

STRUCTURE DES CABOXINES: ALCALOÏDES OXINDOLIQUES DU *CABUCALA FASCICULATA*

F. TITEUX, L. LE MEN-OLIVIER et J. LE MEN

Faculté de Pharmacie, E.R.A. au C.N.R.S. n° 319, 51 rue Cognacq-Jay-51096 REIMS Cedex, France

(Reçu le 23 Mai 1974)

Key Word Index—*Cabucala fasciculata*; Apocynaceae; pentacyclic oxindole alkaloids; reserpine congeners; chemical correlation, partial synthesis.

Abstract—The structures of three new 11-methoxy pentacyclic oxindole alkaloids have been elucidated by chemical correlations with reserpine: caboxine-A was assigned to the *allo* C₁₉-méthyl α series: 3S, 4R, 7S, 19S; isocaboxine-A and B to the *epi-allo* C₁₉-méthyl α series and have, respectively, the following configurations 3R, 4S, 7S, 19S and 3R, 4S, 7R, 19S.

Résumé—Les structures de trois nouveaux alcaloïdes monométhoxy-11 oxindoliques pentacycliques sont établies par une double corrélation chimique avec la réserpine: la caboxine-A appartient à la série *allo*: 3S, 4R, 7S, 19S; les isocaboxines-A et B appartiennent à la série *epi-allo* et présentent respectivement les configurations 3R, 4S, 7S, 19S et 3R, 4S, 7R, 19S.

INTRODUCTION

Parmi les alcaloïdes antérieurement isolés [1] du *Cabucala fasciculata*, l'un, appelé cabulatine, a depuis été identifié à la réserpine 4. La détermination des structures de trois autres: appelés caboxine-A, isocaboxine-A et isocaboxine-B est ici rapportée. Il s'agit de trois isomères répondant à la formule C₂₂H₂₆O₅N₂. Leurs caractères spectraux, UV, IR, SM, figurant dans le tableau 1, indiquent clairement qu'il s'agit d'alcaloïdes pentacycliques à chromophore méthoxy-11 oxindolique, de type hétéroyohimbique. Ils ne s'identifient ni à la vinéridine [2-4], ni aux oxindoles dérivés de la tétraphylline [5].

Etablissement d'hypothèses structurales

Par chauffage au reflux dans l'acide acétique, la caboxine-A fournit un mélange constitué de caboxine-A (45%), d'isocaboxine-B (15%) et d'isocaboxine-A (35%); alors que, par chauffage au reflux dans la pyridine, l'isocaboxine-A fournit un mélange d'isocaboxine-A (20%), d'isocaboxine-B (45%) et de caboxine-A (30%). Cette double équilibre précise que ces trois alcaloïdes oxindoli-

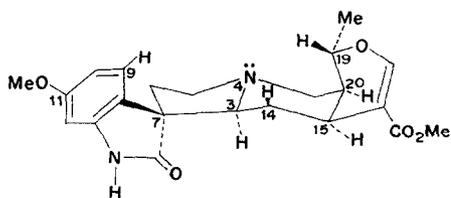
ques dérivent d'une même méthoxy-11 hétéroyohimbine, ou plus précisément qu'ils présentent les mêmes configurations relatives des trois centres d'asymétrie C₁₅, C₂₀, et C₁₉, inchangées au cours des réactions d'équilibration précitées.

La configuration relative* de ces trois centres va d'abord être précisée par examen comparé des caractéristiques du spectre de RMN de la caboxine-A avec celles antérieurement discutées dans la mise au point publiée par Pousset *et coll* [6, 7]. Sur le spectre de RMN de la caboxine-A, la position déplacée à 1,39 p.p.m. du méthyle-18 et la grande constante de couplage entre les protons H₁₉ et H₂₀ (*J* 10 Hz, correspondant à un angle voisin de 180°) ne sont compatibles qu'avec une structure de type *allo* (3 α , 15 α , 20 α) et une orientation α du méthyle 18, soit C₁₉ S. De telles caractéristiques apparaissent, en particulier, sur le spectre de RMN de la réserpine. Dans le cas des isocaboxines-A et B, les positions moins déplacées du méthyle-18 (respectivement à 1,25 et 1,21 p.p.m.) et la faible constante de couplage entre les protons H₁₉ et H₂₀ (*J* 3 Hz, correspondant à un angle voisin de 60°) indiquent que ces deux alcaloïdes appartiennent à la série *epi-allo* (3 β , 15 α , 20 α) avec l'orientation α du méthyle-18, soit C₁₉ S. Ces caractéristiques apparaissent en particulier sur le spectre de RMN de l'isorésérpine (=épi-3- réserpine).

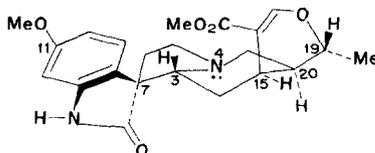
* Dans le raisonnement qui suit, il est posé a priori que la caboxine-A présente, comme toutes les hétéroyohimbines et alcaloïdes oxindoliques dérivés décrits jusqu'à ce jour, une configuration absolue 15S C₋₁₅ α H).

Tableau I. Caractères spectraux des alcaloïdes

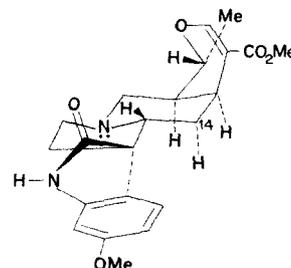
Configuration	Caboxine-A	Isocaboxine-A	Isocaboxine-B
	<i>allo</i> 3 α , 15 α , 20 α 3S, 4R, 7S, 19S	<i>épi-allo</i> 3 β , 15 α , 20 α 3R, 4S, 7S, 19S	<i>épi-allo</i> 3 β , 15 α , 20 α 3R, 4S, 7R, 19S
Formule brute	C ₂₂ H ₂₆ O ₅ N ₂	C ₂₂ H ₂₆ O ₅ N ₂	C ₂₂ H ₂₆ O ₅ N ₂
Point de fusion	195-210°	130-188°	amorphe
[α] _D	-68° (CHCl ₃)	+31,7° (CHCl ₃)	+53° (CHCl ₃)
U.V. λ max. nm	222 (4,45)	222 (4,45)	222 (4,45)
(log ϵ)	245 (4,13) 286 (3,43) 294 (3,26)	245 (4,13) 286 (3,43) 294 (3,26)	245 (4,13) 286 (3,43) 294 (3,26)
I.R. cm ⁻¹	COOCH ₃ 1700 -N-C=O 1640	1725 1640	1720 1620
Spectre de R.M.N. δ p.p.m.	H ₁₄ <i>m.</i> 0,98 (H-14 β)	—	<i>m.</i> 0,90 (H ₁₄ α)
	CH ₃ (18) <i>d.</i> 1,39 <i>J</i> 6 Hz	<i>d.</i> 1,25 <i>J</i> 6 Hz	<i>d.</i> 1,21 (<i>J</i> 6 Hz)
	COOCH ₃ <i>s.</i> 3,60	<i>s.</i> 3,43	<i>s.</i> 3,62
	ArOCH ₃ <i>s.</i> 3,78	<i>s.</i> 3,80	<i>s.</i> 3,80
	H ₁₉ <i>o.</i> 4,36 (<i>J.</i> H ₁₉ H ₂₀ : 10 Hz)	<i>o.</i> 4,21 (<i>J.</i> H ₁₉ H ₂₀ : 3 Hz)	<i>o.</i> 4,20 (<i>J.</i> H ₁₉ H ₂₀ : 3 Hz)
	H ₁₀ <i>q.</i> 6,60	<i>q.</i> 6,54	<i>q.</i> 6,54
	H ₁₂ <i>d.</i> 6,62	<i>d.</i> 6,52	<i>d.</i> 6,58
H ₉ <i>d.</i> 7,15	<i>d.</i> 7,00	<i>d.</i> 7,28	
Spectre de masse	M ⁺ 398 <i>m/e</i> 69 et 223	M ⁺ 398 <i>m/e</i> 69 et 223	M ⁺ 398 <i>m/e</i> 69 et 223



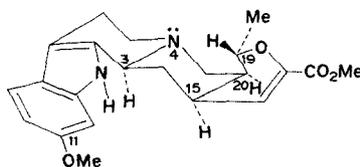
(1) Caboxine - A, série I A



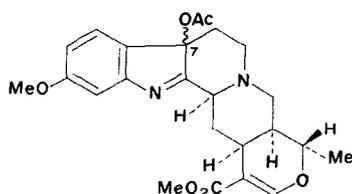
(2) iso-Caboxine - A, série II A



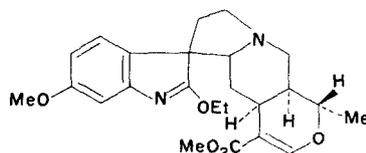
(3) iso-Caboxine - B, série II B



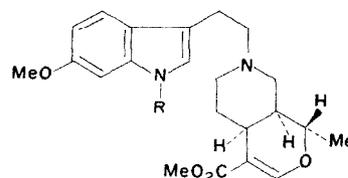
(4) Résérpinine



(5) Acétoxy - 7 indolépine



(6) Ethyl imido-éther



(7) N-H seco-indole R = H

(8) N-Ethyl seco-indole R = C₂H₅

D'autres caractéristiques des spectres de RMN vont, à présent, permettre de formuler une hypothèse sur la configuration du C₇. Dans le cas de la caboxine-A, le proton aromatique C₉ est fortement déplacé à 7,15 p.p.m. sous l'influence du doublet de l'azote N₄ et, par effet de blindage dû au noyau aromatique, le proton H₁₄ β apparaît à 0,98 p.p.m. Il en résulte que le centre C₇ présente la configuration *S* et que la caboxine-A appartient à la série "A" définie par Nozoye [8] et à la série "I_A" définie par Pousset [7] (3*S*, 4*R*, 7*S*). Dans le cas de l'isocaboxine-A, le méthyle du groupement carbométhoxyle est fortement déplacé vers les champs forts (3,43 p.p.m.) sous l'effet du cycle aromatique. Il en résulte que l'isocaboxine-A présente la configuration 7*S* et doit appartenir à la série "A" [8] et à la série "II_A" [7] (3*R*, 4*S*, 7*S*). Enfin, dans le cas de l'isocaboxine-B, on observe un fort déplacement des protons H₉ et H₁₄ α (respectivement à 7,28 et 0,90 p.p.m.) qui s'accorde avec la configuration 7*R* et l'appartenance de cet alcaloïde aux séries "B" et "II_B" précitées (3*R*, 4*S*, 7*R*).

Les hypothèses de structure 1, 2 et 3 respectivement attribuées à la caboxine-A et aux isocaboxines A et B se trouvent confirmées par les deux corrélations chimiques complémentaires suivantes:

Corrélation par voie oxydative et réductrice

L'oxydation au moyen du tétracétate de plomb de la réserpinine 4, fournit l'acétoxy-7 indolépine 5 (Rdt 44%) qui est ensuite transformée par chauffage au reflux dans le méthanol acétique à 5% selon la technique de Taylor [9], en un mélange de dérivés oxindoliques. De ce mélange, on sépare par CCM préparative un produit identique à la caboxine-A (Rdt 39%).

Caboxine-A → réserpinine

Selon la technique décrite par Aimi *et coll* [10, 11], l'action du réactif de Meerwein sur la caboxine-A conduit quantitativement à l'éthyl-imido éther 6. La réduction de 6 par le borohydrure de sodium dans l'acide acétique fournit le N-H seco-indole recherché 7, accompagné d'une notable proportion de son homologue N-éthylé 8. L'oxydation de 7 par l'acétate mercurique dans l'acide acétique à 5% fournit un mélange dont le constituant majoritaire, le moins polaire, séparé par CCM préparative, a été identifié à la réserpinine 4.

DISCUSSION

La présence, dans les feuilles, du *Cabucala fasciculata* de caboxine-A et isocaboxines A et B et dans les écorces de tige et racine, de réserpinine s'accorde avec les hypothèses biogénétiques formulées par Shellard et Houghton [12, 13] sur la filiation probable des alcaloïdes oxindoliques à partir des hétéroyohimbines correspondantes. Il faut toutefois noter, qu'en dépit d'essais répétés, la réserpine et la diméthoxy-10, 11 ajmalicine n'ont pas pu être mises en évidence dans les écorces de tige et racine, alors que les alcaloïdes diméthoxy-oxindoliques correspondants: la carapanaubine et la diméthoxy-10, 11 isomitraphylline, sont présents en abondance dans les feuilles.

EXPERIMENTALE

Equilibration en milieu acétique. La solution de 100 mg de caboxine-A dans 8 ml d'HOAc est chauffée 24 hr au reflux sous N₂. Après addition de 10 ml H₂O et alcalinisation (pH = 10) par NaOH, on extrait par 3 × 20 ml de CH₂Cl₂. Les solutions organiques réunies, lavées, séchées et distillées sous vide, laissent un résidu de 82 mg, qui est soumis à une chromatographie préparative sur CCM de kieselgel G neutre: après 4 migrations successives avec le mélange solvant: C₆H₆-Et₂O-MeOH (60:40:10) on sépare, après élution, et par ordre de polarité croissante, la caboxine-A (37 mg), l'isocaboxine-B (12 mg) et l'isocaboxine-A (28 mg).

Equilibration en milieu pyridine. La solution de 100 mg d'isocaboxine-A dans 20 ml de pyridine anhydre est chauffée 24 hr au reflux sous N₂. Après distillation de la pyridine sous vide et entraînement des dernières traces par 10 ml de MeOH-C₆H₆ (50:50), les 93 mg de résidu sont séparés comme précédemment. On sépare ainsi: caboxine-A (26 mg), isocaboxine-B (37 mg) et isocaboxine-A (18 mg).

Hémisynthèse de la caboxine-A à partir de la réserpinine. L'acétoxy-7 indolépine (5). La soln de 2,2 g de Pb (MeCOO)₄ dans 10 ml de CH₂Cl₂ est ajoutée progressivement sous agitation à la soln de 2 g de réserpinine dans 5 ml de CH₂Cl₂ à 0°. Après 30 min., la soln réactive est versée dans 15 ml de KHCO₃ (10%) froide. La soln organique, décantée, séchée, distillée, laisse un résidu de 2,2 g constitué de deux produits (CCM). De ce résidu, dissous dans le MeOH, il cristallise 942 mg de réserpinine (CCM, I.R.). Les eaux-mères sont soumises à une chromatographie préparative sur plaques; avec le mélange solvant C₆H₆-Et₂O-MeOH (60:40:10), on sépare ainsi, par ordre de polarité croissante: 127 mg identifiés (CCM, I.R.) à la réserpinine et 976 mg du dérivé 5: UV λ max. (MeOH), 235, 300 nm; I.R. ν 1780, 1750, 1620 cm⁻¹, M⁺ 440 (100%).

Transformation. Isolement de la caboxine-A; la solution de 976 mg d'acétoxy-7 indolépine 5 dans 10 ml de MeOH et 4 ml de HOAc (5%) est chauffé au reflux 1 hr puis versé dans 150 ml de solution de KHCO₃ (10%) froide. Le précipité formé est extrait par 3 × 50 ml de CH₂Cl₂. Les solutions organiques réunies, lavées, séchées et distillées sous vide, laissent un résidu de 923 mg constitué de deux produits (CCM) qui sont séparés par chromatographie préparative sur plaque avec mélange solvant C₆H₆-Et₂O-MeOH (60:40:10). Le produit le moins polaire (384 mg) est identique (F, (z)_D, UV, IR, R.M.N., SM) à la caboxine-A.

Hémisynthèse de la réserpine à partir de la caboxine-A. Préparation de l'éthyl-imido éther (6): A 2.2 g de caboxine-A dans 150 ml de CH_2Cl_2 , on ajoute 3.3 g de $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{O}^+\text{BF}_4^-$. Le mélange est abandonné 24 hr à 20°, puis lavé par 300 ml d'une solution saturée de KCl contenant 20 ml de NaOH. La solution organique, séchée et évaporée, laisse un résidu de 2.74 g constitué par un produit unique 6 (CCM) = UV: λ max. 227, 287, 324 nm; IR ν 1580, 1630, 1700 cm^{-1} ; M^+ 426.

Préparation des seco-indoles: (7 et 8). 2.74 g d'éthyl imido-éther 6 et 755 mg de NaBH_4 dans 250 ml de HOAc sont agités 10 min, puis dilués par 500 ml d'eau et extraits par trois fois 150 ml de CH_2Cl_2 . Les solutions organiques réunies, lavées, séchées et distillées laissent un résidu de 2.4 g constitué de trois produits (CCM), qui est mis en solution dans le benzène et fractionné par chromatographie sur 200 g d'alumine Merck d'activité III selon Brockmann. On isole ainsi successivement, par élution, avec le mélange C_6H_6 - Et_2O (50:50) le *N*-éthyl seco-indole 8 (320 mg) UV: λ max. 223, 244, 302 nm; IR ν 1620, 1700 cm^{-1} ; M^+ 412, *m/e* 224 (100%) et, par élution avec l'éther le *N*-H seco-indole 7 (638 mg) qui est cristallisé dans le MeOH (374 mg) F 211; $[\alpha]_D^{25} - 34$; UV: λ max. 223, 295 nm; IR ν 1620, 1680, 3300 cm^{-1} ; M^+ 384 (20%) *m/e* 224 (100%).

Cyclisation oxydative du N-H seco-indole (7). Réserpine (4), 47 mg de *N*-H seco-indole (7) dans 6 ml de HOAc à 5% et 460 mg de $\text{Hg}(\text{OAc})_2$ sont chauffés 3 hr au reflux, puis soumis pendant 1 hr à 80° à un courant d' H_2S gazeux. Le mélange est ensuite filtré sur terre d'infusoire. Le filtrat est concentré à 2 ml, amené à pH 6 par addition de NaHCO_3 et dilué par 10 ml d'EtOH. Cette solution, additionnée de 4.4 mg de NaBH_4 , est agitée 12 hr puis extraite par 3×20 ml de CHCl_3 . Les solutions organiques réunies, lavées, séchées et distillées laissent un résidu de 20 mg constitué de deux produits (CCM) qui sont séparés

par chromatographie préparative sur plaque avec le mélange C_6H_6 - Et_2O -MeOH (60:40:10). Le produit le moins polaire (6.6 mg) est identifié (F. $[\alpha]_D^{25}$, UV, IR, SM) à la réserpine.

BIBLIOGRAPHIE

1. Titeux, F., Mansour, M., Debray, M.-M., Le Men Olivier, L. et Le Men, J. (1974) *Phytochemistry* **13**, 1620.
2. Kazymov, S. Z., Yuldashev, P. K. et Yunusov, S. Y. (1965) *Dokl. Akad. Nauk. SSSR* **162**, 102.
3. Kazymov S. Z., Yuldashev P. K. et Yunusov S. Y. (1965) *Dokl. Akad. Nauk. SSSR* **163**, 1400.
4. Kazymov S. Z., Yuldashev P. K. et Yunusov S. Y. (1966) *Khim. Prirodn. Soedin. Akad. Nauk. Uz. SSSR* **2**, 260.
5. Travaux en cours sur l'hémisynthèse des oxindoles dérivés de la tétraphylline.
6. Pousset, J. L., Poisson, J., Shine, R. J. et Shamma M. (1967) *Bull. Soc. Chim. Fr.* 2766.
7. Pousset, J. L. (1967) Thèse Doctorat ès Sciences Paris.
8. Nozoye, T. (1958) *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo) **6**, 306.
9. Finch N., Gemengen, C. W., Hsiu-Chu-Hsu, J., Taylor, W. I. (1963) *J. Am. Chem. Soc.* **85**, 1520.
10. Aimi, N., Yamanaka, E., Endo, J., Sakai, S. I. et Haginiwa, J. (1972) *Tetrahedron Letters* 1081.
11. Aimi, N., Yamanaka, E., Endo, J., Sakai, S. I. et Haginiwa, J. (1973) *Tetrahedron* **29**, 2015.
12. Shellard, E. J. et Houghton, P. J. (1973) *Planta Medica* **24**, 341 et références citées.
13. Shellard, E. J. (1973) *Plantes Médicinales et Phytothérapie* **7**, 179 et références citées.