

**Isolement de nouveaux alcaloïdes du *Vinca difformis* Pourr.  
Alcaloïdes des Pervenches [29<sup>e</sup> note] (\*),**

par

Mario FALCO, Janine GARNIER-GOSSET, Etienne FELLION et Jean LE MEN (\*\*).

RÉSUMÉ : En plus de ceux précédemment décrits, deux alcaloïdes ont été isolés du *Vinca difformis* : le premier est identique à la vellosimine I dont la structure est confirmée ; le second, apparemment nouveau, a reçu le nom de vincadiffine. Il s'agit d'un alcaloïde du type  $\alpha$ -acyl indole, répondant vraisemblablement à la formule  $C_{23}H_{26}O_4N_2$ , et pouvant comporter les groupements fonctionnels suivants : un N-H (indolique), un N-CH<sub>3</sub>, un COOCH<sub>3</sub> et un OH alcoolique.

Dans une publication antérieure [4] a été décrit l'isolement à partir des feuilles du *Vinca difformis*, de quatre alcaloïdes : vincadiformine, vincamédine, vincamajine et akuammidine.

Leur séparation par chromatographie sur colonne laisse un certain nombre de fractions non cristallisées dont l'étude est poursuivie. La présente note relate l'isolement d'un alcaloïde déjà connu, la vellosimine et d'un second, apparemment nouveau : la vincadiffine, appartenant au type  $\alpha$ -acyl indole.

I. — *Vellosimine* : Les fractions polaires éluées par le mélange éther-méthanol (98-2), décrites dans la précédente publication, conduisent, par cristallisation, à une base :  $C_{23}H_{26}ON_2$ , dont les caractères physiques sont très voisins de ceux publiés par RAPPOPORT et MOORE [7] pour la vellosimine I, extraite du *Geissospermum Vellozii* Fr. Allem.

L'identification de l'alcaloïde isolé du *Vinca difformis*, a pu être confirmée par comparaison directe avec un échantillon de vellosimine, extrait du *Geissospermum Vellozii* par F. PUISIEUX dans notre laboratoire (1), (2). L'alcaloïde

(\*) 28<sup>e</sup> note : voir référence 3.

(\*\*) Manuscrit reçu le 2 mars 1964.

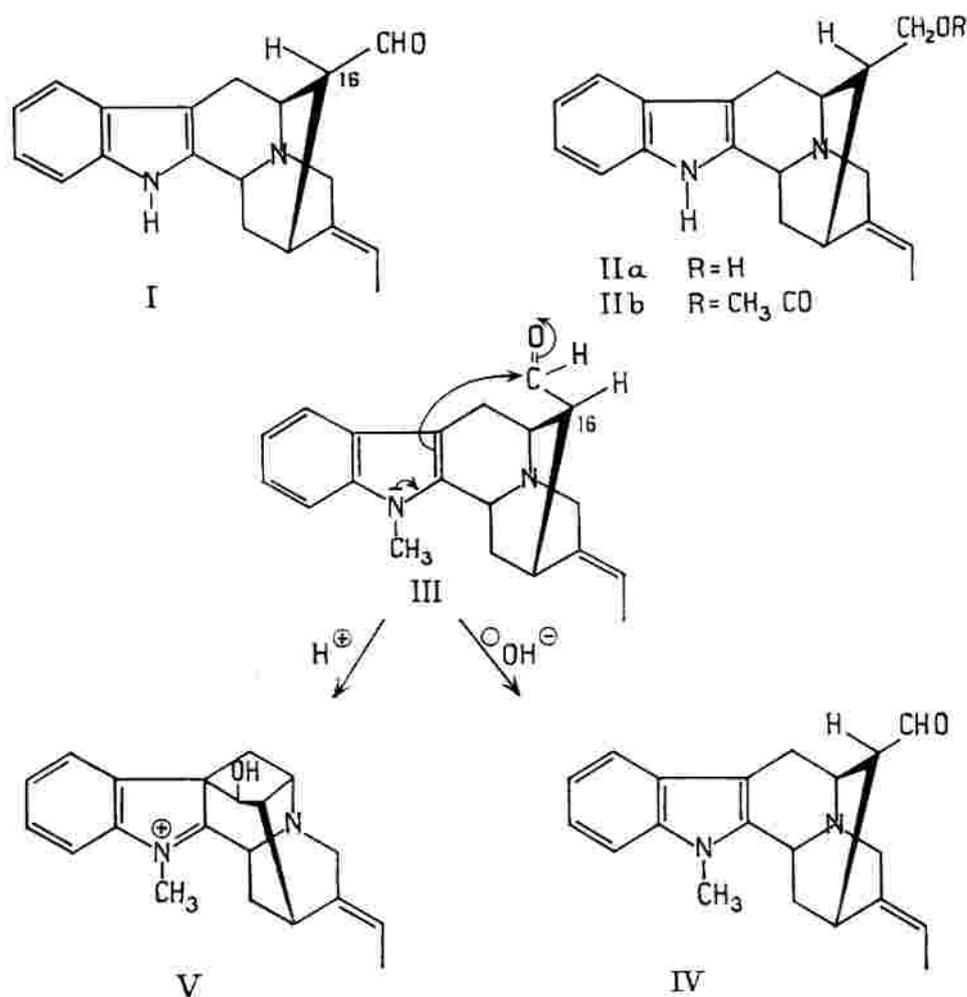
(1) Nous adressons nos remerciements à M. F. PUISIEUX qui nous a donné cet échantillon de référence.

(2) Les échantillons provenant des deux origines présentent des spectres de masse rigoureusement superposables ; nous remercions le professeur Carl DJERASSI (Stanford U.S.A.) pour ces déterminations.

extrait du *V. difformis* a fourni par réduction avec  $\text{LiAlH}_4$  un alcool  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{ON}_2$ ;  $F$   $275^\circ$ ;  $[\alpha]_D + 35^\circ$  (méthanol), dont le dérivé O-acétylé,  $F$   $220^\circ$ ;  $[\alpha]_D + 10^\circ$  (méthanol), a été préparé.

	ALCALOÏDE DU VINCA DIFFORMIS	VELLOSIMINE
Formule .....	$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{ON}_2$	$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{ON}_2$
F .....	304-306°	305-306°
$[\alpha]_D$ .....	+ 56° (méthanol)	+ 48° (méthanol)
U. V. max. $\lambda$ $m\mu$ .....	227, 280, 289	280, 289
I. R. (nujol) .....	bande carbonyle à $1715\text{cm}^{-1}$	bande carbonyle à $1720\text{cm}^{-1}$

Cet alcool et son dérivé acétylé ont respectivement été identifiés, par comparaison *directe*, avec le desformoakuammidinol  $\text{II}_a$  et son dérivé acétylé  $\text{II}_b$  antérieurement préparés par J. Lévy à partir de l'akuammidine [5].



RAPOPORT et MOORE ont également obtenu le même alcool II<sub>a</sub> (vellosiminol) par réduction de la vellosimine par le borohydrure de sodium dans le méthanol [7]. Cette deuxième identification démontre que l'alcaloïde extrait du *Vinca difformis* est bien la vellosimine.

La formule II<sub>a</sub> du desformoakuummidinol étant parfaitement établie [5], il en résulte que celle de la vellosimine doit être I, à condition toutefois, comme le signalent RAPOPORT et MOORE, que la réduction de la fonction aldéhyde en fonction alcool n'ait pas provoqué simultanément l'épimérisation du carbone 16. Ces auteurs [7] vérifient que la vellosimine n'est pas épimérisée en milieu alcalin dans les conditions qui conduisent du désoxyajmalal-A III au désoxyajmalal-B IV [2] et ils confirment encore la stéréochimie du carbone 16 figurée sur la formule I de la vellosimine par l'analyse des spectres de R. M. N. de cet alcaloïde et de ses dérivés [7].

Nous apportons un nouvel argument en faveur de cette conclusion : BARTLETT, LAMBERT, WEBBLOOD et TAYLOR [1] ont, en effet, montré que le désoxyajmalal-A III se présente, en milieu acide, sous la forme indoléninium V, qui est facilement détectée par la variation du spectre U. V. Cette forme V peut d'ailleurs être fixée par hydrogénation de la double liaison 1-2 en milieu acide avec passage à un dérivé indolinique, soit par voie catalytique, soit par voie chimique [2], mais l'apparition de la forme V en milieu acide ne peut se produire que dans le cas où le carbone 16 a la configuration indiquée en III : elle n'a pas lieu par exemple dans le cas du désoxyajmalal-B IV [1].

Nous avons pu vérifier que le spectre U. V. de la vellosimine ne prend pas le type indoléninium en milieu acide acétique pur et qu'il ne se forme aucune trace de dérivé indolinique, soit par hydrogénation catalytique au sein de l'acide acétique, soit par réduction au moyen du zinc en milieu sulfurique. La formule I de la vellosimine de RAPOPORT et MOORE se trouve ainsi confirmée.

II. — *Vincadiffine* : La chromatographie sur plaque révèle que les fractions moyennement polaires décrites dans la précédente publication [4] renferment plus de dix alcaloïdes différents. Une première chromatographie sur alumine a d'abord permis d'en séparer les alcaloïdes antérieurement décrits : vincadifformine, vincamédine, vincamajine et akuammidine. Le mélange complexe résiduel, élué par l'éther-méthanol (97-3) et enrichi en bases inconnues, a alors été fractionné sur une colonne de silice.

Un premier alcaloïde est isolé à l'état de traces ; purifié par sublimation sous vide, il fond à 236°-238° et présente un spectre U. V. (max.  $\lambda$   $\mu$  242 et 310) du type  $\alpha$ -acyl indole. Le second alcaloïde, isolé en très faible quantité, paraît nouveau : il a reçu le nom de *vincadiffine*.

Le chlorhydrate de vincadiffine cristalline en aiguilles blanches, F 202° et semble répondre à la formule C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>, HCl.

La vincadiffine base est très altérable dans tous les solvants organiques, et les cristaux blanc jaunâtre que l'on a pu isoler de l'acétate d'éthyle fondent à 193°-197° ;  $[\alpha]_D^{20}$  — 115° (c : 0,55 éthanol).

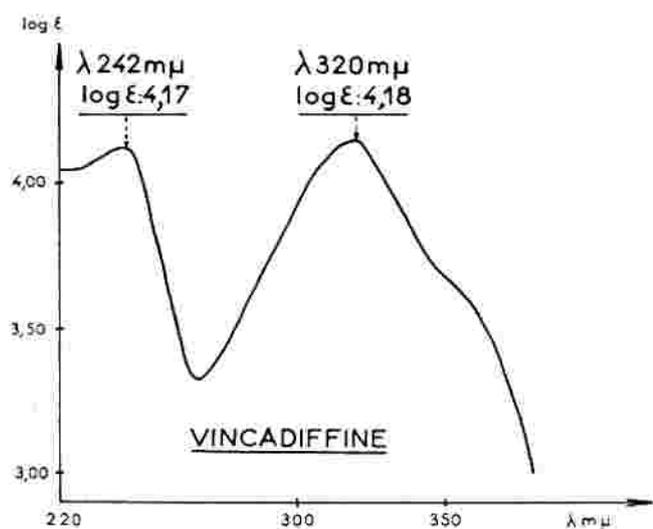


FIG. 1.

Le spectre U. V. (fig. 1) : max  $\lambda$   $m\mu$   $\log \epsilon$  : 242 (4, 17), 320 (4, 18) s'apparente étroitement à celui des alcaloïdes à chromophore  $\alpha$ -acyl indole [6]. Il est inchangé en milieu alcalin, ce qui écarte la présence d'une fonction phénol.

Le spectre I. R. (fig. 2), bandes à  $1\ 646$ ,  $1\ 616^{cm^{-1}}$ ,  $1\ 580$  et  $1\ 532^{cm^{-1}}$ , corrobore l'existence du chromophore  $\alpha$ -acyl indole. Il suggère encore la présence d'une fonction ester : bande CO à  $1\ 733^{cm^{-1}}$  ; une bande aiguë à  $2\ 780$  pourrait correspondre à un groupement N-CH<sub>3</sub> ; deux bandes intenses à  $3\ 300$  et  $3\ 500^{cm^{-1}}$  laissent penser à la présence des groupements NH et OH.

Par réduction au moyen de  $KBH_4$ , la vincadifine base se transforme en un produit très polaire : le vincadifinol dont le spectre U. V. max.  $\lambda$   $m\mu$  ( $\log \epsilon$ ) : 225 (4,54), 285 (4,01) et 293 (3,92) est devenu typiquement indolique. Corrélati-

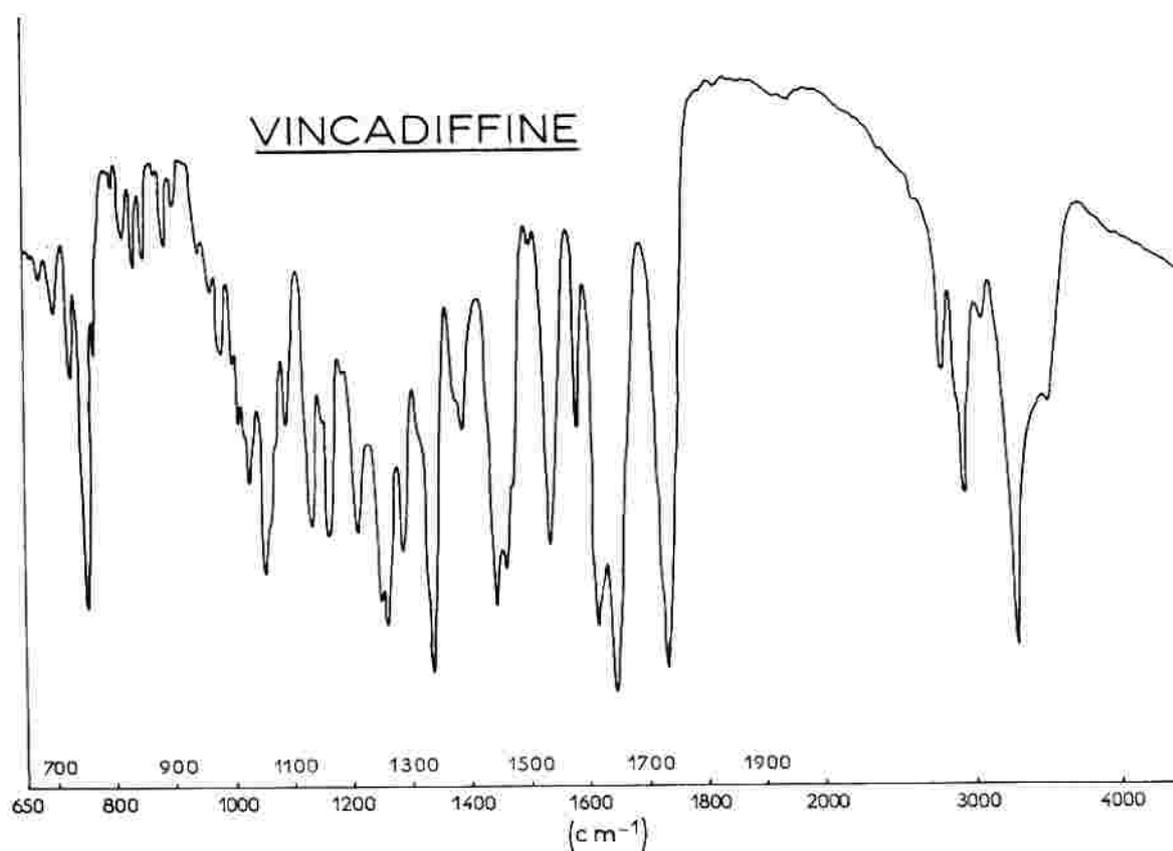


FIG. 2.

vement, le spectre I. R. s'est considérablement simplifié et ne montre plus entre 1 600 et 1 750<sup>cm-1</sup> que la bande CO ester à 1 725<sup>cm-1</sup>. Cette réduction confirme pleinement que la vincadiffine appartient au groupe des alcaloïdes  $\alpha$ -acyl indole.

Le spectre de R. M. N. de la vincadiffine est représenté sur la figure 3. Sur la base de quatre protons aromatiques, la courbe d'intégration indique un total de 26 protons. Le proton oléfinique : quadruplet centré sur 5,53  $\delta$  ( $J = 11$  cps) ainsi que les deux doublets centrés sur 1,73  $\delta$  ( $J = 11$  cps) suggèrent la présence d'une chaîne éthylidène attachée à un carbone ne portant pas d'hydrogène  $>C=CH-CH_3$ . Le pic aigu à 2,57  $\delta$  couvre six protons qui peuvent correspondre à la superposition des signaux dus à un groupement N-CH<sub>3</sub> et à un groupement

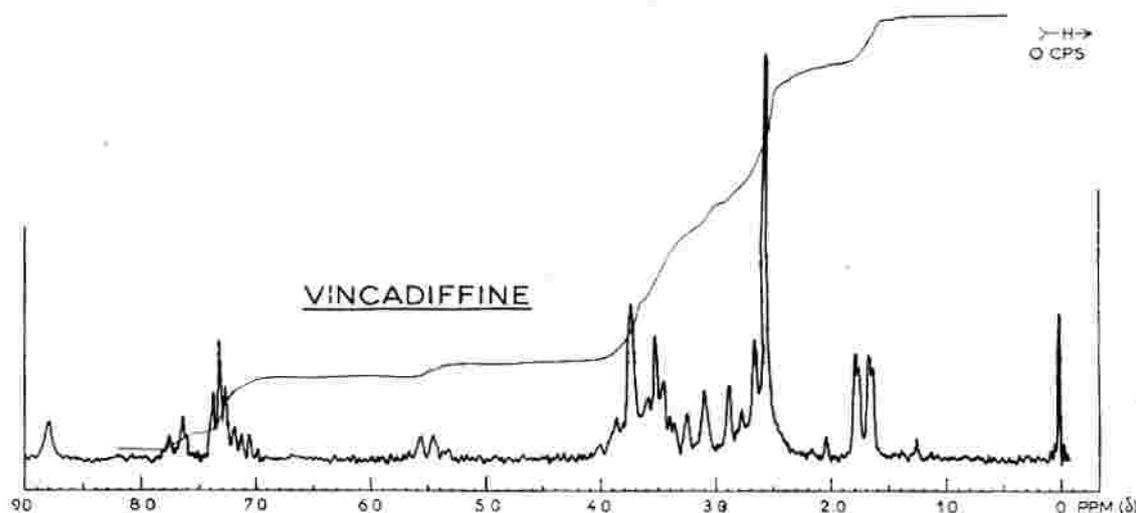


FIG. 3.

O-CH<sub>3</sub> faisant partie d'un carbométhoxyle (COOCH<sub>3</sub>) et très déplacé par le champ aromatique du noyau indole. Un proton, vraisemblablement NH, apparaît au-delà de 8  $\delta$ . L'interprétation des autres pics demeure hasardeuse en l'absence de la connaissance des spectres de R. M. N. des dérivés fonctionnels de la vincadiffine.

## PARTIE EXPERIMENTALE

### 1° VELLOSIMINE.

1° *Isolément* [4] : Les fractions 47 à 53 éluées par le mélange éther-méthanol (98-2) pesant ensemble 3,43 g sont mises à digérer à 80° dans 10 ml de benzène. La partie insoluble, isolée par filtration chaude (2,1 g), est recristallisée deux fois dans le chloroforme. On obtient ainsi des aiguilles blanches qui sont séchées deux heures à 100° sous un vide de 0,1 mm de mercure. F 304°-306° ;  $[\alpha]_D^{20} + 56^\circ$  ( $c = 0,5$  méthanol).

C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>ON<sub>2</sub> :

Calculé % : C 78,1 ; H 6,9 ; N 9,6

Trouvé % : C 78,31 ; H 6,80 ; N 9,2

Spectre U. V. : max.  $\lambda$  m $\mu$  (log  $\epsilon$ ) : 227 (4,48) ; 280 (3,80) ; 289 (3,76).

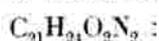
2° Réduction (vellosiminol) : 350 mg de l'alcaloïde précédent sont mis en solution dans 500 ml d'éther anhydre et réduits avec 300 mg d'hydrure de lithium aluminium pendant trois heures à la température d'ébullition du solvant. L'excès de réactif est détruit par addition de 2 ml de solution aqueuse saturée de sulfate de sodium. Après addition de 20 g de sulfate de sodium sec, la solution étherée claire est filtrée puis distillée. Le résidu pesant 301 mg, recristallisé deux fois dans le méthanol, fournit des aiguilles blanches. F 275° ;  $[\alpha]_D + 35^\circ$  ( $c = 0,3$  méthanol).



Calculé % : C 77,5 ; H 7,5

Trouvé % : C 77,3 ; H 7,45

100 mg du produit précédent sont chauffés deux heures sur bain-marie avec 1 ml d'anhydride acétique ; l'excès de réactif est distillé sous vide et le résidu, recristallisé dans l'acétone, fournit le dérivé acétylé. F 220° ;  $[\alpha]_D + 10^\circ$  ( $c = 0,28$  méthanol).



Calculé % : C 74,97 ; H 7,19

Trouvé % : C 74,58 ; H 7,25

## 2° VINCADIFFINE.

1° Isolement [4] : Les fractions 14 à 26 éluées par des mélanges benzène-éther 90-15 à 90-25, pesant ensemble 6,8 g, sont mises à digérer à reflux avec 100 ml de cyclohexane. La partie insoluble 3,2 g est alors reprise par 30 ml de benzène à chaud. Après repos à la température ordinaire, la solution froide est privée d'un léger précipité par filtration, puis chromatographiée sur 100 g d'alumine. L'éluion est pratiquée de façon suivante :

Solvant	Poids des fractions recueillies	Alcaloïde isolé par purification
benzène .....	22 mg	vincadiformine
benzène-éther (85-15) à (75-25) ..	508 mg	vincamédine
benzène-éther (50-50) à (25-75) ..	327 mg	vincamajine
éther .....	210 mg	akuammidine
éther-méthanol (99-1) .....	128 mg	mélange complexe I
éther-méthanol (97-3) .....	407 mg	mélange complexe II
éther-méthanol (95-5) .....	88 mg	mélange complexe III

Un contrôle par chromatographie en couche mince sur silicagel G neutre, solvant de développement : acétate d'éthyle, révèle que le mélange complexe II élué par l'éther-méthanol (97-3), est riche en un alcaloïde apparemment nouveau. Ce mélange, pesant 407 mg, est soumis à une nouvelle chromatographie sur colonne de silice ; l'éluion est effectuée par de l'acétate d'éthyle pur sec et chaque fraction recueillie est testée en chromatographie sur plaque.

On isole ainsi d'abord une dizaine de milligrammes d'alcaloïde qui sont purifiés par sublimation sous vide. F 236°-238°, spectre U. V. max à  $\lambda$   $m\mu$  242 et 310.

Les fractions suivantes, de composition homogène en chromatographie sur plaque, sont réunies puis purifiées par deux cristallisations dans l'acétate d'éthyle. On obtient ainsi 118 mg de cristaux blanc jaunâtre. F 193°-197° ;  $[\alpha]_D - 115^\circ$  ( $c = 0,55$  éthanol) ; spectre U. V. max  $\lambda$   $m\mu$  242 et 320, log  $\epsilon$  respectifs, calculés pour un poids moléculaire de 382 : 4,17 et 4,18.

2° Chlorhydrate : La base précitée (F 193°) est dissoute dans 1 ml de méthanol et salifiée par une quantité juste suffisante d'acide chlorhydrique dilué. Encore diluée par 5 ml d'eau, la solution précédente est décolorée sur charbon actif puis distillée à

sec. Le résidu, cristallisé par du méthanol-éther fournit le chlorhydrate de vincadif-  
fine. F 202°, qui est séché une heure sous vide à 80°.

$C_{22}H_{26}O_4N_2 \cdot HCl$  :

Calculé % : C 63,09 ; H 6,49 ; N 6,68 ; Cl 8,46

Trouvé % : C 61,8 ; H 6,84 ; N 6,64 ; Cl 8,6

3° Réduction par  $KBH_4$  (vincadifflinol) : A 30 mg de vincadifflinol (F 193°) dissous dans  
4 ml de méthanol et V gouttes d'eau, sont ajoutés en trois heures, sous agitation,  
19 mg de  $KBH_4$ . Après douze heures de repos à la température ordinaire, le mélange  
réactionnel est dilué par 25 ml d'eau, privé de méthanol par distillation, et extrait par  
un mélange en parties égales d'éther et de chlorure de méthylène. La couche orga-  
nique est décantée, séchée puis distillée. Le résidu sec obtenu est chromatographié  
sur une couche épaisse de silice (Kieselgel G. MERCK) répartie sur plaque en utilisant  
l'acétate d'éthyle comme solvant d'élution. La bande supérieure située au voisinage  
du front du solvant est isolée par grattage et épuisée à chaud par un mélange chlo-  
rure de méthylène-méthanol (75-25).

Après filtration, le solvant est distillé. Il subsiste un résidu huileux qui apparaît  
pur en chromatographie sur plaque mince ; spectre U. V. max.  $\lambda$  m $\mu$  225, 285 et 293,  
 $\log \epsilon$  respectifs, calculés pour un poids moléculaire de 384 : 4,54 ; 4,01 et 3,92.

(Laboratoire de Pharmacie galénique, Faculté de Pharmacie, Paris.)

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] BARTLETT (M.F.), LAMBERT (B.F.), WERBLOOD (H.M.) et TAYLOR (W.I.). *J. amer. chem. Soc.*, 1963, **85**, p. 475.
- [2] BARTLETT (M.F.), SKLAR (R.), TAYLOR (W.I.), SCHLITTLER (E.), AMAI (R.L.S.), BEAK (P.), BRINGI (N.V.) et WENKERT (E.). *J. amer. chem. Soc.*, 1962, **84**, p. 622.
- [3] DJERASSI (C.), CEREGHETTI (M.), BUDZIKIEWICZ (H.), JANOT (M.-M.), PLAT (M.) et LE MEN (J.). *Helv. chim. Acta*, 1964, **47**, p. 827.
- [4] GOSSET (J.), LE MEN (J.) et JANOT (M.-M.). *Ann. pharm. fr.*, 1962, **20**, p. 448.
- [5] LÉVY (J.), LE MEN (J.) et JANOT (M.-M.). *C.R. Ac. Sc.*, 1961, **252**, p. 131.
- [6] NEUSS (N.). Catalogue des spectres I.R. et U.V. des alcaloïdes indoliques (Eli Lilly and Co). Indianapolis.
- [7] RAPOPORT (H.) et MOORE (R.E.). *J. org. Chem.*, 1962, **27**, p. 2981.