

**ALCALOÏDES DES ANNONACÉES XL+ :
ÉTUDE CHIMIQUE ET PHARMACOLOGIQUE
DES ALCALOÏDES DE L'ANNONA MONTANA MACF.++**

M. LEBŒUF (*), A. CAVÉ (*), P. FORGACS (**), R. TIBERGHEN (**),
J. PROVOST (**), A. TOUCHÉ (***) et H. JACQUEMIN (***)

(*) Laboratoire de Pharmacognosie, E.R.A. 317 C.N.R.S.,
Faculté de Pharmacie, 92290 Châtenay-Malabry.

(**) Centre de Recherches des Laboratoires Roger Bellon,
90, rue Marcel-Bourdarias, 94140 Alfortville.

(***) Centre O.R.S.T.O.M., B.P. 165, Cayenne, Guyane.

RÉSUMÉ

Deux alcaloïdes originaux, l'annonontine et la méthoxyannonontine, ont été isolés des écorces de tiges et de racines de l'*Annona montana* Macf., Annonacées ; ce sont les premiers représentants d'une nouvelle classe d'alcaloïdes, celle des (amino-2'-pyrimidinyl-4')-1-β-carbolines. Plusieurs dérivés ont été préparés, mais le triage pharmacologique des alcaloïdes parents n'a révélé que de faibles propriétés sédatives et anti-amibiennes. Dix autres alcaloïdes ont été identifiés à partir de différents organes de l'*Annona montana* ; ce sont des isoquinoléines appartenant à plusieurs squelettes habituels chez les Annonacées. Les propriétés pharmacologiques décrites pour ces alcaloïdes sont rapportées, ainsi que la répartition des alcaloïdes au sein du genre *Annona*.

SUMMARY

Two new alkaloids, annonontine and methoxyannonontine, have been isolated from the stem and root-barks of *Annona montana* Macf., Annonaceae. They are the first members of the new class of 1-(2'-aminopyrimidin-4'-yl)-β-carboline alkaloids. Synthesis of several derived compounds has been carried out, but pharmacological screening of the parent alkaloids has shown only weak sedative and antiamebic properties. Ten other alkaloids have been identified from diverse parts of *A. montana* ; they are isoquinolines belonging to several skeletons usually encountered in Annonaceous plants. Described pharmacological properties of these alkaloids are reported, and so alkaloidal distribution within genus *Annona*.

Tirés à part : M. LEBŒUF, à l'adresse ci-dessus (*).

+Alcaloïdes des Annonacées XXXIX : structure de la gouregine, alcaloïde original apparenté aux coumarines : M. LEBŒUF, D. CORTES, R. HOCQUEMILLER, A. CAVÉ, A. CHIARONI et C. RICHE, *Tetrahedron*, 1982, **38**, p. 2889.

++Une partie de ce travail a fait l'objet du stage industriel effectué au Laboratoire Roger Bellon par Mme D. DROUIN-SALIN, étudiante de 5^e année option Industrie à la Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry.

Créé par LINNÉ en 1753, le genre *Annona* appartient parmi les Annonacées, à la sous-famille des Annonoïdées, tribu des Unonées, sous-tribu des Annonidées [13]. Ce genre tropical est numériquement l'un des plus importants des Annonacées ; environ 120 espèces sont connues et plusieurs sont cultivées pour leurs fruits comestibles.

Comme la plupart des espèces du genre *Annona*, l'*Annona montana* est originaire d'Amérique tropicale, mais il est largement répandu depuis les Indes occidentales jusqu'au sud du Brésil [12]. L'espèce, *sensu lato*, comporte plusieurs formes assez mal définies qui peuvent difficilement être considérées comme des espèces distinctes. L'*Annona montana* est un arbre glabre de taille moyenne. Les feuilles, de 10 à 20 cm sur 4 à 8 cm, faiblement pétiolées, sont obovales ou elliptiques, glabres, luisantes en dessus, d'abord soyeuses-grisâtres en dessous puis glabrescentes. Les fleurs, solitaires terminales ou oppositifoliées, sont pédicellées, glabres ou strigineuses ; les sépales, de 5 à 6 mm, sont aigus ; les 6 pétales sont répartis sur 2 rangs de 3 ; les pétales extérieurs, 2-3 cm, sont ovales, cordés à la base, non cuspidés ; les pétales intérieurs, plus petits, sont arrondis subonguiculés. Le fruit, charnu, est globuleux ou ovoïde-globuleux, d'un diamètre atteignant jusqu'à 15 cm ; sa surface est hérissée de piquants courts et droits [12, 26].

En Guyane française, d'où provient le matériel végétal utilisé pour la présente étude, on ne trouve l'*Annona montana* que le long de la bande côtière, en bordure de mangrove ; il ne pénètre pas à l'intérieur du territoire. Cet arbre est désigné sous le nom de « Corossolier bâtard » ; la pulpe de son fruit est comestible, mais elle est de qualité inférieure à celle de l'*Annona muricata* (Corossol) et plus encore à celle de l'*Annona squamosa* (Pomme-cannelle, Atte), car elle est sub-acide et un peu âcre [11].

Les Noirs Boni connaissent cette plante sous le nom de « Boucha toukou » ; ils recommandent de boire, le soir, une décoction de feuilles pour « calmer les nerfs et faire dormir ». Les Amérindiens Palikours l'appellent « manigri » ; ils consomment les fruits, mais n'utilisent pas la plante à des fins médicinales.

L'étude de la composition chimique de l'*Annona montana* n'a fait l'objet que d'une seule publication, en 1979 [34]. Au cours de ce travail, YANG et CHEN ont isolé sept alcaloïdes : cinq sont des isoquinoléines : anonaïne, liriodénine, argentinine, athérosperminine, réticuline ; les deux autres n'ont pas été identifiés.

Au cours de recherches systématiques entreprises dans notre Laboratoire sur la composition chimique et l'activité biologique des Annonacées, nous nous sommes intéressés au contenu alcaloïdique de l'*Annona montana*. Notre étude a porté sur les sept parties suivantes de la plante : écorces de tiges, de tronc et de racines, bois de tiges et de racines, feuilles, graines. Le matériel végétal a été récolté à Tonate, en novembre

1978 et novembre 1979 ; des récoltes supplémentaires d'écorces de tiges ont été pratiquées en juin 1980 et en avril 1981.

ALCALOÏDES DE L'*ANNONA MONTANA*

Les alcaloïdes totaux de chaque organe ont été extraits selon un procédé classique ; les rendements, exprimés en g d'alcaloïdes totaux par kg de drogue sèche, sont les suivants :

- écorces de tiges : 2,1
- écorces de tronc : 1,8
- écorces de racines : 3,8
- bois de tiges : 0,35
- bois de racines : 0,60
- feuilles : 0,35
- graines : présence douteuse ($\leq 0,1$).

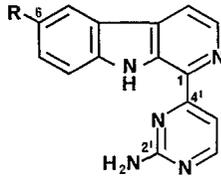
— ALCALOÏDES DES ÉCORCES DE TIGES

Les différents alcaloïdes extraits à partir des écorces de tiges ont été séparés par plusieurs chromatographies sur colonne de silice et d'alumine, puis purifiés éventuellement par CCM préparative et, chaque fois que cela a été possible, par cristallisation.

Deux alcaloïdes originaux ont été ainsi isolés et ont été nommés annomontine et méthoxyannomontine. L'annomontine 1 représente environ 30 % des alcaloïdes totaux des écorces de tiges et la méthoxyannomontine 2 environ 8 %. Ces alcaloïdes se présentent sous forme de cristaux jaunes ou jaune-orangé, très légèrement solubles dans les solvants chlorés, l'acétate d'éthyle et l'éthanol, légèrement solubles dans le méthanol ou dans des mélanges méthanol-dichlorométhane, bien solubles dans le diméthylsulfoxyde. Optiquement inactifs, ils sont dibasiques et donnent chacun un dichlorhydrate.

La structure de 1 et de 2, déduite de l'analyse de leurs données spectrales (^1H et ^{13}C RMN, SM) a été confirmée par diffraction des rayons X sur un monocristal de méthoxyannomontine ; ces structures ont été rapportées dans une publication préliminaire parue récemment [24]. L'annomontine 1 est constituée de l'union d'une unité harmane et d'une unité amino-2 pyrimidine, la liaison entre les deux parties se faisant par l'intermédiaire du C-1 de la première et du C-4 de la seconde ; dans le cas de la méthoxyannomontine 2, l'harmane est substitué en 6 par un méthoxyle aromatique. L'annomontine et la méthoxyannomontine sont donc les premiers représentants d'une nouvelle classe d'alcaloïdes, celle des (amino-2'-pyrimidinyl-4')-1- β carbolines.

Alcaloïdes de l'*Annona montana*



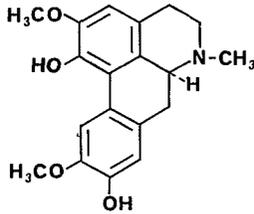
1 : R = H : Annonomontine

2 : R = OCH₃ : Méthoxyannonomontine

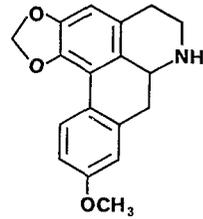


3 : R₁R₂ = -CH₂- : Anonaïne

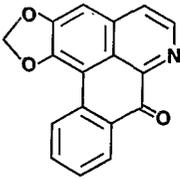
4 : R₁ = CH₃; R₂ = H : Asimilobine



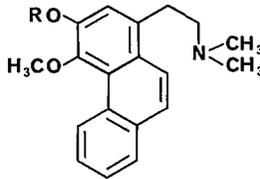
5 : Isoboldine



6 : Xylopine

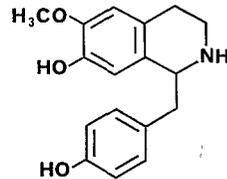


7 : Liriodénine

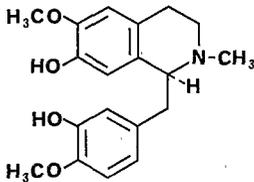


8 : R = H : Argentinine

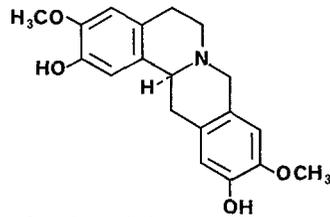
9 : R = CH₃ : Athérosperminine



10 : Coclaurine



11 : Réticuline



12 : Coreximine

Dix autres alcaloïdes ont été identifiés dans les écorces de tiges de l'*Annona montana*. Tous sont déjà connus ; ce sont des isoquinoléines rattachées à plusieurs types structuraux habituellement rencontrés chez les Annonacées [25].

Huit d'entre eux ont été isolés à l'état pur ; ils ont été identifiés par examen de leurs différents spectres [30], par comparaison de leurs cons-

tantes physiques et de leurs données spectrales à celles précédemment décrites [15, 22] et par comparaison directe avec des témoins. Ce sont :

- trois aporphines : l'anonaïne 3, l'asimilobine 4 et l'isoboldine 5 ;
- une oxoaporphine : la liriodénine 7 ;
- deux aporphines ouvertes, dérivées de l'aminoéthylphénanthrène : l'argentinine 8 et l'athérosperminine 9 ;
- une benzyltétrahydroisoquinoléine, la réticuline 11 ;
- une tétrahydroberbérine, la coreximine 12.

Les pourcentages de ces alcaloïdes sont indiqués dans le tableau I ; l'alcaloïde principal est, de très loin, la réticuline, qui représente environ 40 % des alcaloïdes totaux des écorces de tiges.

TABLEAU I
Alcaloïdes de l'Annona montana (*)

Alcaloïdes	Partie de la plante					
	Ecorces de tiges	Ecorces de tronc	Ecorces de racines	Bois de tiges	Bois de racines	Feuilles
<i>Alcaloïdes non isoquinoléiques :</i>						
Annomontine 1	30	24	4	—	0,4	—
Méthoxyannomontine 2 ...	8	3	36	—	0,4	—
<i>Aporphines :</i>						
Anonaïne 3	5	++	++	+	+	+
Asimilobine 4	4	++	+++	+++	+++	++
Isoboldine 5	0,2	+	+	+	+	+
Xylopine 6	0,1	+	+	+	+	+
<i>Oxoaporphine :</i>						
Liriodénine 7	0,4	+	+	++	++	—
<i>Aporphines ouvertes :</i>						
Argentinine 8	2	+	+	+	+	+++
Athérosperminine 9	5	++	+	+	+	+
<i>Benzyltétrahydroisoquinoléines :</i>						
Coclaurine 10	0,1	+	+	?	?	+
Réticuline 11	40	+++	+++	+	+	++
<i>Tétrahydroberbérine :</i>						
Coreximine 12	3	+	+	+	+	—

(*) Les nombres indiquent des pourcentages par rapport aux alcaloïdes totaux ; les signes +, ++, +++, indiquent des teneurs relatives respectivement faibles (< 3 %), moyennes (3 à 10 %), élevées (> 10 %), évaluées d'après la CCM des alcaloïdes totaux.

Deux autres bases isoquinoléiques n'existant qu'en très faible quantité n'ont pas pu être isolées. Elles ont été identifiées par CCM par rapport à des témoins des alcaloïdes présumés, dans deux systèmes chromatographiques différents de solvants. Il s'agit d'une aporphine, la xylopine 6, et d'une benzyltétrahydroisoquinoléine, la coclaurine 10.

— ALCALOÏDES DES AUTRES ORGANES

Compte tenu de leur originalité, l'annomontine 1 et la méthoxyannomontine 2 ont été systématiquement recherchées dans les autres organes de l'*Annona montana* et extraites lorsqu'elles étaient présentes.

La lecture du tableau I indique que les alcaloïdes 1 et 2 sont absents dans le bois de tiges, les feuilles et les graines, et présents en très faible quantité dans le bois de racines. Leur teneur est plus faible dans les écorces de tronc que dans les écorces de tiges. Mais le fait le plus intéressant provient de la comparaison entre les écorces de tiges et les écorces de racines : la teneur globale en 1 et 2 est à peu près identique ; mais les teneurs respectives sont totalement inversées, l'annomontine 1 dominant largement dans les écorces de tiges et la méthoxyannomontine 2 dans les écorces de racines. La constatation de ce fait nous a grandement facilité l'obtention de quantités plus importantes de chacun de ces alcaloïdes à l'état pur, compte tenu des difficultés de séparation de 1 et de 2 lorsqu'ils se trouvent mélangés en quantités à peu près égales.

Quant aux alcaloïdes isoquinoléiques présents dans les divers organes, ils figurent dans le tableau I. Ils ont été identifiés par CCM dans deux types de solvants, par rapport à des témoins et par comparaison au contenu alcaloïdique des écorces de tiges. Leurs teneurs respectives ont été appréciées de façon approximative en fonction de l'importance des taches chromatographiques et sont exprimées dans le tableau I par des croix. Les remarques suivantes peuvent être formulées, en prenant comme référence le contenu en bases isoquinoléiques des écorces de tiges :

— écorces de tronc : composition qualitativement et quantitativement identique ;

— écorces de racines : composition qualitative identique, mais proportionnellement davantage d'asimilobine ;

— bois de tiges : composition qualitative identique, mais l'alcaloïde majoritaire est l'asimilobine, et la liriodénine existe en quantité notable ; par contre il y a peu de réticuline ;

— bois de racines : qualitativement et quantitativement identique au bois de tiges ;

— feuilles : composition qualitative voisine, mais l'alcaloïde principal est l'argentinine et il y a peu de réticuline ;

— graines : aucun alcaloïde n'a pu être identifié ; il n'est même pas certain que le très faible résidu obtenu lors de l'extraction ($\approx 0,01\%$) soit réellement alcaloïdique.

DISCUSSION

L'examen des résultats rapportés ci-avant montre qu'il existe des différences notables, soit qualitatives, soit quantitatives, du contenu alcaloïdique entre les divers organes de l'*Annona montana* ; seules sont à peu près identiques les compositions des écorces de tiges et de tronc, ce qui n'est pas surprenant. Par ailleurs, nous n'avons pas noté de différence significative entre les trois échantillons d'écorces de tiges récoltés à des époques différentes.

De toute évidence, l'originalité de l'*Annona montana* réside dans la présence de l'annomontine 1 et de la méthoxyannomontine 2. Ce nouveau type d'alcaloïdes est intéressant tout à la fois d'un point de vue structural et biogénétique, puisque 1 et 2 sont les deux seuls exemples connus d'alcaloïdes dans lesquels une unité de type harmane est liée à une amino-2 pyrimidine. De plus, il doit être noté que ces structures sont tout à fait inattendues pour des composés isolés à partir d'une Annonacée, puisque les alcaloïdes des Annonacées, et de façon plus large ceux des Magnoliales, sont à de très rares exceptions près de type isoquinoléique [25]. A cet égard, il sera très intéressant de voir si des composés identiques ou voisins sont présents chez d'autres *Annona*, ou chez d'autres genres d'Annonacées, ou encore chez d'autres familles rattachées aux Magnoliales ou à des ordres étroitement apparentés tels que Laurales, Pipérales et Aristolochiales.

Les alcaloïdes isoquinoléiques présents chez *Annona montana* sont, quant à eux, parfaitement classiques chez une Annonacée et plus particulièrement chez un *Annona*. Il a paru intéressant de rassembler, dans le tableau II, l'ensemble des alcaloïdes isolés à partir des dix espèces d'*Annona* étudiées jusqu'à maintenant. Même si certaines de ces études sont encore fragmentaires, on constate la variété structurale des alcaloïdes isoquinoléiques cités, représentant différents stades de l'évolution biogénétique ; mais il est significatif de noter que les trois isoquinoléines les plus représentatives des *Annona* sont la réticuline, l'anonaïne et la liriodénine, la première étant souvent l'alcaloïde majoritaire.

Si l'on compare nos résultats à ceux de YANG et de CHEN [34], on constate que globalement ils les confirment et les complètent. En effet, nous avons retrouvé les 5 alcaloïdes isoquinoléiques isolés par eux à partir des écorces de tiges ou des feuilles. Il existe cependant quelques divergences d'ordre quantitatif : en particulier, l'alcaloïde principal des écor-

TABLEAU II
Alcaloïdes isolés à partir de diverses espèces du genre *Annona*

	<i>A. acuminata</i> [3]	<i>A. cherimolia</i> [25]	<i>A. crassiflora</i> [16]	<i>A. cristalensis</i> [10]	<i>A. glabra</i> [25]	<i>A. montana</i> [24, 34]*	<i>A. muricata</i> [25]	<i>A. purpurea</i> [25]	<i>A. reticulata</i> [25]	<i>A. squamosa</i> [25]
<i>Phényléthylamines et isoquinoléines</i>										
<i>simples</i>										
Dopamine									+	
Solsalinal									+	
<i>Benzyltétrahydroisoquinoléines</i>										
Anomuricine							+			
Anomurine							+			
Coclaurine				+		+	+		+	
Higénamine										+
O-méthyl armépavine										+
Réticuline	+	+			+	+	+		+	+
<i>Tétrahydroberbéines</i>										
Coreximine						+	+			
<i>Proaporphines</i>										
Glaziovine								+		
Stéphanine							+	+		
<i>Aporphines</i>										
Anolobine					+					+
Anonaïne	+	+			+	+			+	+
Asimilobine		+			+	+				+
Corydine										+
Glaucine										+
Isoboldine					+	+				
Isocorydine								+		+
N-méthyl actinodaphnine					+					
Norcorydine										+
Norisocorydine										+
Nornuciférine					+					
Norpurpuréine								+		
O-déméthyl purpuréine								+		
Purpuréine								+		
Roémérine					+					+
Xylopine						+				+
<i>Hydroxy-7 aporphines</i>										
Norushinsunine		+			+				+	+
<i>Oxoaporphines</i>										
Lanuginosine										+
Liriodénine	+	+	+	+	+	+			+	+
Lysicamine	+									
O-méthyl moschatoline	+									
Oxoglaucine								+		
Oxopurpuréine								+		
<i>Phénanthrènes</i>										
Argentinine						+				
Athérosperminine						+	+			
<i>Alcaloïdes non isoquinoléiques</i>										
Annomontine						+				
Méthoxyannomontine						+				
Caféine (?)		+	(?)							

* : présent travail.

ces de tiges est pour eux l'athérosperminine, alors que pour nous c'est la réticuline (40 % des alcaloïdes totaux).

Enfin, deux autres remarques peuvent être formulées.

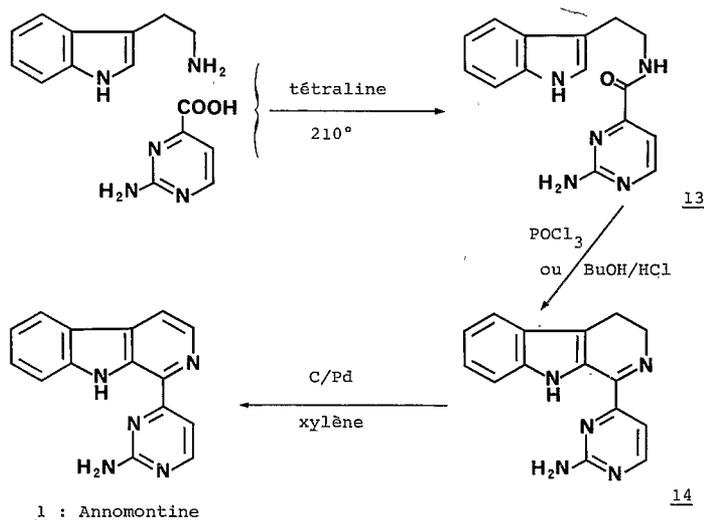
Disposant de bois de tiges et de racines, organes dont on sait qu'ils renferment chez certaines espèces préférentiellement des N-acétyl nora-porphines [18], nous y avons recherché ce type d'alcaloïdes ; il semble absent de l'*Annona montana*.

Nous avons également recherché, dans les différents organes de l'*Annona montana*, la présence du polycarpol, triterpène qui semble jusqu'ici n'exister que chez des Annonacées [25] ; il ne nous a pas été possible de le mettre en évidence ici.

ESSAI DE SYNTHÈSE DE L'ANNOMONTINE ET PRÉPARATION DE DÉRIVÉS DE LA MÉTHOXYANNOMONTINE

En raison de l'originalité de l'annomontine, et pour disposer de quantités plus importantes en vue de son étude pharmacologique, nous avons tenté de la préparer par synthèse à partir de la tryptamine selon la séquence réactionnelle suivante indiquée dans le schéma :

- condensation de la tryptamine avec l'amino-2 carboxy-4 pyrimidine ou son chlorure d'acide ;
- cyclisation de l'amide *13* en dihydro-3,4 annomontine *14* ;
- aromatisation de *14* conduisant à l'annomontine *1*.

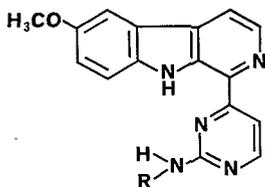


Il n'a pas été possible de préparer le chlorure d'acide de l'amino-2 carboxy-4 pyrimidine par la technique classique utilisant le chlorure de thionyle ou d'oxalyle. La tryptamine a donc été condensée directement avec l'amino-2 carboxy-4 pyrimidine, obtenue par oxydation permanganique de l'amino-2 méthyl-4 pyrimidine [29] ; il se forme ainsi un produit blanc, insoluble dans l'éthanol, F 195 °C, dont l'analyse centésimale et le spectre IR sont en accord avec l'amide attendu 13 ; toutefois, le rendement de la réaction n'est que de 5 à 6 % et l'on retrouve en fin de réaction une grande quantité de l'acide intact, ce qui peut s'expliquer par sa faible réactivité.

Le stade suivant de la synthèse s'est soldé par un échec : les essais de cyclisation de l'amide 13 n'ont jamais conduit au produit cherché 14, ni par chauffage dans le butanol chlorhydrique où aucune réaction n'est observée, ni à l'aide d'oxychlorure de phosphore dans le benzène à reflux où de nombreux produits de dégradation se forment. Il ne nous a donc pas, pour l'instant, été possible de préparer l'annomontine par synthèse.

Disposant de quantités plus importantes de méthoxyannomontine 2, nous en avons préparé quatre dérivés en vue de l'étude pharmacologique :

- la N-acétyl méthoxyannomontine 15 ;
- la N-éthyl méthoxyannomontine 16 ;
- la N-chloracétyl méthoxyannomontine 17 ;
- le benzyluréthane de la méthoxyannomontine 18.



- 15 : R = CO-CH₃
- 16 : R = CH₂-CH₃
- 17 : R = CO-CH₂Cl
- 18 : R = CO-O-CH₂-C₆H₅

Ces dérivés ont été préparés par des méthodes usuelles décrites dans la partie expérimentale. Il est à remarquer que seuls les dérivés 15 et 18 ont été obtenus avec un bon rendement, tandis que 16 et 17 n'ont été obtenus qu'avec des rendements de respectivement 11,5 % et 10 %.

ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DES ALCALOÏDES DE L'ANNONA MONTANA

Les alcaloïdes totaux isolés à partir des feuilles de l'*Annona montana* ont été soumis à un triage pharmacologique ; celui-ci n'a mis en évi-

dence qu'une faible activité analgésique (Souris ; 200 mg/kg per os), ainsi que des actions inotrope et chronotrope positives (à partir de 1.10^{-5}).

Mais ce sont évidemment les résultats pharmacologiques concernant l'annomontine et la méthoxy-annomontine qui étaient attendus avec le plus d'impatience. Au cours des essais pharmacologiques, les deux alcaloïdes ont été utilisés sous forme de chlorhydrates. La toxicité aiguë de 1 et de 2 a été déterminée chez la Souris par voie I.V. et par voie orale. Compte tenu de la faible solubilité des chlorhydrates et du petit nombre d'animaux utilisés, les doses létales 50 (DL 50), exprimées en mg/kg, n'ont pas pu être déterminées avec précision :

	Voie I.V.	Voie orale
annomontine	inconstante	DL 50 > 1000
méthoxyannomontine	30 < DL 50 < 100	DL 50 > 1000

Les tests pratiqués montrent que les deux alcaloïdes présentent globalement le même profil pharmacologique. Sur le SNC, ce sont des sédatifs non spécifiques, non hypnotiques, non neuroleptiques, entraînant une diminution de la motilité spontanée d'environ 50 % dès 25 mg/kg per os ; ils exercent une action anticonvulsivante modérée (antagonisme vis-à-vis de la strychnine et du cardiazol) ne pouvant pas déboucher sur une activité anxiolytique. L'annomontine est très modestement analgésique et anti-inflammatoire (100 mg/kg per os), tandis que la méthoxyannomontine est légèrement spasmolytique vis-à-vis de l'acétylcholine (CE 50 = 10^{-5}) et de l'histamine (CE 50 = $2,5.10^{-6}$). Aucun effet n'a été noté sur le système cardiovasculaire, ni sur la diurèse.

Par ailleurs, l'annomontine et la méthoxyannomontine ne présentent d'activité ni antibactérienne, ni antituberculeuse, ni antifongique ; seule a été décelée une modeste activité antiamibienne, la concentration minimale inhibitrice étant de 50 µg/ml, tandis que celle de la substance de référence (métronidazole) est de 6,25 µg/ml. Enfin aucun des deux produits ne présente d'action cytotoxique *in vitro*.

Force a donc été de constater que, si l'annomontine et la méthoxyannomontine présentent un indéniable intérêt structural, biogénétique et peut-être chimiotaxonomique, leurs propriétés pharmacologiques très décevantes ne se prêtent à aucun développement thérapeutique. Dans ces conditions, l'étude pharmacologique des quatre dérivés de la méthoxyannomontine n'a pas été entreprise, et ce d'autant plus que leur très grande insolubilité constitue une difficulté majeure.

Enfin les alcaloïdes isoquinoléiques isolés de *Annona montana* n'ont pas non plus été soumis à une étude pharmacologique, puisque leurs propriétés biologiques sont dans l'ensemble déjà connues. Il nous a cependant paru utile de les rappeler ici, en fonction des données bibliographiques disponibles :

- Anonaïne : activités hypotensive [8, 28], antibactérienne [5, 35], cytotoxique [35], inhibitrice de la dopamine-adénylate-cyclase [31].
- Assimilobine : pas d'activité signalée.
- Isoboldine : inhibition de la dopamine-adénylate-cyclase [31].
- Liriodénine : activités sédative [4], analgésique [4], antibactérienne [5, 9, 17, 19, 20], antifongique [19, 20], cytotoxique [3, 7, 14, 32].
- Argentinine : pas d'activité signalée.
- Athérosperminine : activité sédative [2].
- Réticuline : provoque un blocage des récepteurs dopaminergiques [1, 33] ; activités stimulante du SNC, provoquant convulsions et hyperthermie [6], analgésique [6], spasmolytique [27] ; propriétés antibactériennes [5].
- Coreximine : action antihypertensive [23] et stimulant respiratoire [21].

PARTIE EXPÉRIMENTALE

— ISOLEMENT DES ALCALOÏDES DE L'ANNONA MONTANA.

Le matériel végétal utilisé au cours de ce travail a été récolté en Guyane française à Tonate en novembre 1978, novembre 1979, juin 1980 et avril 1981. Des échantillons sont conservés dans l'herbier du Museum National d'Histoire Naturelle de Paris sous les références HJ 2258 et HJ 2500.

Pour chaque organe, les alcaloïdes sont extraits de la façon suivante. La drogue broyée est triturée pendant 30 min avec une solution aqueuse saturée de Na_2CO_3 , puis placée dans un percolateur en acier inoxydable et lixiviée par du CHCl_3 jusqu'à réaction de Mayer négative. Le lixiviat est concentré sous pression réduite, puis épuisé par H_2SO_4 1N. L'extrait aqueux acide est alcalinisé à pH 9,5 par une solution de Na_2CO_3 en présence de CHCl_3 et les bases sont extraites par agitations répétées avec ce solvant. Les phases chloroformiques réunies sont lavées à l'eau distillée, séchées sur Na_2SO_4 anhydre et évaporées à sec sous pression réduite ; on obtient ainsi les alcaloïdes totaux (A.T.).

Les A.T. provenant des écorces de tiges ou de tronc, repris par CH_2Cl_2 , laissent cristalliser l'annomontine 1 qui est purifiée par cristallisations répétées dans EtOH ou dans CH_2Cl_2 . De même, les A.T. des écorces de racines livrent par cristallisation (CH_2Cl_2 -MeOH ; 2 : 1 v/v) la méthoxyannomontine 2, purifiée ensuite par recristallisations dans l'EtOH. La pureté de 1 et de 2 a été vérifiée par CLHP en phase inverse dans les conditions suivantes : chromatographe Varian 8520 ; colonne de

20 cm de long et de 4,8 mm de diamètre interne, emplie de Lichrosorb RP 18 (granulométrie 10 μm) ; la phase éluante (débit 2 ml/min) est constituée par un mélange de 2 solvants provenant de 2 pompes A et B (solvant A : solution aqueuse de $(\text{NH}_4)_2 \text{CO}_3$ à 0,1 % p/v ; solvant B : constitué par une solution à 0,1 % de $(\text{NH}_4)_2 \text{CO}_3$ dans un mélange eau-acétonitrile 3 : 7 v/v) ; la détection est réalisée dans l'ultraviolet à 254 nm ; la résolution de 1 et de 2 est bonne en utilisant comme solvant un mélange à pH 9 (NH_4OH) correspondant à 40 % du solvant A et 60 % du solvant B.

Les données spectrales (IR, UV, ^1H et ^{13}C RMN, SM) de l'annomontine 1 ($\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{N}_5 = 261,10$; F 247-248°) et de la méthoxyannomontine 2 ($\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O} = 291,11$; F 223°, CH_2Cl_2 , ou 229-230°, EtOH) ont été précédemment rapportées [24].

Les solutions-mères, après cristallisation de 1 et de 2, sont ensuite chromatographiées, d'abord sur colonne d'alumine, puis sur colonne de gel de Silice (Kieselgel H Merck pour CCM en suspension dans CHCl_3). L'éluion est réalisée par CH_2Cl_2 , puis CHCl_3 , enfin par CHCl_3 renfermant des quantités croissantes de MeOH. La séparation des alcaloïdes est suivie par CCM sur plaques de gel de Silice Merck F 254 ; deux systèmes de solvants sont utilisés : hexane- CHCl_3 -MeOH- NH_4OH 45 : 45 : 10 : 1 v/v d'une part, CHCl_3 -MeOH- NH_4OH 90 : 10 : 1 v/v d'autre part ; la révélation se fait par exposition aux vapeurs d'iode ou par pulvérisation de réactif de Dragendorff.

Les alcaloïdes élués sont ensuite purifiés, par cristallisation lorsque c'est possible, soit à l'état de bases, soit à l'état de sels. On obtient ainsi, par ordre croissant de polarité : l'anonaïne 3, l'athérosperminine 9, l'asimilobine 4, la liriodénine 7, l'argentinine 8, l'isoboldine 5, la réticuline 11 et la coreximine 12. Tous ces alcaloïdes ont déjà été décrits à plusieurs reprises [15, 22]. Enfin, la xylopine 6 et la coclaurine 10 sont identifiées par CCM par rapport à des témoins.

— ESSAI DE SYNTHÈSE DE L'ANNOMONTINE 1.

L' amino-2 carboxy-4 pyrimidine est obtenue par oxydation de l' amino-2 méthyl-4 pyrimidine, par KMnO_4 en solution aqueuse à 100°, selon [29] (rdt : 23 %).

0,480 g ($3 \cdot 10^{-3}$ mol) de tryptamine et 0,417 g ($3 \cdot 10^{-3}$ mol) d' amino-2 carboxy-4 pyrimidine sont chauffés dans la tétraline 1 h à 210°. La plus grande partie de la tétraline est chassée sous vide et on reprend par CHCl_3 ; un insoluble (acide n'ayant pas réagi) est éliminé par filtration. La solution chloroformique est concentrée et on reprend par EtOH ; l'amide 13 précipite et est recueilli (50 mg ; rdt : 5,9 %) ; $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O} = 281,31$; F 195° ; IR : bande amide à 1 640 cm^{-1} .

Le traitement de *13* par POCl_3 dans C_6H_6 à reflux, pendant des temps variables, ne conduit pas à la dihydroannomontine *14* ; plusieurs produits de dégradation sont décelés par CCM. Un essai de cyclisation de *13*, par BuOH/HCl 4 h à 70° , est également infructueux ; dans ce cas aucune réaction ne se produit.

— PRÉPARATION DE DÉRIVÉS DE LA MÉTHOXYANMONTINE 2.

N-acétyl méthoxyannomontine *15* : Elle a été obtenue par acétylation de *2* (Ac_2O , pyridine anhydre) ; cristallisant au sein de la pyridine (rdt : 95 %), elle est purifiée par recristallisation dans l'éthanol : $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_2 = 333,34$; F $291-292^\circ$. Ses données spectrales ont été précédemment indiquées [24].

N-éthyl méthoxyannomontine *16* : A 500 mg ($1,5 \cdot 10^{-3}$ mol) de *15* dissous à chaud dans 100 ml de THF anhydre, on ajoute progressivement 500 mg de LiAlH_4 et on porte à reflux pendant 7 h. Après refroidissement, on ajoute 1 ml de lessive de soude diluée au 1/2 et on porte de nouveau à reflux 2 h. Le milieu réactionnel, évaporé sous pression réduite, est repris par CHCl_3 et chromatographié sur colonne de silice Merck H 60 (3 g). La fraction éluee par AcOEt contient la N-éthyl méthoxyannomontine *16* qui est purifiée par cristallisation dans AcOEt : 55 mg (rdt : 11,5 %) ; $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O} = 319,36$; F 230° ; IR (KBr) : bandes à 3 390, 3 250, 2 820 cm^{-1} ; UV (EtOH) : 228 nm ($\log \epsilon$ 4,57), 255 (ép., 4,29), 310 (4,24), 400 (3,97) ; UV (EtOH, HCl 0,1 N) : 228 (4,62), 327 (4,33), 360 (ép., 4,17), 445 (3,36).

N-chloracétyl méthoxyannomontine *17* : 2 g ($6,9 \cdot 10^{-3}$ mol) de *2* sont traités 3 h à reflux sous agitation dans 200 ml de CHCl_3 , par 10 ml de chlorure de chloracétyle en présence de 10 ml de triéthylamine. Après refroidissement et alcalinisation par NaOH , la phase chloroformique est décantée, lavée à l'eau et séchée sur Na_2SO_4 , puis chromatographiée sur 15 g de silice Merck H 60. La fraction éluee par AcOEt livre, après cristallisation dans ce solvant, 0,25 g (rdt : 10 %) de N-chloracétyl méthoxyannomontine *17* : $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_2\text{Cl} = 367,79$; F 235° (décomp.) ; IR (KBr) : bande amide à 1 710 cm^{-1} ; UV (EtOH) : 225 nm ($\log \epsilon$ 4,54), 240 (ép., 4,30), 322 (4,19), 410 (3,81) ; UV (EtOH, HCl 0,1 N) : 250 (4,44), 325 (ép., 4,03), 342 (4,05), 450 (3,00).

Benzyluréthane de la méthoxyannomontine *18* : A une solution de 0,20 g ($6,9 \cdot 10^{-4}$ mol) de *2* dans 25 ml de CHCl_3 , on ajoute 0,4 ml de chloroformiate de benzyle et porte à reflux 3 h. Après refroidissement et alcalinisation par NaOH , le benzyluréthane *18* précipite ; il est recueilli par filtration, lavé par CHCl_3 , puis par H_2O et séché : 0,29 g (rdt : 98 %) ; $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_3 = 425,43$; F 280° (décomp.) ; IR (KBr) : bande

carbamate à $1\ 740\ \text{cm}^{-1}$; UV (EtOH) : 225 nm ($\log \epsilon$ 4,63), 325 (4,25), 410 (3,84).

L'analyse centésimale de tous les composés préparés a donné des résultats satisfaisants conformes à la théorie.

REMERCIEMENTS

Les auteurs expriment leur vive gratitude à MM. G. BUFFARD, A. JEHANNO et J. N. BODIN, pour leur collaboration technique, ainsi qu'à Mme V. ANTOINE et à ses collaboratrices documentalistes, pour la recherche bibliographique informatisée.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BANNING (J. W.), URETSKY (N. J.), PATIL (P. N.) et BEAL (J. L.). — *Life Sci.*, 1980, **26**, p. 2083.
- [2] BHATTACHARYA (S. K.), BOSE (R.), GHOSH (P.), TRIPATHI (V. J.), RAY (A. B.) et DASGUPTA (S.). — *Psychopharmacology* (Berlin), 1978, **59**, p. 29.
- [3] BORUP-GROCHTMANN (I.) et KINGSTON (D. G. I.). — *J. Nat. Prod.*, 1982, **45**, p. 102.
- [4] CASAGRANDE (C.) et MEROTTI (G.). — *Farmaco Ed. Sci.*, 1970, **25**, p. 799.
- [5] CHEN (C. R.), BEAL (J. L.), DOSKOTCH (R. W.), MITSCHER (L. A.) et SVOBODA (G. H.). — *Lloydia*, 1974, **37**, p. 493.
- [6] DASGUPTA (S.), RAY (A. B.), BHATTACHARYA (S. K.) et BOSE (R.). — *J. Nat. Prod.*, 1979, **42**, p. 399.
- [7] DOSKOTCH (R. W.) et EL-FERALY (F. S.). — *J. Pharm. Sci.*, 1969, **58**, p. 877.
- [8] FAKHRUTDINOV (S. F.) et SULTANOV (M. B.). — *Farmakol. Alkaloidov Serdech. Glikozidov*, 1971, p. 207.
- [9] FAKHRUTDINOV (S. F.) et SULTANOV (M. B.). — *Farmakol. Alkaloidov Ikh Proizvod.*, 1972, p. 118.
- [10] FAUST (J.), PREISS (A.), RIPPERGER (H.), SANDOVAL (D.) et SCHREIBER (K.). — *Pharmazie*, 1981, **36**, p. 713.
- [11] FOUQUÉ (A.). — *Espèces fruitières d'Amérique tropicale*. Editions I.F.A.C., Paris, 1975.
- [12] FRIES (R. E.). — *Flora of Suriname*, éd. PULLE (A.), Amsterdam, 1940, Vol. II, part 2, p. 374.
- [13] FRIES (R. E.). — *Annonaceae*, in *Die Natürlichen Pflanzenfamilien* de A. Engler et K. Prantl, Duncker et Humblot, Berlin, 1959, Vol. 17 a II.
- [14] FURMANOVA (M.) et JOZEFOWICZ (J.). — *Acta Soc. Bot. Pol.*, 1980, **49**, p. 527.
- [15] GUINAUDEAU (H.), LEBOEUF (M.) et CAVÉ (A.). — *Lloydia*, 1975, **38**, p. 275 ; *J. Nat. Prod.*, 1979, **42**, p. 325 (et références citées).
- [16] HOCQUEMILLER (R.), CAVÉ (A.), JACQUEMIN (H.), TOUCHÉ (A.) et FORGACS (P.). — *Pl. méd. Phytoth.*, 1982, **16**, p. 4.
- [17] HUFFORD (C. D.), FUNDERBURK (M. J.), MORGAN (J. M.) et ROBERTSON (L. W.). — *J. Pharm. Sci.*, 1975, **64**, p. 789.
- [18] HUFFORD (C. D.). — *Phytochemistry*, 1976, **15**, p. 1169.
- [19] HUFFORD (C. D.), SHARMA (A. S.) et OGUNTIMAIN (B. O.). — *J. Pharm. Sci.*, 1980, **69**, p. 1180.
- [20] HUFFORD (C. D.). — Brevets U.S. 4.093.717 et 4.188.392.
- [21] JIAO-CHENG (H.). — Yao Hsueh Hsueh Pao, 1979, **14**, p. 333.
- [22] KAMETANI (T.). — *The Chemistry of the Isoquinoline Alkaloids* ; Vol. 1, Hirokawa-Elsevier, 1969 ; Vol. 2, Kinkodo, 1974 (et références citées).
- [23] KAMETANI (T.). — Brevet Jap. 75.129.600.

- [24] LEBOEUF (M.), CAVÉ (A.), FÖRGACS (P.), PROVOST (J.), CHIARONI (A.) et RICHE (C.). — *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1*, 1982, p. 1205.
- [25] LEBOEUF (M.), CAVÉ (A.), BHAUMIK (P. K.), MUKHERJEE (B.) et MUKHERJEE (R.). — *Phytochemistry*, 1982, **21**, p. 2783 (et références citées).
- [26] LEMÉE (A.). — Flore de la Guyane française, Lechevalier, Paris, 1955, tome 1, p. 614.
- [27] MANANDHAR (M. D.), SHOEB (A.), KAPIL (R. S.) et POPLI (S. P.). — *Indian J. Chem., Sect. B.*, 1979, **17**, p. 411.
- [28] SCHNEIDER (F.), GEROLD (M.) et BERNAUER (K.). — *Helv. Chim. Acta*, 1973, **56**, p. 759.
- [29] SCHUETTE (H. R.) et WOLTERS DORF (W.). — *Liebigs Ann. Chem.*, 1965, **684**, p. 209.
- [30] a) SHAMMA (M.). — The Isoquinoline Alkaloids, Academic Press-Verlag Chemie, 1972.
b) SHAMMA (M.) et MONIOT (J. L.). — Isoquinoline Alkaloids Research 1972-1977, Plenum Press, 1978.
- [31] SHEPPARD (H.) et BRUCHARDT (C. R.). — *Biochem. Pharmacol.*, 1978, **27**, p. 1113.
- [32] WARTHEN (D.), GOODEN (E. L.) et JACOBSON (M.). — *J. Pharm. Sci.*, 1969, **58**, p. 637.
- [33] WATANABE (H.), IKEDA (M.), WATANABE (K.) et KIKUCHI (T.). — *Planta Med.*, 1981, **42**, p. 213.
- [34] YANG (T. S.) et CHEN (C. R.). — *Proc. Natl. Sci. Council (Taipei)*, 1979, **3**, p. 63.
- [35] YEI-FEN-LIN, KUEI-HSIANG et LU-SHENG-TEH. — *Yao Hsueh Tsa Chih*, 1979, **31**, p. 28.