

PLANTES MALGACHES—XVIII

NOUVEL ALCALOÏDE DE *CATHARANTHUS OVALIS* Mgf. (APOCYNACÉES). LA CATHOVALININE OU ÉPOXY-14 α ,15 α HYDROXY-19S TABERSONINE

A. CHIARONI, C. RICHE, L. DIATTA, R. Z. ANDRIAMILISOA, N. LANGLOIS, et P. POTIER

Institut de Chimie des Substances Naturelles, C.N.R.S.,
91190-Gif-sur-Yvette, France

(Received in France 30 January 1976; Received in the UK for publication 1 March 1976)

Summary—Structure **1a** has been established for cathovalinine, a minor alkaloid isolated from *Catharanthus ovalis* Mgf. Its relative configuration follows from X-ray analysis.

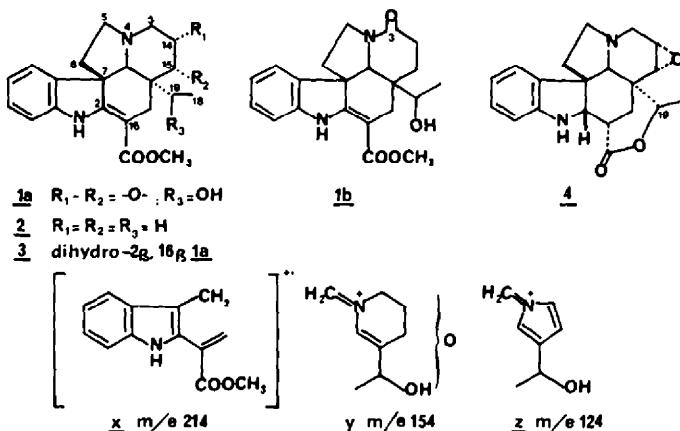
Parmi les alcaloïdes monoindoliques déjà isolés des parties aériennes du *C. ovalis* Mgf.,^{1,3} ceux qui appartiennent au type "Aspidospermane" sont les plus nombreux. Les dérivés O-méthylés de la vincoline et de l'épi-19 vincoline et les deux épimères de l'hydroxy-19 tabersonine ont été récemment caractérisés⁴ dans la fraction alcaloïdique extraite à pH 6.5. A côté de ces composés, un nouvel alcaloïde **1** présentant l'enchaînement α -méthylène indoline a été isolé en faible quantité.

Il répond à la formule brute $C_{21}H_{24}N_2O_4$, déterminée par analyse centésimale et présente donc un oxygène de plus que les hydroxy-19 tabersonines. La fragmentation en spectrométrie de masse est caractéristique du squelette de la vincadifformine **2**,⁵ en particulier, la présence des pics à *m/e* 214 x et *m/e* 154 y montre que deux atomes d'oxygène sont situés sur la partie pipéridinique de la molécule. Le spectre IR de **1** exclut la présence d'un carbonyle non conjugué; en plus des bandes d'absorption à 3360 cm^{-1} (N_2H), 1665 et 1610 cm^{-1} (ester anilino-acrylique), il présente une bande à 3540 cm^{-1} attribuée à un hydroxyle.

Ces éléments permettent de proposer deux hypothèses de structure pour ce nouveau composé, **1a** ou **1b**. L'intensité relative des fragments **x** (65%) et **y** (100%) dans le spectre de masse est plutôt en faveur de la formule **1a** bien que l'intensité du pic à *m/e* 124 z soit faible (8%).

D'autre part, les fréquences en IR de carbonyles de lactames de type **1b** se situent habituellement vers 1625 – 1630 cm^{-1} et sont donc légèrement différentes de l'absorption observée, ce qui vient aussi à l'appui de l'hypothèse de structure **1a**.

Pour vérifier que l'absorption d'une fonction lactame n'est pas masquée par la présence de l'ester conjugué, l'alcaloïde **1** a été réduit en dihydro- $2\beta,16\beta$ cathovalinine **3** par le cyanoborohydrure de sodium dans l'acide acétique,⁶ ce réactif étant connu pour son inertie vis-à-vis des amides et des époxydes.⁹ Le spectre IR du dérivé **3** ne présente qu'une bande ester dans la région des carbonyles (1740 cm^{-1}). La réduction fournit également un second composé dihydroindolique minoritaire dont l'analyse spectrale s'accorde avec la formule **4**. Son spectre de



Le spectre de RMN enregistré à 240 MHz^6 indique que la chaîne tryptamine de **1** n'est pas substituée (les protons en C-5 et C-6 résonnent à 2.85, 2.5, 1.94 et 1.73 ppm); il confirme l'existence d'un alcool secondaire et en fixe la position en C-19: en effet, le groupe méthyle C-18 engendre un doublet ($J = 6\text{ Hz}$) à 1.13 ppm et on observe un couplage ($J \sim 9.5\text{ Hz}$) entre le proton à C-19 (3.30 ppm) et le proton du groupe hydroxyle qui s'échange par deutérialion (signal à 2.66 ppm).

RMN notamment, ne présente plus de singulet caractéristique d'un groupe méthoxycarbonyle et le signal du proton en C-19 se trouve déplacé à 4.45 ppm. Les fragmentations observées en spectrométrie de masse (pic moléculaire M^+ à *m/e* 338), en particulier les pics à *m/e* 267 et *m/e* 208,¹⁰ viennent à l'appui de la structure lactonique **4**. La formation de cette lactone n'apporte cependant pas de renseignement concernant la configuration en C-19 de l'alcaloïde précurseur **1a**.¹¹

Les données précédentes permettent d'assigner la formule 1a à la cathovalininine, alcaloïde différent de l'hoerhammericine (de même formule plane) isolée d'une autre espèce de *Catharanthus*.^{12,13} Sa structure s'apparente donc étroitement à celle de la lochnérinine, alcaloïde doué de propriétés cytotoxiques.¹⁴

La configuration relative de la cathovalininé a été déterminée par une analyse aux rayons X de sa structure cristalline. Figure 1 donne une vue de la molécule et la numérotation des atomes. La valeur des angles de torsion reportée sur la Fig. 2 traduit la conformation des différents cycles.

Les atomes C-2 et C-7 s'écartent respectivement de -0.20 et 0.18 Å du plan benzénique; le cycle B de l'indole tend vers une forme demi-chaise, la valeur des paramètres Δ et φ_m^{15} étant de 6.2° et -23.9° . Le cycle C adopte la forme 1,3 diplanaire du cyclohexène.¹⁶ Le cycle D se présente pratiquement sous une forme demi-chaise, les atomes N-4 et C-21 étant situés respectivement à 0.50 et -0.29 Å du plan des atomes C-3, C-14, C-15 et C-20. Entre ce dernier plan et celui de l'époxyde, l'angle dièdre est de 104.5° . La conformation du cycle E est intermédiaire entre les formes demi-chaise et enveloppe en C-5, cet atome étant à -0.65 Å du plan des quatre autres atomes ($\Delta = 20.8^\circ$ et $\varphi_m = 45.2^\circ$).

La distance courte N-1...O-23 de 2.725 Å est caractéristique d'une liaison hydrogène intramoléculaire forte (l'angle N-1-H...O-23 est de 22°). La distance

O-26...O-27 de 2.770 Å et l'orientation du groupement hydroxyle O-26 suggèrent l'existence d'une seconde liaison hydrogène intramoléculaire. La cohésion du cristal est due aux forces de van der Waals. La valeur fortement négative du pouvoir rotatoire de la cathovalinine 1a établit la configuration absolue indiquée dans la Fig. 1.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Point de fusion corrigé mesuré sur bloc Kofler. Pouvoir rotatoire pour la raie D du sodium obtenu avec un polarimètre électronique Perkin-Elmer type 141 MC. Spectres IR (ν cm⁻¹) sur spectromètre Perkin-Elmer type 257. Spectres UV (λ_{max} (ϵ), éthanol) sur un appareil Bausch et Lomb type spectronic 505. Spectres de masse sur spectrographe AEI MS9. Les spectres de RMN du ¹H et les expériences de découplage ont été effectués sur appareil IEF 240 MHz^a dans CDCl₃, avec le TMS comme référence interne ($\delta = 0$ ppm; constantes de couplage, J, exprimées en Hz; s, singulet; d, doublet; t, triplet; m, multiplet). Les chromatographies sur couche épaissie (CCE) ont été effectuées avec le Kieselgel HF 254 + 366 et l'alumine GF254 Merck.

Isolement de la cathovalinine

Les constituants alcaloïdiques du *C. ovalis* Mgf. extraits à pH 6.5 (60.3 g) ont été fractionnés par passage sur colonne de gel de Sephadex LH 20 (éluant chloroforme-méthanol = 3:7). Les alcaloïdes mono-indoliques (38.9 g) sont séparés par chromatographies sur colonnes d'alumine (éluant benzène: 6.0 g), puis de silice (éluant chloroforme-méthanol 2%: 0.64 g). L'alcaloïde 1 (59 mg) est isolé par CCE de silice (éluant éther, cuve saturée d'ammoniaque) et cristallisé dans le benzène. F 223°, $[\alpha]_D$ -492° (c = 0.30, CHCl₃). Analyse: C₂₁H₂₄N₂O. Calc. C, 68.46; H, 6.57; N, 7.60; Tr. C, 68.44; H, 6.75; N, 7.65%. IR (KBr): 3540 (OH), 3360 (NaH), 1665, 1610 (carbométhoxy- α méthylène indoline). UV: 230 (4900), 299 (5400) et 329 (8000). RMN: 8.74 (1H, NaH), 7.2-6.6 (4H, protons aromatiques), 3.72 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.45 et 3.41 (attribués à H en C-3 et H en C-14), 3.30 (m, 1H, J_{18,19} = 6 et J_{19,OH} ~ 9.5, H en C-19), 3.19 (s, 1H, H en C-21), 2.85 (H en C-5 + H' en C-3), 2.66 (d, 1H, J ~ 9.5, disparait par deutérialion, OH), 2.56 et 2.52 (H en C-17 et H' en C-17), 2.5 (H en C-5 ou H en C-6), 1.94 (m, 1H, H en C-6 ou H' en C-5), 1.73 (dd, 1H, J = 10 et 4.5, H' en C-6). 1.13 (d, 3H, J_{18,19} = 6, H en C-18). SM pics à m/e (0): 368 (42, M⁺), 350 (46), 337 (7), 323 (12), 228 (14), 214 (65), 168 (21), 167 (28), 154 (100), 124 (8).

Réduction de la cathovalinine par NaBH_3CN 1a \rightarrow 3 + 4

Un excès de NaBH_4CN est ajouté à température ordinaire à une solution de 14 mg de cathovalinine dans 0.3 cm³ d'acide acétique. Après 1h, le milieu réactionnel est alcalinisé, à 0°, par addition d'une solution aqueuse d'ammoniaque et extrait par du chloroforme. On isole 14 mg de produit brut dont les constituants sont séparés par CCE d'alumine (éluant cyclohexane-acétate d'éthyle 3-1).

Dihydro-2R,16S-catharanthine 3 (6 mg)

IR (CHCl₃): 3570 (OH), 3400 (NH), 1740 (CO₂CH₃), 1620 (faible, dihydro-indole). UV: 248 et 303 nm (dihydroindole). RMN: 7.0-6.4 (4H aromatiques), 4.11 (1H, disparait par échange avec D₂O, NH), 3.96 (1H, H en C-2), 3.66 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.17 (m, attribué à H en C-19), 2.80 (s, 1H, H en C-21), 2.05 (d, J ~ 9.4, disparait par deutérialion, OH), 1.16 (d, 3H, J = 6.5 H en C-19). SM pics à *m/e*: 370 (M⁺), 339 (M-CH₂O), 325 (M-CH(OH)CH₃), 284 (M-CH₂ = CH-CO₂CH₃), 267, 266, 167, 154 (pic de base), 144, 130, 124.

Lactone 4 (4 mg)

IR (CHCl₃): 3360 (N-H), 1725 (δ lactone), 1610 (dihydroindole). UV: 245 et 296 nm. RMN: 7.0-6.4 (4H aromatiques), 4.45 (q, 1H, J = 6.5, H en C-19), 4.08 (1H, disparait par deutérialion, NH), 3.01 (s, 1H, H en C-21). 1.41 (d, 3H, J = 6.5, H en C-18).

Analyse aux rayons X

L'enregistrement des données a été réalisé à l'aide d'un diffractomètre Philips PW1100 équipé d'un monochromateur, en

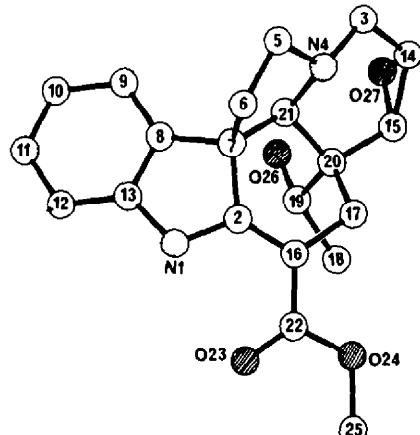


Fig. 1. Vue en perspective de la molécule.

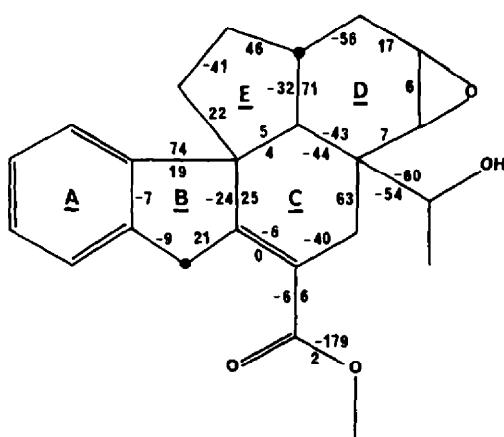


Fig. 2. Angles de torsion (en degrés).

utilisant la radiation K_α du cuivre et la méthode de balayage $\theta-2\theta$. Sur un total de 1908 réflexions mesurées, 1629 répondant au critère $I > 3\sigma(I)$ on été conservées.

Les cristaux appartiennent au système orthorhombique, groupe spatial P2₁2₁2₁, Z = 4. Les paramètres de la maille sont a = 9.780(2), b = 13.625(5), c = 13.732(5) Å, V = 1830 Å³.

La structure a été résolue par les méthodes directes à l'aide du programme MULTAN.¹⁷ Les coordonnées atomiques et les

paramètres atomiques finals sont rassemblés dans le Tableau 1, les distances interatomiques dans le Tableau 2, les angles de valence dans le Tableau 3. La liste des facteurs de structure et les coordonnées des atomes d'hydrogène sont disponibles sur demande à l'un des auteurs (A.C.).

Remerciements—Nous remercions les Drs. N. R. Farnsworth et G. A. Gordell (Department of Pharmacognosy and Pharmacology,

Tableau 1. Coordonnées atomiques et facteurs de température $\times 10^4$. L'écart-type figure entre parenthèses. Les coefficients d'anisotropie thermique β_{ij} sont de la forme: $\exp[-(\beta_{11}h^2 + \beta_{22}k^2 + \beta_{33}l^2 + 2\beta_{12}hk + 2\beta_{13}hl + 2\beta_{23}kl)]$

ATOM	X	Y	Z	β_{11}	β_{22}	β_{33}	β_{12}	β_{13}	β_{23}
N (1)	5487 (5)	-439 (4)	4007 (31)	83	50	60	-10	17	-5
C (2)	5227 (51)	-486 (41)	4472 (4)	75	46	49	1	1	-3
C (3)	2442 (6)	987 (51)	4931 (5)	81	78	73	4	19	-31
N (4)	3175 (5)	867 (31)	6017 (31)	77	53	75	5	9	-9
C (5)	3755 (6)	1744 (4)	5555 (51)	100	47	84	4	-9	-8
C (6)	4514 (6)	1290 (4)	4730 (4)	101	44	59	-2	-2	-4
C (7)	5181 (5)	357 (4)	5181 (4)	47	43	59	-6	-1	-3
C (8)	4695 (5)	539 (4)	5340 (4)	62	46	65	-6	4	-2
C (9)	7397 (4)	1087 (4)	6021 (5)	72	43	93	-7	1	2
C (10)	8927 (6)	1195 (4)	5924 (5)	79	57	105	-16	-14	6
C (11)	9505 (6)	750 (4)	5158 (5)	71	62	95	-8	8	-2
C (12)	8795 (5)	201 (4)	4466 (5)	81	49	81	-9	23	0
C (13)	7403 (5)	106 (4)	4579 (4)	75	45	62	-10	10	0
C (14)	1890 (6)	26 (5)	7273 (4)	86	44	63	-9	23	-17
C (15)	2467 (6)	-881 (5)	4860 (5)	85	44	62	-15	14	-6
C (16)	4233 (5)	-1149 (4)	4386 (4)	77	42	62	9	-5	-1
C (17)	4087 (5)	-1122 (4)	4120 (4)	63	49	67	-2	-7	-1
C (18)	4245 (7)	-2709 (5)	4384 (6)	164	69	110	6	-27	15
C (19)	4737 (6)	-1634 (4)	4652 (4)	89	63	59	-4	-12	9
C (20)	4652 (5)	-879 (4)	4158 (4)	71	53	48	-5	4	-6
C (21)	4279 (5)	143 (4)	4083 (4)	58	49	65	2	0	1
C (22)	4421 (5)	-1979 (4)	3734 (4)	74	45	54	0	-6	2
N (23)	5399 (4)	-2074 (3)	3171 (3)	95	50	68	-2	7	-10
N (24)	3410 (4)	-2653 (3)	3771 (3)	89	47	67	-5	0	-12
C (25)	3574 (6)	-3507 (4)	3132 (5)	128	41	100	0	1	-22
C (26)	5273 (4)	-1434 (3)	7412 (3)	120	99	63	-5	-28	-4
C (27)	2779 (4)	-583 (3)	7850 (3)	117	100	57	-8	15	-9

facteurs de température anisotropes ont été affinés par la méthode des moindres carrés (matrice complète) jusqu'à une valeur de 7% du facteur résiduel R. Le schéma de pondération utilisé dans l'affinement était basé sur l'erreur statistique de comptage.¹⁹

Les atomes d'hydrogène ont été repérés sur des séries de Fourier différence à l'exception de ceux liés au méthyle C-25 et à l'oxygène O-26. Ces atomes ont été affectés d'un facteur de température isotrope équivalent à celui de l'atome porteur. Seules les coordonnées des atomes d'hydrogène liés à l'azote N-1 et aux carbones C-14 et C-15 ont été affinées, les autres atomes étant localisés en position théorique (d C-H = 1.0 Å) à chaque cycle d'affinement.

Les facteurs de diffusion atomique utilisés sont ceux de la Réf. 19 pour les atomes C, N, O et ceux de la Réf. 20 pour les atomes H.

Tableau 2. Distances interatomiques (Å). (L'écart-type moyen est de 0.008 Å)

N(1)-C(2)	1.389	C(11)-C(12)	1.397
N(1)-C(13)	1.405	C(12)-C(13)	1.276
C(2)-C(16)	1.506	C(14)-C(15)	1.493
C(2)-C(17)	1.351	C(14)-O(27)	1.440
C(3)-N(4)	1.455	C(15)-C(20)	1.491
C(3)-C(14)	1.492	C(11)-C(27)	1.476
N(4)-C(15)	1.468	C(14)-C(17)	1.509
N(4)-C(21)	1.465	C(14)-C(22)	1.432
C(5)-C(6)	1.490	C(17)-C(20)	1.564
C(6)-C(7)	1.559	C(18)-C(19)	1.538
C(7)-C(8)	1.516	C(19)-C(20)	1.533
C(7)-C(21)	1.549	C(19)-O(26)	1.443
C(8)-C(19)	1.380	C(20)-C(21)	1.524
C(10)-C(13)	1.385	C(22)-O(23)	1.236
C(9)-C(10)	1.411	C(22)-O(24)	1.351
C(10)-C(11)	1.379	O(24)-C(25)	1.466

Tableau 3. Angles de valence (°). (L'écart-type moyen est de 0.5°)

C(2)-N(1)-C(13)	109.5	C(3)-C(14)-O(27)	117.4
N(1)-C(2)-C(7)	106.7	C(15)-C(14)-C(2)	60.7
N(1)-C(2)-C(16)	129.1	C(14)-C(15)-C(20)	123.1
C(7)-C(2)-C(16)	124.1	C(14)-C(15)-O(27)	58.2
N(4)-C(3)-C(14)	110.5	C(20)-C(15)-C(2)	115.4
C(3)-C(14)-C(5)	118.1	C(2)-C(16)-C(17)	116.5
C(3)-N(4)-C(2)	117.7	C(2)-C(16)-C(22)	119.5
C(15)-N(4)-C(2)	104.9	C(17)-C(16)-C(22)	123.1
N(4)-C(15)-C(6)	107.5	C(16)-C(17)-C(20)	110.8
C(15)-C(16)-C(7)	104.2	C(18)-C(19)-C(20)	116.6
C(2)-C(17)-C(1)	112.2	C(18)-C(19)-O(26)	109.8
C(2)-C(17)-C(18)	100.9	C(20)-C(19)-O(26)	111.6
C(2)-C(17)-C(21)	113.0	C(15)-C(20)-C(17)	107.3
C(16)-C(7)-C(4)	109.5	C(15)-C(20)-C(19)	111.8
C(6)-C(7)-C(21)	103.5	C(15)-C(20)-C(12)	110.9
C(4)-C(7)-C(21)	110.1	C(17)-C(20)-C(19)	110.0
C(7)-C(8)-C(9)	132.2	C(17)-C(20)-C(21)	105.9
C(7)-C(8)-C(13)	104.1	C(19)-C(20)-C(21)	110.7
C(9)-C(8)-C(13)	119.4	N(4)-C(21)-C(17)	104.1
C(8)-C(9)-C(10)	119.8	N(4)-C(21)-C(20)	104.8
C(9)-C(10)-C(11)	120.7	C(7)-C(21)-C(20)	117.1
C(10)-C(11)-C(12)	120.5	C(16)-C(22)-O(23)	124.9
C(11)-C(12)-C(13)	117.9	C(16)-C(22)-O(24)	114.0
N(1)-C(13)-C(9)	109.1	O(23)-C(22)-O(24)	121.1
N(1)-C(13)-C(12)	129.2	C(22)-O(24)-C(25)	115.9
C(8)-C(13)-C(12)	122.7	C(14)-O(27)-C(15)	61.1
C(3)-C(14)-C(15)	117.9		

University of Illinois, Chicago) pour la fourniture d'un échantillon d'hoerannémicine. Nous sommes redevables au Dr. B. C. Das pour ses discussions concernant la spectrométrie de masse.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹N. Langlois et P. Potier, *Phytochemistry* **11**, 2617 (1972).
- ²N. Langlois et P. Potier, *C.R. Acad. Sci.* **275C**, 219 (1972).
- ³L. Diatta, Y. Langlois, N. Langlois et P. Potier, *Bull. Soc. Chim., Fr.* **671** (1975).
- ⁴Z. Andriamialisoa, N. Langlois et P. Potier, *Tetrahedron Letters* **163** (1976).
- ⁵M. Plat, J. le Men, M.-M. Janot, H. Budzikiewicz, J. M. Wilson, L. J. Durham et C. Djerassi, *Bull. Soc. Chim., Fr.* **2237** (1962).
- ⁶S. Kan, P. Gonord, C. Duret, J. Salset et C. Vibet, *Rev. Sci. Instr.* **44**, 1725 (1973).
- ⁷M. P. Cava, S. S. Tjoa, Q. A. Ahmed et A. I. da Rocha, *J. Org. Chem.* **33**, 1055 (1968) et réf. citées.
- ⁸J. Le Men, G. Lukacs, L. Le Men-Olivier, J. Lévy et M. J. Hoizey, *Tetrahedron Letters* **483** (1974).
- ⁹C. F. Lane, *Synthesis* **135** (1975).
- ¹⁰B. C. Das et K. Biemann, *Tetrahedron Letters* **2239** (1965).
- ¹¹W. Doepeke et H. Meisel, *Ibid.* **749** (1970).
- ¹²R. N. Blomster, N. R. Farnsworth et D. J. Abraham, *Naturwissenschaften* **55**, 298 (1968).
- ¹³D. J. Abraham, N. R. Farnsworth, W. D. Loub et R. N. Blomster, *J. Org. Chem.* **34**, 1575 (1969).
- ¹⁴N. R. Farnsworth, R. N. Bloomster et J. P. Buckley, *J. Pharm. Sci.* **56**, 23 (1967).
- ¹⁵C. Altona, H. J. Geise et C. Romers, *Tetrahedron* **24**, 13 (1968).
- ¹⁶R. Bucourt et D. Hainaut, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1366** (1965).
- ¹⁷G. Germain, P. Main et M. M. Woolfson, *Acta Cryst.* **A27**, 368 (1971).
- ¹⁸H. Stout et L. H. Jensen, *X-Ray Structure Determination*. Collier-Macmillan, London (1972).
- ¹⁹P. A. Doyle et P. S. Turner, *Acta Cryst.* **A24**, 390 (1968).
- ²⁰R. F. Stewart, E. R. Davidson et W. T. Simpson, *J. Chem. Phys.* **42**, 3175 (1965).