

[Chem. Pharm. Bull.]
34(3)1148—1152(1986)

Alcaloides de *Caryomene olivascens*. Nouvelles Structures Bisbenzylisoquinoléiques

MARIE LAVAUULT,^a ALAIN FOURNET,^b HÉLÈNE GUINAUDEAU^c
et JEAN BRUNETON^{*,a}

C.P.E.M., U.E.R. de Pharmacie,^a 16 bd Daviers, 49000 Angers, France, I.B.B.A.,
Ambassade de France,^b B.P. 824, La Paz, Bolivie Faculté de Médecine
et de Pharmacie,^c 87025 Limoges Cedex, France

(Reçu le 1 juillet 1985)

Nine isoquinoline alkaloids belonging to the protoberberine, proaporphine and bisbenzylisoquinoline series were isolated from *Caryomene olivascens* (Menispermaceae). Four compounds are new: (–)-2-norlimacine (**4**), (–)-caryolivine (**6**), (+)-1,2-dehydro-2-norlimacusine (**9**) and *N*-formylstepharine (**3**). The last one is the first *N*-formyl derivative to be reported in the proaporphine group. Its biogenetic origin is discussed. Structures were established on the basis of 360 MHz (FT) nuclear magnetic resonance measurements and also by chemical correlation in the case of **3**.

Keywords—*Caryomene olivascens*; Menispermaceae; proaporphine; bisbenzylisoquinoline; *N*-formylstepharine; 2-norlimacine; 1,2-dehydro-2-norlimacusine; caryolivine; pseudopalmatine; coclaurine

Caryomene olivascens BARNEBY et KRUKOFF (Ménispermacées) est l'une des quatre espèces d'un genre nouveau créé en 1971 et rangé dans la tribu des Anomospermées.¹⁾ Caractérisé par la structure de ses tiges, le genre *Caryomene* est étroitement apparenté aux genres *Abuta* et *Anomospermum*. Aucune espèce du genre n'ayant fait l'objet d'une étude chimique, il nous a semblé intéressant de procéder à celle-ci, compte tenu de la présence de nombreuses structures pharmacologiquement intéressantes aussi bien chez le genre *Abuta* que chez les *Anomospermum*.^{2,3)}

L'extraction des alcaloïdes non quaternaires est conduite selon le procédé classique à partir des tiges (rendement de 0,65%). La séparation et la purification des alcaloïdes sont réalisées par une suite de chromatographies sur colonnes d'alumine, de silice et de sephadex ainsi que par chromatographies sur couche mince préparatives. Dix composés ont ainsi été isolés, une benzylisoquinoléine, la (+)-coclaurine; trois proaporphines, la (–)-stépharine (**1**), la (–)-pronuciférine (**2**) et un composé nouveau, la (–)-*N*-formylstépharine (**3**); une protoberbérine, la (+)-pseudopalmatine; cinq bisbenzylisoquinoléines, la (–)-*N,N*-diméthyllindoldhamine, la (–)-2-norlimacine (**4**), la (–)-caryolivine (**6**), la (+)-2-norlimacusine (**7**) et la (–)-1,2-dehydro-2-norlimacusine (**9**). Les alcaloïdes **4**, **6** et **9** sont nouveaux.

La (–)-*N*-formylstépharine (**3**), C₁₉H₁₉NO₄, présente, comme la (+)-stépharine (**1**) et la (+)-pronuciférine (**2**), des spectres ultraviolet (UV) et infrarouge (IR) mettant en évidence sa structure proaporphinique; en effet, le spectre UV montre deux maxima à 230 et 282 nm, le spectre IR comporte deux bandes à 1660 et 1620 cm^{–1} caractéristiques d'un système diénone.⁴⁾ Le spectre de résonance magnétique nucléaire du proton (¹H-RMN) à 60 MHz est pratiquement superposable à celui de la (+)-stépharine (**1**) avec deux singulets à δ 3,61 et 3,84 ppm dus à deux méthoxyles, un singulet isolé dû à un proton aromatique et deux groupes de deux multiplets de deux protons chacun à 6,30–6,40 et 6,70–7,00 ppm qui correspondent respectivement aux protons vinyliques en 9, 11 et 8, 12 du système diénon-

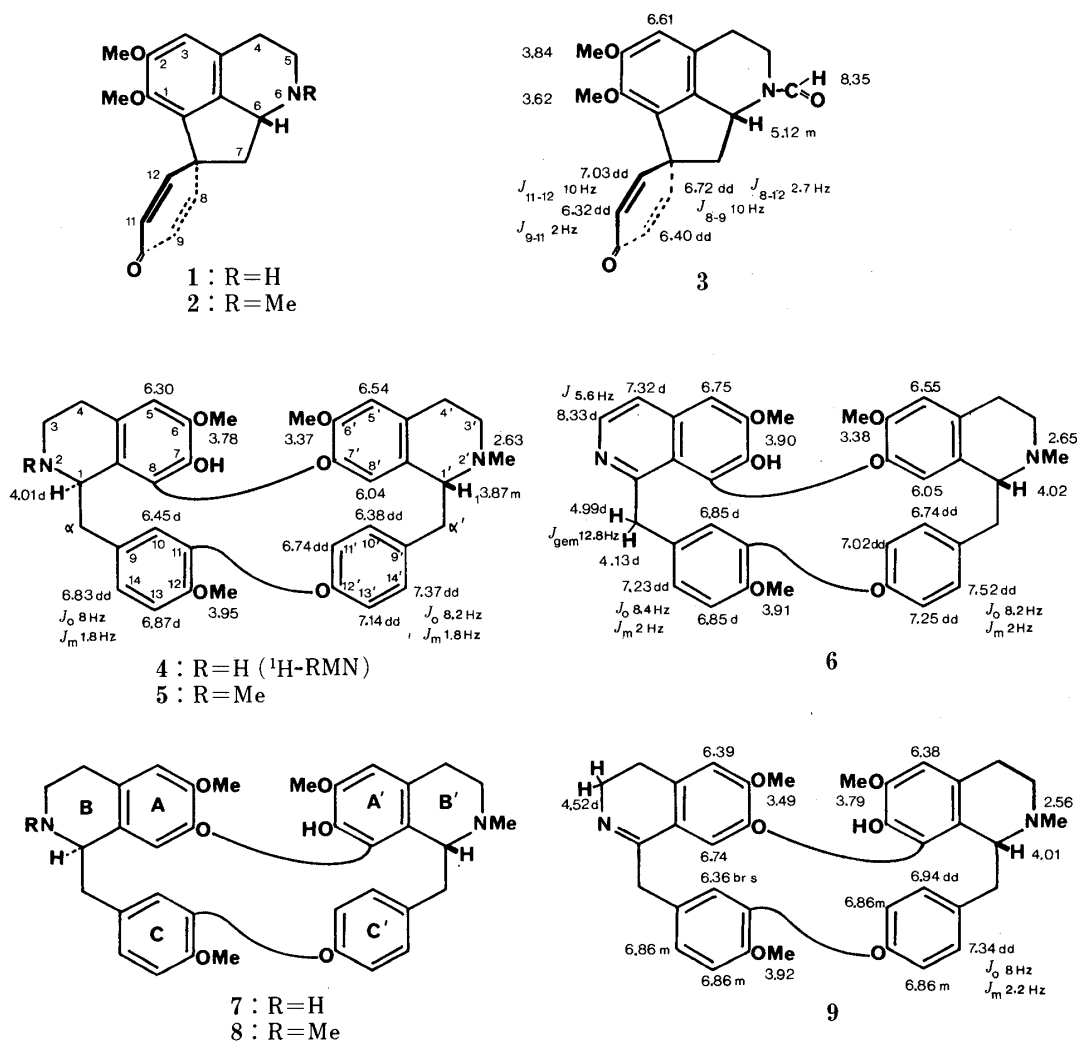
ique.⁵⁾ L'absence de singulet correspondant à un *N*-méthyle comme dans **2** et la présence d'un singulet de un proton à 8,35 ppm font envisager une structure *N*-formylstépharine. Le spectre de masse (MS) est en bon accord avec cette hypothèse; outre le pic moléculaire à m/z 325 (100) et des fragmentations caractéristiques des proaporphines (coupures à $M-1$, $M-1-28$, pic à m/z 165), le spectre présente également des pics à m/z 267 ($M-58$), 280 et 282 qui résultent d'une fragmentation spécifique des amides des proaporphines confirmant la présence d'un groupe N-CHO.^{6,7)} Cette structure a été confirmée par comparaison de **3** avec un échantillon de (–)-*N*-formylstépharine obtenu par action du formiate d'éthyle sur la (+)-stépharine, ainsi que par réduction de la *N*-formylstépharine naturelle par $AlLiH_4$ qui conduit à la (+)-pronuciférine (**2**). La *N*-formylation de **1** donne un mélange (2 : 3—1 : 3) des conformères *Z* et *E* nettement indiqués par le spectre de RMN à 360 MHz (FT); l'épaississement du singulet à δ 8,35 ppm dans le spectre du produit naturel laisse à penser que celui-ci est aussi un mélange des deux conformères comme cela a déjà été observé pour d'autres dérivés *N*-formylés, dans la série des *N*-formylaporphines par exemple.⁸⁾

Les trois autres alcaloïdes nouveaux sont des dimères bisbenzylisoquinoléiques. La (–)-2-norlimacine (**4**), $C_{36}H_{38}N_2O_6$ a sur son MS un pic moléculaire de forte intensité à m/z 594 (50) et un pic de base à m/z 367 caractéristiques d'un dimère à deux ponts éther queue à queue-tête à tête.⁹⁾ Le caractère phénolique est révélé par un déplacement bathochromique en milieu alcalin du spectre UV. Le spectre de 1H -RMN dont les valeurs ont été indiquées autour de la formule **4**, ne présente qu'un seul singulet dû à un *N*-méthyle vers 2,5 ppm, ce qui indique le caractère "nor" de **4**. La *N*-méthylation de la (–)-2-norlimacine (**4**) ($HCHO/NaBH_4$) conduit à la (–)-limacine (**5**) dont le spectre de 1H -RMN est caractérisé par la présence de deux singulets dus aux deux *N*-méthyles distant l'un par rapport à l'autre de 0,31 ppm ainsi que par la position relativement blindée du doublet dédoublé dû au proton en 10'.¹⁰⁾ La position du signal formé par *N*-méthylation vers 2,30 ppm indique que l'amine secondaire de **4** est en 2'.¹⁰⁾ L'absence vers 3,10–3,20 ppm de signal dû à un méthoxyle dans le spectre de RMN de **4** comme dans celui de **5** montre que l'hydroxyle phénolique est fixé sur le carbone 7. La position du signal du proton en 10 (δ 6,45 d pour **4** et 6,54 d pour **5**) est en faveur, dans le cas d'un dimère à deux ponts éther 11–12', 8–7', d'une configuration 1*R*,1'*R* ou 1*S*,1'*S*, ce qui est confirmé par la position du signal dû au méthoxyle en 6 vers 3,35 ppm.¹⁰⁾ Le pouvoir rotatoire négatif de **4** indique que la configuration absolue de ce dimère est 1*R*,1'*R* comme pour la (–)-limacine (**5**).¹¹⁾

L'alcaloïde **6** ou (–)-caryolivine, a été obtenu amorphe et répond à la formule brute $C_{36}H_{34}N_2O_6$. Son spectre UV, comportant trois maxima et subissant un effet bathochrome en milieu alcalin ainsi qu'un effet hypsochrome en milieu acide indique le caractère phénolique de la molécule ainsi que la présence d'une hyperconjugaison. Le MS présente un pic moléculaire à m/z 590 (80) et un pic de base à m/z 589 ($M-1$); la présence d'un pic correspondant à l'ion moléculaire doublement chargé à m/z 295 (13) ainsi que la valeur du pic de base confirment la nature hyperconjuguée de cet alcaloïde. L'hyperconjugaison se situe au niveau d'un noyau isoquinoléique vrai étant donné la présence d'une fragmentation à m/z 174, correspondant à un noyau de ce type substitué par un hydroxyle phénolique et un méthoxyle. Le spectre de 1H -RMN dont les valeurs sont indiquées autour de la formule **6** présente un système AB de deux protons caractéristique du cycle pyridinique du noyau isoquinoléique vrai (7,31 d et 8,33 d, $J=5,5$ Hz). La présence d'un singulet de trois protons dû à un *N*-méthyle à 2,66 ppm permet de dire que l'isoquinoléine vraie est située dans la moitié gauche de la molécule. Le singulet de un proton à 6,05 ppm est attribuable au proton en 8' dans le cas d'un dimère à deux ponts éther en 11–12', 8–7'. La position du signal dû au méthoxyle en 6' à 3,38 ppm indique que ce méthoxyle est en α du pont éther et donc confirme la position 8–7' du pont éther supérieur. La présence de deux doublets de un proton chacun à 4,13 et 4,99 ppm ($J=12,8$ Hz) attribuables aux protons α confirme

la présence du noyau isoquinoléique vrai. Le pouvoir rotatoire négatif de **6** indique que la configuration en 1' est *R*. La (–)-1,2-dehydro-2-norlimacusine (**9**), $C_{36}H_{36}N_2O_6$, est également un dimère biponté phénolique. Le MS présente un pic moléculaire M^+ 592 qui est le pic de base, indiquant que **9** a une structure hyperconjuguée. La présence d'un pic d'intensité non négligeable à m/z 486 (20) correspondant à l'ion $M-106$ dû à la perte du cycle C' indique que **9** doit comporter un pont éther entre les carbones 7 et 8', comme dans le cas de la limacusine (**8**). Le spectre de RMN présente un seul singulet de trois protons attribuable à un *N*-méthyle; le déplacement chimique de ce signal à 2,56 ppm ainsi que la présence d'un multiplet de un proton à δ 4,01 ppm attribuable au proton en 1', permet de placer la fonction amine tertiaire en 2'. L'absence de singulet de trois protons dû à un méthoxyle dans les champs élevés (δ 3,10–3,20 ppm) permet de placer la fonction phénolique en 7'. La réduction par $NaBH_4$ dans le méthanol conduit à la (–)-2-norlimacusine (**7**) isolée récemment de *Sciadotenia eichleriana*¹²⁾ et également retrouvé au cours de ce travail dans *Caryomene olivascens*. Le pouvoir rotatoire négatif de **9** confirme la configuration 1'*R*.

Quelques remarques peuvent être formulées sur la composition alcaloïdique de cette espèce: on notera en premier lieu une filiation biogénétique évidente entre tous les alcaloïdes isolés, la (+)-cocclaurine conduisant d'une part aux proaporphines et d'autre part, par dimérisation, à des biscocclaurines monopontées ((–)-*N,N*-diméthyllindholdamine) et bipontées 7–8' (**4** et **6**) ou 8–7' (**7** et **9**).¹³⁾ La (–)-*N,N*-diméthyllindholdamine est d'une distribution restreinte et n'était connue à ce jour que chez les Annonacées (*Guatteria*



*gaumeri*¹⁴⁾ et *Polyalthia nitidissima*¹⁵⁾). Le point le plus remarquable est sans aucun doute la présence d'une *N*-formylproaporphine: c'est à notre connaissance la première fois qu'un tel composé est rencontré à l'état naturel et cela n'est pas dépourvu de signification biosynthétique. Si certains ont pu penser que les *N*-formylnoraporphines pouvaient résulter de l'ouverture du cycle C des protoberbérines,¹⁶⁾ l'existence de *N*-formylproaporphine ne peut se justifier par un tel mécanisme. Ceci renforce les doutes récemment énoncés à propos d'une telle hypothèse ou du moins en exclut sa généralisation.⁸⁾

Partie Expérimentale

Les points de fusions sont mesurés en tube capillaire et ne sont pas corrigés, les pouvoirs rotatoires sont mesurés dans le chloroforme à l'aide d'un polarimètre Schmidt Haensch; les spectres UV sont enregistrés sur spectrophotomètre Beckman 530 et les spectres IR sur appareil Perkin-Elmer 580. Les études de RMN ont été réalisées dans le deutérochloroforme (TMS: 0 ppm) sur appareil Varian EM 360 et Bruker WB 360; les MS ont été enregistrés sur appareil Varian MAT 311.

Extraction des Alcaloïdes—L'échantillon étudié est référencé sous le n° AF 82 dans l'herbier du centre O.R.S.T.O.M. de Cayenne (Guyane). L'extraction des tiges broyées est faite par un procédé classique après dégraissage à l'éther de pétrole: extraction au soxhlet par le chlorure de méthylène, purification à l'état de sels à l'aide d'une solution diluée d'acide chlorhydrique puis retour aux bases par alcalinisation par l'hydroxyde d'ammonium et extraction par le chlorure de méthylène. Le résidu alcaloïdique (36,5 g pour 6,67 kg de tiges) est purifié par filtration sur gel de Sephadex LH20 (CHCl₃-MeOH, 70:30) qui permet l'élimination, en tête, des impuretés de haut poids moléculaire.

Séparation des Alcaloïdes—Une première séparation des alcaloïdes est obtenue à l'aide d'une colonne d'alumine désactivée (H₂O 6%). Des chromatographies sur colonne de silica pour ccm permettent la séparation finale des substances, la purification totale étant obtenue par chromatographie sur couche mince préparative ou par cristallisation. Cette purification a permis d'obtenir la (+)-coclaurine (875 mg), la (-)-stépharine (757 mg), la (-)-pronuciférine (103 mg), la (-)-*N*-formylstépharine (52 mg), la (-)-2-norlimacine (593 mg), la (+)-2-norlimacusine (53 mg), la 1,2-dehydro-2-norlimacusine (25 mg), la (-)-caryolivine (290 mg), la (-)-*N,N*-diméthyllindholdamine (1,4 g) et la (+)-pseudopalmatine (880 mg).

Identification des Alcaloïdes—Les alcaloïdes connus ont été identifiés par comparaison de leurs constantes physiques et données spectrales avec celles données dans la bibliographie, et quand cela a été possible par comparaison avec un échantillon authentique. Les constantes de ces produits ne sont pas reprises ici.

(-)-*N*-Formylstépharine (3): C₁₉H₁₉NO₄. MS *m/z*: 325 (M⁺, 100), 324 (11), 308 (8), 296 (27), 282 (12), 268 (14), 267 (53), 238 (7), 223 (5), 222 (6), 178 (6), 165 (14), 152 (11), 115 (10). UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ε): 213 (4,58), 232 (4,35), 282 (3,50).

Formylation de la (-)-Stépharine (1): 50 mg de 1 sont dissous dans 10 ml de formiate d'éthyle fraîchement distillé. Après 72 h de contact et élimination sous vide du formiate en excès, le résidu est purifié par ccm préparative et fournit 30 mg de 3.

Réduction de la (-)-*N*-Formylstépharine: 20 mg de 3 dissous dans 10 ml du mélange Et₂O-THF (10:1) sont réduits par 40 mg de AlLiH₄. Après 2 h de chauffage à 60 °C, le mélange est refroidi, additionné de 10 ml d'éther. L'excès d'hydrure est détruit par H₂O et le milieu réactionnel est dilué par l'éther. La phase étherée fournit la (+)-pronuciférine (2) identique au produit naturel.

(-)-2-Norlimacine (4): C₃₆H₃₈N₂O₆. MS *m/z*: 594 (M⁺, 47), 593 (39), 368 (25), 367 (100), 366 (16), 365 (49), 353 (13), 190 (12), 184 (39), 183 (14), 174 (32). UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ε): 211 (4,91), 238 (4,46), 282 (3,96). [α]_D = -193° (c = 0,13, CHCl₃).

(-)-Caryolivine (6): C₃₆H₃₄N₂O₆. MS *m/z*: 590 (M⁺, 80), 589 (100), 588 (16), 484 (2), 483 (6), 295 (12), 174 (17). UV λ_{max}^{MeOH} nm (log ε): 212 (4,67), 254 (4,53), 286 (3,88), 336 (3,51). [α]_D = -46° (c = 0,08, MeOH).

(+)-1,2-Dehydro-2-norlimacusine (9): C₃₆H₃₆N₂O₆. MS *m/z*: 592 (M⁺, 100), 591 (50), 590 (45), 560 (45), 486 (20), 296 (16), 204 (16), 202 (20), 190 (23), 189 (31), 160 (14). [α]_D = +94° (c = 0,16, MeOH).

Remerciements Les auteurs remercient A. J. Freyer et M. Shamma (Pennsylvania State University, U.S.A.) et Ad. Cavé (CCIFE, Montpellier, France) pour l'enregistrement de spectres à 360 MHz (FT).

Bibliographie

- 1) R. C. Barneby et B. A. Krukoff, *Mem. N.Y. Bot. Gard.*, **22**, 52 (1971).
- 2) K. P. Guha, B. Mukherjee et R. Mukherjee, *J. Nat. Prod.*, **42**, 1 (1979).
- 3) P. L. Schiff, Jr., *J. Nat. Prod.*, **46**, 1 (1983).

- 4) S. Dvorackova, L. Hruban, V. Preininger et F. Santavy, *Heterocycles*, **3**, 575 (1975).
- 5) W. Regel et W. von Philipsborn, *Helv. Chim. Acta*, **52**, 1354 (1969).
- 6) L. Dolejs, *Coll. Czech. Chem. Commun.*, **39**, 571 (1974).
- 7) M. Baldwin, A. G. Loudon, A. Maccoll, L. J. Haynes et K. L. Stuart, *J. Chem. Soc., C*, **1967**, 154.
- 8) F. Roblot, R. Hocquemiller, A. Cavé et C. Moretti, *J. Nat. Prod.*, **46**, 862 (1983).
- 9) J. Baldas, I. R. C. Bick, T. Ibuka, R. S. Kapil et Q. N. Porter, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1972**, R592.
- 10) H. Guinaudeau, A. J. Freyer et M. Shamma, *Nat. Prod. Reports*, (accepté, 1986).
- 11) B. K. Cassels et M. Shamma, *Heterocycles*, **14**, 211 (1980).
- 12) P. Damas, A. Fournet, H. Guinaudeau et J. Bruneton, *J. Nat. Prod.*, **48**, 69 (1985).
- 13) M. Shamma et H. Guinaudeau, *Tetrahedron*, **40**, 4795 (1984).
- 14) H. Dehaussy, M. Itis et L. Angenot, *Planta Medica*, **49**, 25 (1983).
- 15) A. Jossang, M. Leboeuf, P. Cabalion et A. Cavé, *Planta Medica*, **49**, 20 (1983).
- 16) N. Murugesan et M. Shamma, *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 4521.