïde pour établir la formule de la strychnine; par contre, moins de 3 mois et quelques cristaux nous ont suffi pour proposer celle de la strychnopentamine (voir plus loin). Si de tels progrès peuvent être enregistrés, c'est grâce au développement des techniques modernes : spectrophotométrie U.V. et I.R., spectrométrie de masse à haute résolution, résonance magnétique nucléaire, diffraction aux rayons X...; cette dernière technique n'est cependant applicable qu'à des cristaux adéquats.

II. MATÉRIEL VÉGÉTAL ÉTUDIÉ

Le *Strychnos usambarensis* est une des trois espèces de *Strychnos* les plus répandues en Afrique. En Afrique occidentale et centrale, il se présente sous la forme d'une liane pouvant atteindre 70 mètres de long; en Afrique orientale, il s'agit, par contre, d'arbres de 5 à 15 m de haut dont les branches sont dépourvues de cirrhes (à la différence des lianes de la même espèce). Les feuilles sont glabres, mucronées au sommet et arrondies à la base (dimensions : 3–8 cm × 1,5–3,5 cm); elles présentent la nervation caractéristique du genre. Les inflorescences axillaires sont beaucoup plus courtes que les feuilles; les fleurs blanches sont tétra- ou pentamères. Les fruits, de teinte orangée à maturité, sont des baies de la grosseur de prunelles et ne contiennent qu'une graine sise dans une pulpe orange. Les échantillons étudiés ont été récoltés par un des auteurs (L.A.) dans une forêt située au sud du lac Ihéma dans le Parc National de l'Akagéra au Rwanda. Les exemplaires d'herbier (spécimen voucher ANGENOT 22, Bruxelles, Wageningen et Liège) ont servi de modèle pour la planche ci-jointe (fig. 1) due à l'obligeance de M^{lle} R. MELOTTE, botaniste.

III. RÉSULTATS PHYTOCHIMIQUES

Les alcaloïdes des feuilles comportent à côté de 2 alcaloïdes non oxygénés, une douzaine d'alcaloïdes phénoliques. Ces alcaloïdes ressemblent à l'usambarensine et ses dérivés que nous avons précédemment isolés des racines de ce même *Strychnos* (4 à 6)."

Néanmoins, des différences existent : la partie corynane qui n'est plus munie d'une chaîne éthylidénique, est couplée à une N_b méthyl-tétrahydro- β -carboline; certains alcaloïdes des feuilles possèdent en plus une méthylpyrrolidine greffée sur le cycle benzénique de la partie corynane.

III.A. Alcaloïdes non oxygénés

Cette fraction renferme deux produits en quantité équivalente.

Le premier d'entre eux, l'usambarine ($C_{30}H_{34}N_4$.PM 450) avait été isolé en 1971 (7). Nous venons d'en reviser la structure (8).

Le second alcaloïde est nouveau ($C_{30}H_{36}N_4$.PM 452). L'analyse de ses spectres a révélé qu'il s'agissait en fait du dérivé 18,19 dihydro de l'usambarine. Le remplace-

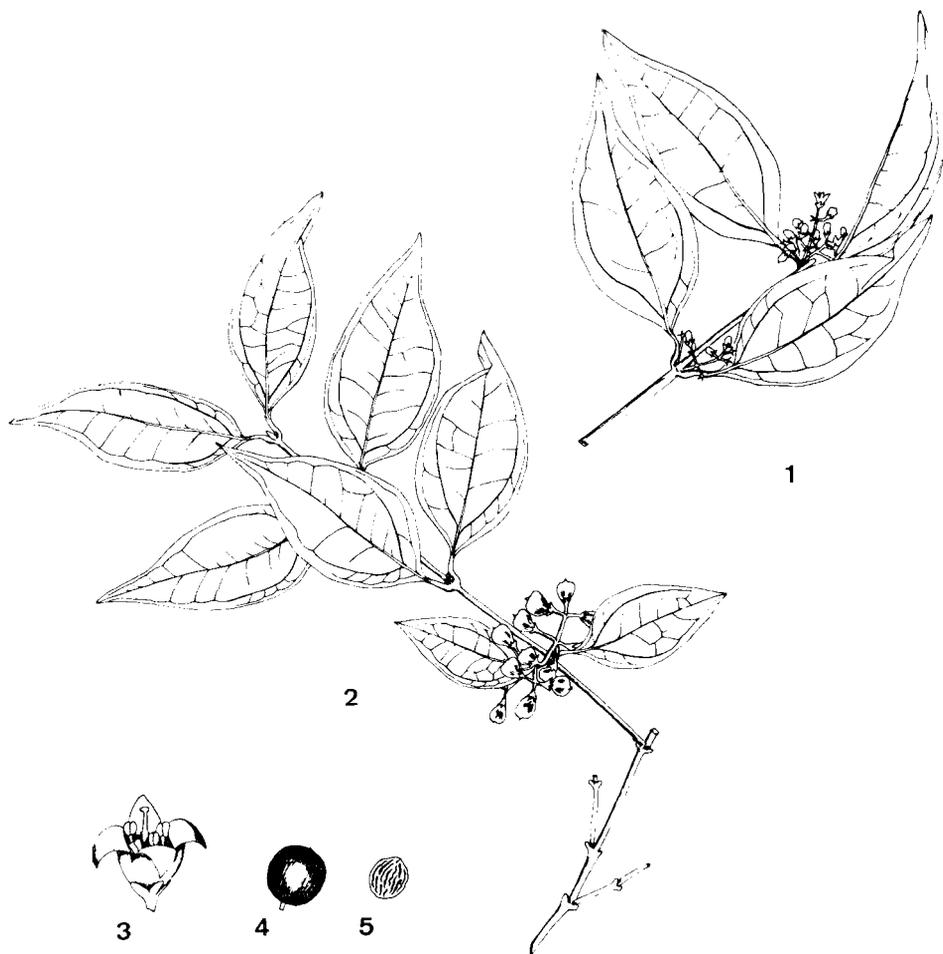


Fig. 1

Rameaux de *Strychnos usambarensis* GILG : 1. en fleurs ($\times 0,5$); 2. en fruits ($\times 0,5$); 3. détail d'une fleur ($\times 5$); 4. fruit mûr ($\times 0,5$); 5. graine ($\times 0,5$).

ment de la chaîne vinyle, présente dans la formule de l'usambarine, par une chaîne éthyle s'observe aisément en RM¹H (disparition des signaux entre 5,5 et 5 ppm), en IR (disparition d'un pic important à 920 cm⁻¹) et en SM (fragments de la partie corynane additionnés de 2 unités).

La stéréochimie de ce produit est identique à celle que nous avons proposée pour l'usambarine (3S, 4R, 15S, 17S, 20R). Les configurations 3S et 4R sont déduites d'une part de la présence de bandes de Bohlmann (2750–2850 cm⁻¹) dans le spectre IR, d'autre part, de l'absence de signal à champ faible du C₃H dans le spectre RMN et enfin, de l'effet « Cotton » positif intense observé sur la courbe de dichroïsme circulaire. Cet effet permet également de proposer la même configuration pour le C₁₇H. La configuration 15S est basée sur des arguments biogénétiques et la configuration 20R est proposée car on observe un triplet asymétrique à $\delta = 0,82$ ppm, pour la chaîne éthyle. Or, des études comparatives d'alcaloïdes munis d'une chaîne éthyle ont permis de constater que les groupes éthyle orientés équatorialement se traduisaient

en RM¹H par un triplet mal résolu et asymétrique du méthyle greffé sur C₁₉, tandis que les groupes éthyle orientés axialement donnaient un triplet bien résolu et symétrique (9, 10). La fig. 2 représente la formule de la 18,19 dihydro-usambarine.

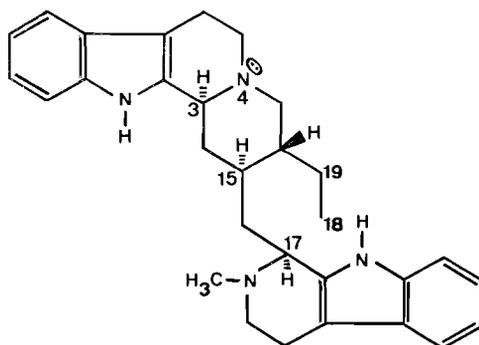


Fig. 2
Structure de la 18,19 dihydro-usambarine.

III.B. Alcaloïdes phénoliques

Cette fraction, nettement plus importante que la précédente, renferme une douzaine d'alcaloïdes.

III.B.1. Usambaridines et dérivés

L'usambaridine répond à la formule brute C₃₀H₃₄N₄O. Elle a été isolée pour la première fois par KOCH et al. des feuilles du *S. usambarensis* de la Côte d'Ivoire (11). Une structure lui fut attribuée par comparaison de ses spectres, et surtout du spectre de masse, avec ceux de l'usambarine isolée par la même équipe (7). De cette façon, la même erreur de structure que celle relevée pour l'usambarine (voir III.A.) fut effectuée à propos de l'usambaridine.

Si nous avons pu isoler et identifier 14 alcaloïdes des feuilles du *S. usambarensis*, à partir d'une quantité moins importante de feuilles que celles dont disposaient KOCH et al. qui ne parvinrent à isoler que 2 alcaloïdes en quantité minimale, c'est sans doute dû au choix des solvants.

En effet, l'éther choisi par ces chercheurs est un très mauvais solvant des alcaloïdes phénoliques particulièrement nombreux dans les feuilles de ce *Strychnos*.

Parmi la série d'alcaloïdes isolés à Liège, deux présentent la même formule brute que l'usambaridine, il s'agit vraisemblablement d'isomères, pour lesquels nous avons éprouvé beaucoup de difficultés lors des séparations chromatographiques, tant leurs R_f restaient proches. Ils donnent cependant des colorations différentes avec le réactif de pulvérisation au sel de Bleu solide B (solution aqueuse à 0,5%).

L'alcaloïde le plus abondant possède un R_f de 0,58 dans le système I et est coloré en violet stable par le réactif précité. Nous l'avons expérimentalement baptisé « usambaridine *Vi* ». L'autre possède un R_f de 0,52 dans le même système; par contre, il ne donne qu'une coloration violette fugace sous l'effet du sel de Bleu solide B et cette coloration vire très rapidement au brun orange stable. Pour cette raison, nous l'avons appelé « usambaridine *Br* ».

III.B.1.a. *Usambaridine Br* (PM.466 – C₃₀H₃₄N₄O) (voir fig. 3)

Le chromophore indolique est déduit de l'analyse des spectres U.V. et de masse.

La fonction phénolique est repérée par le déplacement bathochrome en milieu alcalin et la révélation en CCM par les réactifs des phénols (sel de Bleu solide B). Elle influence le spectre de masse où l'on observe un fragment important à m/e 266, ce qui indique la substitution de la partie corynane par cette fonction. L'analyse du spectre de RM¹H permet de préciser la position du phénol sur le C₁₁.

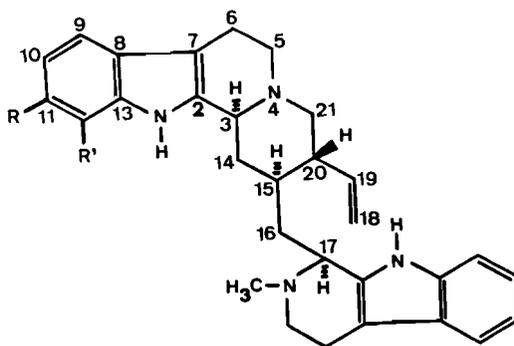


Fig. 3

R=OH	R'=H	<i>usambaridine Br</i>
R=H	R'=OH	<i>usambaridine Vi</i>

La chaîne vinylo est déduite du spectre IR et du spectre RM¹H. La stéréochimie est proposée sur base d'arguments déjà évoqués pour la dihydro-usambarine (Infrarouge, Dichroïsme circulaire, Hypothèse biogénétique).

III.B.1.b. *Usambaridine Vi* (PM.466 – C₃₀H₃₄N₄O)

Les seules différences notables entre les 2 isomères se situent au niveau de la position de la fonction phénolique et de sa répercussion sur les spectres RM¹H et U.V.

Les différences spectrales RM¹H avec les spectres des alcaloïdes porteurs de fonctions oxygénées sur les carbones 10 et 11 nous suggèrent la présence du groupe phénolique sur le carbone 12 (voir fig. 3). Cette supposition est corroborée par la coloration stable que l'on observe avec le sel de Bleu solide B. Cette stabilité suggère l'existence d'un pont d'hydrogène entre la fonction phénolique et l'NH indolique. Nous espérons que dans des recherches prochaines de RM¹H à champs élevés (300 MHz) nous pourrions confirmer notre hypothèse.

III.B.1.c. *18,19 dihydro-usambaridines* (PM.468 – C₃₀H₃₆N₄O)

Les spectres de ces 2 alcaloïdes isolés en très faible quantité sont tout-à-fait superposables à ceux des usambaridines (Vi et Br), à l'exception de la disparition des signaux caractéristiques d'une chaîne vinylo et de leur remplacement par une chaîne éthyle. Ils correspondent donc aux formules de la figure 3, avec la restriction suivante : (—CH₂—CH₃ au lieu de —CH=CH₂).

III.B.1.d. *Strychnobaridine* (PM. 482 – C₃₀H₃₄N₄O₂)

Cet alcaloïde possède des spectres UV et RM¹H très proches de ceux de l'usambaridine Vi. Le spectre de masse montre également une fragmentation similaire, exception faite de l'ion moléculaire (M 482) et de signaux importants à m/e 201 et 187, correspondant à une N_b-méthyl-tétrahydro-β-carboline phénolique (12). Les positions des groupements phénoliques n'ont pu jusqu'à présent être précisées. (Fig. 4.)

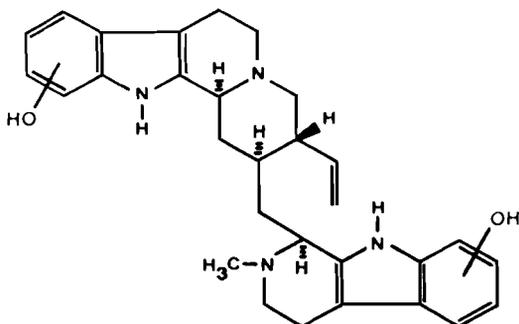


Fig. 4
Structure de la Strychnobaridine.

III.B.2. *Strychnopentamine* et isomères (PM. 549 – C₃₅H₄₃N₅O)

Pour trois autres alcaloïdes, les formules brutes, déterminées par spectrométrie de masse à haute résolution indiquaient la présence de 17 insaturations, ainsi que celle plus surprenante de 5 atomes d'azote. Cette dernière caractéristique (à la base de leur nom : strychnopentamine) n'avait jamais été signalée dans le grand groupe des alcaloïdes indoliques, hormis ceux de nature peptidique présents dans l'Ergot de seigle.

Un de ces trois composés a cristallisé dans le système tétragonal et dans les dimensions requises, au cours de l'évaporation lente d'une solution éthanolique placée au réfrigérateur. Dès lors, l'étude de diffraction aux rayons X put être réalisée par le Service de Cristallographie de l'Université de Liège (Prof. J. TOUSSAINT).

Les résultats de cette étude cristallographique ont mis en évidence la présence inédite d'une méthylpyrrolidine greffée sur le cycle benzénique de la partie corynane de la molécule qui est de plus phénolique (13).

La configuration relative de la molécule a également été établie au cours de cette étude. D'après l'hypothèse biogénétique (15αH), elle doit de plus correspondre à la configuration absolue représentée sur la figure 5.

Les deux autres alcaloïdes de PM 549 doivent posséder la même structure plane, d'après leurs différents spectres. Leur configuration spatiale n'a pu être précisée jusqu'à présent.

III.B.3. *Alcaloïdes oxindoliques*

Ces alcaloïdes, au nombre de quatre, donnent une coloration rouge pourpre avec le sel de Bleu solide B. Leur analyse a révélé qu'il s'agissait d'alcaloïdes oxindoliques

au niveau de la partie corynane, correspondant tantôt à l'usambaridine Br, tantôt à la strychnopentamine. Leur détermination de structure sera exposée prochainement. Ces nouvelles molécules ont été nommées strychnofoline, isostrychnofoline, strychnophylline et isostrychnophylline.

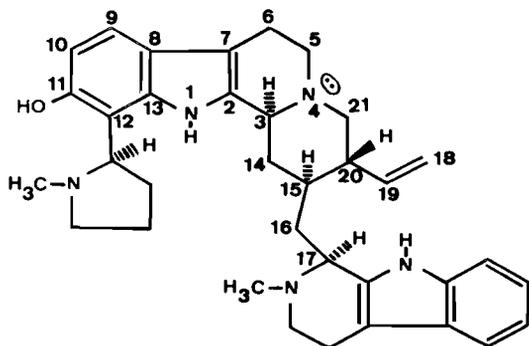


Fig. 5
Structure de la Strychnopentamine.

IV. PARTIE EXPÉRIMENTALE

IV.1. Généralités

— Les chromatographies analytiques en couche mince (CCM) ont été effectuées sur plaques de Silicagel GF 254 Merck.

— Les chromatographies préparatives ont été réalisées sur des plaques 20 × 40 cm préparées au laboratoire (75 g de Silicagel PF 254 Merck pour 2 plaques d'1 mm d'épaisseur; 50 à 60 mg de fraction alcaloïdique à purifier sont déposés sur une plaque).

— Les colonnes chromatographiques d'alumine standardisée selon Brockmann, conditionnées suivant les techniques classiques, sont reliées au collecteur de fractions RADIRAC LKB, type 3402 B. Chaque fraction de 15 ml est ensuite testée en CCM.

— Les solvants utilisés sont des produits pour analyse Merck, afin de préserver au maximum les alcaloïdes.

— Les points de fusion sont observés au microscope à plaque chauffante Arthur Thomas.

— Les spectres dans l'ultraviolet (U.V.) ont été réalisés sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer 124, en solution méthanolique, sous un cm d'épaisseur.

— Les spectres dans l'infrarouge (IR) ont été tracés à l'aide d'un Perkin-Elmer 297, après pastillage dans KBr.

— Les spectres de masse ont été déterminés sur un AEI MS 902 à haute résolution muni du système d'introduction directe, sous un potentiel d'ionisation de 70 eV à des températures de 200 à 240°C (Mass Spectrometry Intercollegiate Research Service, School of Pharmacy, University of London).

— Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) ont été pris par M^r J. DENOËL au Centre de R.M.N., sur Bruker HFX90 (¹H et ¹³C), après dissolution de l'alcaloïde dans le deutérochloroforme (CDCl₃) additionné éventuellement de quelques gouttes de CD₃OD pour solubiliser certains échantillons trop polaires. Les déplacements chimiques sont exprimés en δ (ppm) par rapport au tétraméthylsilane (TMS) utilisé comme étalon interne de référence.

— Les courbes de dichroïsme circulaire (CD) ont été réalisées en solution méthanolique à l'aide d'un appareil Jasco Ord/UV5 (Service du Prof. V. DESREUX).

— Les études cristallographiques ont été effectuées au moyen d'un diffractomètre à quatre cercles Hilger-Watts (Service du Prof. J. TOUSSAINT).

— La numérotation des formules des alcaloïdes indoliques est conforme à la tradition phytochimique (14).

IV.2. Extraction des alcaloïdes

Les feuilles (1 kg) sont percolées *secundum artem* par du méthanol contenant 1 % d'acide acétique. Le percolat est concentré sous vide, filtré et additionné d'un volume égal d'eau. Le méthanol restant est distillé et la solution aqueuse est alors soumise à diverses extractions (voir tableau I).

a) Par le chloroforme en milieu acide

La solution chloroformique, concentrée au rotavapor, est réagitée avec une solution acétique. Le chloroforme est évaporé complètement, ce qui provoque la migration des alcaloïdes dans la phase aqueuse acide. Beaucoup d'impuretés précipitent et sont de la sorte éliminées par filtration. La phase acétique est alors extraite par l'éther, qui enlève d'autres impuretés non alcaloïdiques. La phase aqueuse est ensuite alcalinisée par du carbonate sodique et à nouveau extraite par l'éther, qui extrait cette fois des alcaloïdes, principalement l'usambarine et la 18,19 dihydro-usambarine, qui sont séparés par chromatographie préparative sur couche de Silicagel dans le système : acétate d'éthyle = 96; isopropanol 4; ammoniacque conc. 2.

b) Par le chloroforme en milieu alcalin

L'alcalinisation de la phase aqueuse provoque un précipité abondant, qui forme une émulsion spectaculaire quand on agite cette solution en présence de chloroforme. Après séparation, la phase chloroformique est lavée à l'eau distillée, déshydratée sur du sulfate sodique anhydre et concentrée sous vide. L'extrait obtenu (3 100 mg) est soumis à une séparation qui est effectuée sur une colonne chromatographique d'alumine, reliée à un collecteur de fractions; ces fractions sont testées par CCM analytique et groupées suivant les constituants décelés (tableau II). L'élution a été réalisée par du chloroforme auquel on ajoute progressivement de 0,5 à 5 % de méthanol.

Les alcaloïdes ainsi séparés ne sont pas formés lors des procédés de purification car on les retrouve dans une teinture de feuilles. Les fractions obtenues dans le tableau II

TABLEAU I
Schéma d'extraction des feuilles

S. usambarensis (1 000 g feuilles)

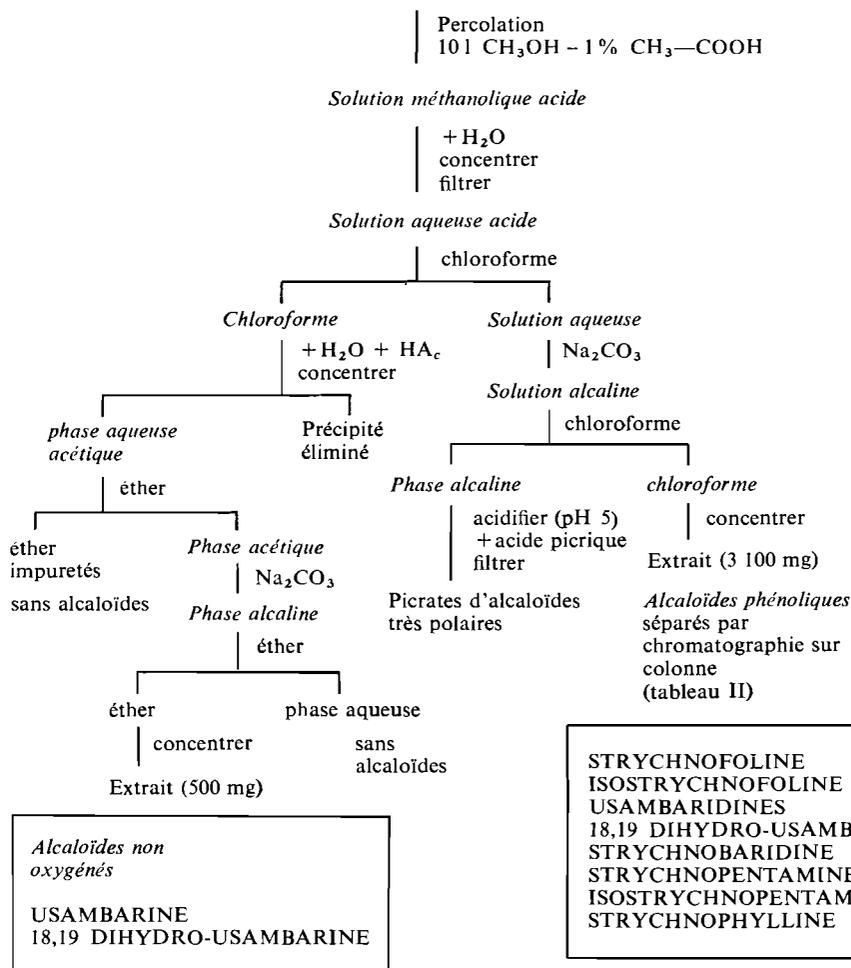


TABLEAU II

f	1-5	traces	
	6-17	217 mg	STRYCHNOPENTAMINE et isomères
	18-57	246 mg	STRYCHNOPENTAMINE, STRYCHNOPHYLLINE et isomères
	58-89	49 mg	STRYCHNOPENTAMINE et isomère
	90-147	102 mg	STRYCHNOPENTAMINE + USAMBARIDINE « Vi »
	148-355	488 mg	USAMBARIDINE « Vi »
	356-466	260 mg	USAMBARIDINES « Vi et Br »
	467-586	255 mg	USAMBARIDINES et dérivés 18,19 dihydro; STRYCHNOBARIDINE et ISOSTRYCHNOFOLINE
	587-664	212 mg	STRYCHNOFOLINE et isomère
	665-840	595 mg	STRYCHNOFOLINE
	841-900	725 mg	Alcaloïdes et impuretés polaires non encore étudiés

ont été séparées par chromatographie à l'échelle préparative sur silicagel en utilisant l'un des systèmes suivants :

système I : acétate d'éthyle : 90-isopropanol : 8-ammoniaque conc. : 2

système II : acétate d'éthyle : 96-isopropanol : 4-ammoniaque conc. : 1

système III : acétate d'éthyle : 100-isopropanol : 2-ammoniaque conc. : 1

système IV : acétate d'éthyle saturé d'ammoniaque concentrée + vapeurs d' NH_3 .

Les bandes alcaloïdiques repérées aux U.V. courts sont éluées par du méthanol et purifiées par passage dans une solution bouillante d'hexane. Les produits sont enfin cristallisés dans l'éthanol absolu placé ou non au réfrigérateur.

IV.3. Identification – Étude structurale

18,19 dihydro-usambarine $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{N}_4$ PM. 452 mes. 452, 2944; calc. 452, 2940 Poudre blanche F 204–206°C. CCM–Rf = 0,80 (système I) SM (abondance en % du pic de base) = 452 (33), 453 (12), 437 (3), 408 (3), $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{N}_3$ mes. 408, 2446; calc. 408, 2440, 267 (8), 265 (3), 264 (3), 254 (8), 253 (12), 252 (5), 251 (17), 225 (8), 223 (5), 199 (23), 186 (17), 185 (100) $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_2$ —mes. : 185, 1076; calc. : 185, 1079, 171 (10), 170 (7), 169 (8), 156 (7), 154 (4), 144 (13), 143 (5), 130 (3). UV. λ nm (log ϵ) = 226 (4, 80), 275 (4, 16), 282 (4, 18) et 290 (4, 10). IR; $\tilde{\nu}$ cm^{-1} = 3400, 3055, 2930, 2840, 2790 (bandes de Bohlmann), 1595 (c=c), 1440, 1360, 1322, 1268, 1238, 1214, 1190, 1160, 1120, 1105, 1010, et 742 (benzène orthodisubstitué). RM^1H δ = 7,90 et 6,52 (OH/NH), 7,53 à 6,84 (protons aromatiques), 3,48 (1H), 2,39 (s. 3H, NMe), 3,09 à 1,18 (protons aliphatiques), 0,82 (t. 3H— CH_2 — CH_3). CD $[\theta]_{276} = +14\ 520$. $[\theta]_{245} = 0$.

usambaridine Br $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}$ – PM 466 mes. : 466, 2735; calc. : 466, 2733 Poudre blanc-crème F 186°C. CCM (système I). Rf : 0,52. Col. violette fugace avec le sel de Bleu solide B, virant au brun. SM (abondance en % du pic de base) : 466 (12), 467 (4), 451 (1), 422 (3), 281 (4), 267 (5), 266 (4), 265 (8), 199 (11), 198 (3), 186 (19), 185 (100), 172 (7), 170 (3), 169 (3), 160 (4), 156 (3), 154 (3), 144 (8), 143 (3), 130 (3), UV. λ nm (log ϵ) MeOH – 224 (4, 84), 274 (4, 17), 283 (4, 14), 291 (4, 11) épaulement à 305 (3, 50). MeOH + NaOH 217 (4, 94), 273 (4, 38), 290 (4,26) épaulement à 320 (3, 90). IR $\tilde{\nu}$ cm^{-1} : 3360, 2870–2780 (bandes de Bohlmann), 1630, 1565, 1450, 1315, 1295, 1210, 1150, 1045, 920, (vinyl), 795, 745. RM^1H δ = 8,96(OH)–7,5 à 6,90 (protons aromatiques sauf C_{10}H et C_{12}H) 6,45 (dd C_{10}H — $\text{J}_1 = 8$ Hz, $\text{J}_2 = 2$ Hz) 6,22 (d— C_{12}H — $\text{J} = 2$ Hz)–5,46 à 4,96 (3H – chaîne vinylole)–2,37 (s—3H, N—Me)–3,49 à 0,80 (protons aliphatiques). CD $[\theta]_{274} = +14\ 600$.

usambaridine Vi $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}$ (M^+ 466) (mes. 466, 2749; calc. 466, 2743) Poudre blanche F : 180°C. CCM (système I) Rf = 0,58. Col. violette stable avec le sel de Bleu solide B. SM (abondance relative) : 466 (25), 467 (9), 451 (5), 422 (8), 281 (7), 266 (15), 265 (25) $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}$ – mes. : 265, 1338; calc. : 265, 1341, 200 (19), 199 (20), 186 (30), 185 (100), $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_2$ – mes. : 185, 1072; calc. : 185, 1078, 172 (13), 170 (7), 169 (3), 168 (9), 160 (10), 157 (19), 156 (12), 154 (11), 144 (30), 143 (45), 130 (30). UV. λ nm (og ϵ) MeOH : 225 (4,83), 280 (4, 30), 289 (4, 21) épaulement à 312 (3, 60) MeOH + NaOH : 226 (4, 83), 280 (4, 25), 289 (4, 21) et 328 (3, 38). IR $\tilde{\nu}$ cm^{-1} : 3350, 2850, 2820, 2780, 1630, 1589, 1450, 1360, 1315, 1210, 1150, 1045, 920, 795, 745.

RM¹H : 9,63 (OH) – 7,78 (NH) – 7,44–7 (environ 5 protons aromatiques) 6,87 (d—C₉H? J=9 Hz) 6,58 (d—C₁₁H? J=9 Hz) – 5,46 à 4,98 (chaîne vinyle) – 3,72 (m—1H) – 2,8 à 1,26 (protons aliphatiques) – 2,33 (s. 3H; N—Me). CD [θ]₂₇₆ : + 14 600.

18,19 dihydro-usambaridine Br C₃₀H₃₆N₄O (M⁺ 468). Poudre blanche. CCM (système I) Rf : 0,37. (système IV) Rf = 0,30. Col. violette fugace avec le sel de Bleu solide B virant au brun-orangé stable. UV. identique à l'usambaridine Br.

18,19 dihydro-usambaridine Vi C₃₀H₃₆N₄O (M⁺ 468). Poudre blanche F 178–180°C. CCM (système I) Rf : 0,37 (système IV) Rf = 0,35. Col. violette stable avec le sel de Bleu solide B. SM (abondance relative) : 468 (10), 469 (3), 424 (1), 283 (3), 269 (6), 268 (3), 267 (9) C₁₇H₁₉N₂O; mes. : 267, 1488; calc. : 267, 1497, 200 (3), 199 (6), 186 (16), 185 (100), 172 (3), 170 (3), 169 (2), 168 (2), 160 (4), 156 (3), 154 (3), 144(8), 143 (2), 130 (2). UV. : cf. usambaridine Vi. IR et RM¹H : cf. usambaridine Vi; excepté absence des signaux vinyliques. CD : cf. usambaridine Vi.

Strychnobaridine C₃₀H₃₄N₄O₂ (M⁺ 482) mes. 482, 2707; calc. : 482, 2680. Poudre blanche. F : 170°C. CCM (système I) Rf = 0,37 – (système IV) Rf = 0,18. Col. violette stable avec le sel de Bleu solide B. SM m/e (abondance relative) : 482 (17), 438 (3), 336 (2), 296 (11), 282 (8), 266 (11), 265 (14), 238 (11), 215 (8), 201 (60), 200 (8), 199 (17), 186 (22), 185 (100), 160 (13), 144 (14), 143 (11). UV. λ nm MeOH. 223 (4, 77), 278 (4, 27) épaulement à 312 (3, 83) MeOH + NaOH = 227 (4, 80), 278 (4, 31), 328 (3, 83). IR., RM¹H et CD = cf. usambaridine Vi.

Strychnopentamine. C₃₅H₄₃N₅O (M⁺ 549) mes. 549, 3485; calc. 549, 3467. Cristaux incolores : groupe spatial P 4₁2₁2 avec a = b = 13 895 Å et c = 36 105 Å. F 246–248°C. CCM (système I) Rf. 0,72 (système II) Rf = 0,66; (système III) Rf = 0,22. Col. violette fugace avec le sel de Bleu solide B. SM m/e (abondance relative) 549 (24), 550 (10), 534 (1), 505 (3), 466 (6), 350 (8), 349 (5), 348 (8), C₂₂H₂₆N₃O; mes. : 348, 2087; calc. : 348, 2076, 270 (5), 269 (3), 268 (4), 267 (3), 266 (2), 265 (4), 244 (4), 243 (4), 200 (5), 199 (13), 185 (100), 183 (12), 170 (5), 156 (5), 154 (5), 144 (7), 143 (5), 130 (2), 83 (30), 82 (51) C₅H₈N. UV. λ nm (log ε) = 204 (4, 28), 226 (4, 38), 275 (3, 82), 291 (3, 74) chute lente jusque 330 nm. Pas de modification sensible en milieu alcalin. IR $\tilde{\nu}$ cm⁻¹. 3350, 2930, 2840, 2795, 2750, 1630, 1500, 1450, 1370, 1320, 1268, 1214, 1158, 1050, 1032, 1010, 990, 925, 895, 806, 762, 745. RM¹H δ = 8,09 (OH/NH) 7,45 – 6,98 (protons aromatiques) 6,49 (d C₁₀H) 5,47 à 4,94 (chaîne vinyle) 3,46 à 1,15 (protons aliphatiques) 2,31 (s. 3H; N—Me), 2,21 (s. 3H; N—Me). CD [θ]₂₇₆ = + 8 190.

Isostrychnopentamine A C₃₅H₄₃N₅O (M⁺ 549) mes. : 549, 3480; calc. 549, 3467. Poudre blanche. F 246–248°C. CCM (système I) Rf = 0,66 (système II) Rf = 0,60 (système III) Rf = 0,16. Col. violette fugace avec le sel de Bleu solide B. SM identique à celui de la strychnopentamine m/e 350 correspond à C₂₂H₂₈N₃O (mes. : 350, 2218; calc. 350, 2232) et m/e 82 à C₅H₈N (mes. 82,0656; calc. 82,0657). UV, IR et RM¹H : très proches de la strychnopentamine. CD [θ]₂₇₆ = + 11 715.

Isostrychnopentamine B C₃₅H₄₃N₅O (M⁺ 549). Poudre blanche. F 205°C CCM (système I) Rf = 0,78 (système II) Rf = 0,77 (système III) Rf = 0,28. Col. violette stable avec le sel de Bleu solide B. SM et RM¹H : cf. strychnopentamine. UV. λ nm (log ε) : 205 (4, 55), 225 (4, 61), 280 (4, 10), 291 (4, 04) épaulement à 315 (3, 69). IR $\tilde{\nu}$ cm⁻¹ : 3430, 2930, 2840, 2790, 1580, 1440, 1380, 1320, 1275, 1220, 1155, 1040, 1010, 920, 795 et 745. CD [θ]₂₇₆ = + 6 600.

V. CONCLUSIONS

Le *Strychnos usambarensis* est une plante étonnante dont nous avons déjà extrait une vingtaine de nouveaux alcaloïdes bâtis sur des squelettes originaux. Les premiers essais pharmacologiques effectués sur les alcaloïdes des racines ont mis en évidence de nombreux effets : atropiniques (usambarensine), convulsivants (akagérine), curarisants (dihydrotoxiférine, afrocurarine), I.M.A.O. (dihydro-usambarensine) (1). Les alcaloïdes des feuilles, quant à eux, sont nettement différents de ceux des racines où nous n'avons pu déceler aucun alcaloïde phénolique ni oxindolique.

Si nous avons pu arriver à ces résultats, malgré les moyens limités dont disposent les laboratoires universitaires non subsidiés par les industries, c'est grâce aux méthodes modernes de séparation et d'identification des molécules.

Notre effort vise aussi à rappeler que la pharmacognosie reste un secteur essentiel de la recherche pharmaceutique (15). Rappelons notamment que les organiciens, en quête de molécules synthétiques intéressantes, puisent très souvent dans les produits naturels une inspiration bien justifiée par la valeur des principes pharmacologiques (morphine, pilocarpine, atropine, cocaïne, éphédrine, quinine, quinidine, émétine, vincamine, strychnine, tubocurarine, ergotamine, vincristine, caféine, digitoxine, antibiotiques, anthraquinoniques...) que la nature continue de fournir au monde médico-pharmaceutique.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements à M^r le Prof. C.L. LAPIÈRE (U. Liège) et à M^r le D^r N.G. BISSET (U. Londres) pour l'intérêt qu'ils n'ont jamais cessé de manifester à nos travaux, à l'équipe de recherches du Service de Cristallographie (Prof. J. TOUSSAINT, U. Liège) pour la détermination de la structure cristalline de la strychnopentamine, à M^r José DENOËL, Directeur du Centre de RMN de l'U. Liège, pour l'obtention des spectres, ainsi qu'à tous ceux qui nous ont aidés dans la réalisation de ce manuscrit.

Reçu en février 1978

Laboratoire de Pharmacognosie,
Institut de Pharmacie
Université de Liège,
Rue Fusch, 5, B-4000 Liège (Belgique)

Travail dédié à la mémoire de M. le Professeur Albert DENOËL, qui nous a initiés à la Recherche Scientifique.

Résumé

Quatorze alcaloïdes bis-indoliques ont été isolés des feuilles de *Strychnos usambarensis*. Neuf d'entre eux sont décrits ici pour la première fois: la 18,19 dihydro-usambarine, les usambaridines et leurs dérivés, la strychnobaridine, la strychnopentamine et ses isomères. La détermination de structure et la stéréochimie de ces nouveaux produits sont également présentées. Ils possèdent le squelette « usambarensine »; de plus, la plupart sont phénoliques. Enfin, la strychnopentamine et ses isomères sont de curieux alcaloïdes indoliques possédant 5 atomes d'azote : un groupe méthylpyrrolidinique est en effet couplé au cycle benzénique de la partie corynane de ces molécules.

Samenvatting

Nieuwe alkaloiden in bladeren van *Strychnos usambarensis*

Er werden veertien bis-indol alkaloiden geïsoleerd uit de bladeren van *Strychnos usambarensis*. Negen daarvan worden hier voor de eerste maal beschreven: 18,19-dihydro-usambarine; usambaridinen en de derivaten ervan; strychnobaridine; strychnopentamine en isomeren. De structuurbevestiging en de stereochemie van deze nieuwontdekte producten worden eveneens besproken. Zij vertonen allemaal het „usambarensine”-skelet; bovendien bezitten verschillende daarvan een fenolgroep. Tenslotte zijn strychnopentamine en de isomeren ervan eigenaardige indolalkaloïden die 5 stikstofatomen bezitten: een methylpyrrolidinegroep is immers gekoppeld aan de benzeenring van het corynaangedeelte van de molecule.

Bibliographie

- (1) L. ANGENOT, *Nouvelles recherches sur les alcaloïdes des Strychnos africains*. Mémoire couronné en 1978 par l'Académie Royale de Médecine. V^e Section, Concours ordinaire 1974-1976.
- (2) A. DENOËL, F. JAMINET, G. DETILLEUX, M. VAN SUMSEN et L. MERVEILLE, *Contribution à l'étude chimique des Strychnos du Congo Belge*, Ministère des Colonies, Bruxelles – 208 p. (1953).
- (3) A.J.M. LEEUWENBERG, *The Loganiaceae of Africa VIII, Strychnos III.*, Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen, Nederland 69 : 316 p. (1969).
- (4) L. ANGENOT et N.G. BISSET, *Isolement et structure de nouveaux alcaloïdes du Strychnos usambarensis*, *J. Pharm. Belg.*, 585-588 (1971).
- (5) L. ANGENOT et A. DENOËL, *Contribution à l'étude des alcaloïdes du S. usambarensis*, *Planta Medica*, **21**, 96-110 (1971).
- (6) O. DIDEBERG, L. DUPONT et L. ANGENOT, *Détermination de la structure cristalline et de la configuration absolue d'un dérivé de l'usambarensine*, *Acta Crystallographica*, **B31**, 1571-5 (1975).
- (7) M. KOCH et M. PLAT, *Structure de l'usambarine, nouvel alcaloïde isolé du S. usambarensis GILG*, *C.R. Acad. Sci. Paris*, **273C**, 753-4 (1971).
- (8) L. ANGENOT, C. COUNE, M. TITS et K. YAMADA, *Alkaloids of S. usambarensis – Revised structure for usambarine*, *Phytochemistry* (sous presse) (1978).
- (9) W.F. TRAGER, C.M. LEE et A.H. BECKETT, *Corynantheidine Type Alkaloids I*, *Tetrahedron*, **23**, 365-374 (1967).
- (10) C.M. LEE, W.F. TRAGER et A.H. BECKETT, *Corynantheidine Type Alkaloids II*, *Tetrahedron*, **23**, 375-385 (1967).
- (11) M. KOCH, E. FELLION et M. PLAT, *Loganiacées de la Côte d'Ivoire, Alcaloïdes du S. usambarensis GILG*, *Ann. Pharm. Franç.*, **31**, 45-48 (1973).
- (12) M. HESSE, *Progress in Mass Spectrometry – Indolalkaloïde – Teil 1: Text. 271 p. Teil 2: Spektren*, 98 p. (1974), *Progress in Mass Spectrometry*, Ed. H. BUDZIKIEWICZ, Verlag Chemie, Weinheim.
- (13) L. DUPONT, J. LAMOTTE-BRASSEUR, O. DIDEBERG, H. CAMPSTEYN, M. VERMEIRE et L. ANGENOT, *La structure cristalline et moléculaire d'un nouvel alcaloïde bis-indolique: la strychnopentamine C₃₅H₄₃N₅O*, *Acta Crist.*, **B33**, 1801-1807 (1977).
- (14) J. LE MEN et W.I. TAYLOR, *A uniform numbering System for Indole Alkaloids*, *Experientia*, **21**, 508-510 (1965).
- (15) *New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity*. Ed. by H. WAGNER and P. WOLFF, 286 p. (1977) Springer Verlag, Heidelberg.