

13 JUL. 1971

Plantes médicinales et phytothérapie
1971, Tome V, n° 1, p. 16-24.

CHIMIOTAXINOMIE DES ANCISTROCLADACÉES

I. Sur les alcaloïdes de l'*Ancistrocladus ealaensis* J. Léonard

par J.-P. FOUCHER, J.-L. POUSSET, A. CAVÉ, A. BOUQUET et R. PARIS (*)
(Laboratoire de Matière médicale, Faculté de Pharmacie, Paris VI)

Dans le cadre de recherches entreprises au Centre O. R. S. T. O. M. du Congo-Brazzaville, nous avons été amenés à étudier l'*Ancistrocladus ealaensis* J. Léonard, dont les écorces de tiges et de racines ont été récoltées par l'un des nous (A. B.) qui, lors d'essais préliminaires, y avait caractérisé des alcaloïdes.

A. — ETUDE BOTANIQUE

Ce sont G. PLANCHON et A. de CANDOLLE qui les premiers regardèrent les Ancistrocladacées comme une famille nouvelle.

Cette petite famille ne comprend qu'un seul genre : *Ancistrocladus* ; elle est représentée actuellement par 15 espèces asiatiques et 9 espèces africaines, dont 3 au Congo ex-belge. Ce genre fut décrit pour la première fois par WALLICH en 1829. Son port et ses crochets lui donnèrent le nom = ακριστόγον ^{anbristron} (agkistron) = crochet et κλαδος (clados) = rameau.

Les espèces africaines se présentent sous forme de lianes héliophiles possédant des crochets circinés. Elles sont assez rares et localisées dans les forêts marécageuses et sur les rives périodiquement inondées.

Les espèces congolaises sont :

Ancistrocladus ealaensis J. Léonard.

Ancistrocladus congolensis J. Léonard.

Ancistrocladus likoko J. Léonard.

DESCRIPTION D'*Ancistrocladus ealaensis* J. Léonard (4).

Il s'agit d'une liane de 10 à 12 m de longueur, d'environ 4 cm de diamètre. Elle est entièrement glabre. La présence de crochets ligneux unilatéraux est à noter. Les feuilles sont subsessiles.

Les inflorescences sont des cymes dichotomiques. Elles sont dépourvues de crochets. Les axes florifères portent 2 à 7 fleurs.

(*) Manuscrit reçu le 29 octobre 1970.

O. R. S. T. O. M.
Collection de Référence
n° 21658
B exp

Les sépales sont très légèrement soudés entre eux à la base. Les pétales sont libres, étroitement imbriqués ou tordus au centre de la fleur en une couronne dressée, au sommet de laquelle on voit les anthères et les stigmates très tardivement étalés.

Les fruits soudés au réceptacle et au calice forment un faux fruit obconique renfermant une graine blanche.

DESCRIPTION DES ÉCHANTILLONS ÉTUDIÉS.

1) *Racines.*

Les racines, dont nous avons étudié les écorces, sont des fragments sinueux de 10 à 15 cm de long et de 0,2 à 1 cm de diamètre.

La surface externe noirâtre est lisse, mais présente cependant quelques fissures transversales, irrégulières et ne faisant pas toute la circonférence. On note par endroits la présence de cicatrices de racines secondaires. L'odeur rappelle celle de la réglisse, la saveur est légèrement astringente.

2) *Tiges.*

Nous n'avons eu que les écorces de tiges. Ce sont des fragments de 5 à 10 cm de long, de 1 cm de large et de 0,3 cm d'épaisseur. La surface extérieure noire est rugueuse, car fissurée superficiellement longitudinalement et présentant de nombreux petits mamelons. La surface intérieure est chamois et lisse. La cassure est facile. L'odeur est terreuse.

POSITION TAXONOMIQUE DES ANCISTROCLADACÉES.

La position taxonomique des Ancistrocladacées est malaisée à préciser. En 1903 déjà Van TIEGHEM signalait les places diverses successivement accordées à cette famille. Classé tout d'abord dans les Malpighiacées, puis placé parmi les genres douteux à la suite des Combrétacées, le genre *Ancistrocladus* fut regardé par G. PLANCHON puis par A. de CANDOLLE comme le type d'une famille nouvelle que, par suite de l'accrescence en aile des sépales autour du fruit, ces deux auteurs rapprochèrent des Diptérocarpacées. En 1867, BENTHAM et HOOKER [7] suivis par OLIVER [8] 1868, DYER (1872), et BAILLON (1873) incorporèrent ce genre aux Diptérocarpacées ; cependant OLIVER émet quelques restrictions et pense que le genre pouvait être rapproché de par ses affinités, des Combrétacées ; en 1903 Van TIEGHEM reprend cette idée.

Au contraire, ENGLER [1] et WETTSTEIN [3] placent les Ancistrocladacées à la fin des Pariétales au sein d'un sous-ordre spécial les Ancistrocladineae, caractérisé par le gynécée uniloculaire inclus et soudé à l'axe floral, par l'unique ovule basilaire et l'albumen amylicé fortement ruminé.

Pour HUTCHINSON [3] c'est une erreur d'ENGLER de placer les Ancistrocladacées près des Bégoniacées et le dernier Syllabus (1964) place cette famille à la fin des Guttiférales.

Les Ancistrocladacées constituent en réalité une famille très particulière, présentant des affinités multiples mais dont la position taxonomique

est incertaine et discutable. Peut-être la connaissance de la composition chimique de ces plantes permettra-t-elle de résoudre ce problème ?

B. — ETUDE CHIMIQUE

La chimie des Ancistrocladacées n'a fait l'objet que de peu de travaux, malgré la présence d'alcaloïde signalée dès 1899 par W. G. BOORSMA dans *Ancistrocladus vahlii*, comme le fait remarquer HEGNAUER [2] *.

Nous avons étudié les écorces de tiges et de racines.

L'extraction des alcaloïdes est menée de façon classique : extraction par le benzène, après alcalinisation par l'ammoniaque et purification par passage à l'état d'acétate. Le rendement en alcaloïdes totaux est de 4,1 p. 100 pour les écorces de tiges et de 5,5 p. 100 pour les écorces de racines.

L'étude en chromatographie couche mince permet de noter la présence de quatre alcaloïdes principaux dont l'un est nettement prépondérant.

Par chromatographie sur colonne d'alumine, on obtient successivement, par élution au benzène et au benzène-éther 1 p. 100, un premier alcaloïde qui paraît nouveau et que nous avons appelé *ancistrocladonine*, puis par élution au benzène-éther 5 p. 100, un deuxième alcaloïde, qui est l'alcaloïde principal, pour lequel nous proposons le nom d'*ancistroea-lensine*.

Les autres bases n'ont pas encore été isolées à l'état pur.

1) ANCISTROCLADONINE.

L'ancistrocladonine est un alcaloïde monobasique de formule brute $C_{20}H_{25}O_4N$ (PM 419), qui ne cristallise pas à l'état de base dans les solvants usuels ; un seul sel a été obtenu à l'état cristallisé : le perchlorate.

L'ancistrocladonine représente environ 6 p. 100 en poids des alcaloïdes totaux.

Le spectre de masse confirme la formule brute.

Le spectre U. V. présente des maximums à 235 nm ($\log \epsilon = 4,82$) et 305 nm ($\log \epsilon = 4,33$), absorption caractéristique du 1,8 dihydroxy-naphtalène.

Le spectre I. R. (fig. n° 1) ne présente pas de groupements C = O visibles.

Le spectre R. M. N. (fig. 2) permet de caractériser la présence de quatre méthoxy (signaux à δ p. p. m. 3,58 — 3,86 — 3,92 — 3,95) et de 5 protons benzéniques.

(*) Au cours de la rédaction de cet article nous avons eu connaissance d'un article récent de GOVINDACHARI et PARTHASARATHY sur *Ancistrocladus heyneanus* [Indian J. chem. 8, juin 1970, p. 567] qui ont isolé de cette plante un nouvel alcaloïde isoquinoléique en $C_{20}H_{25}O_4N$, dénommé ancistrocladine.

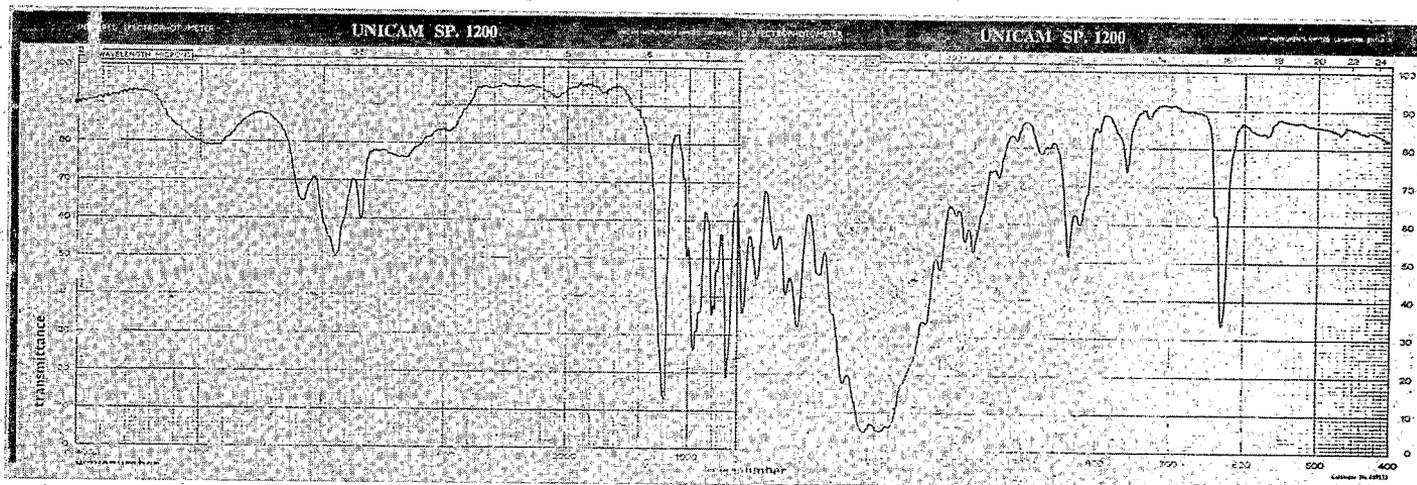


FIG. 1. — Spectre IR de l'ancistrocladone.

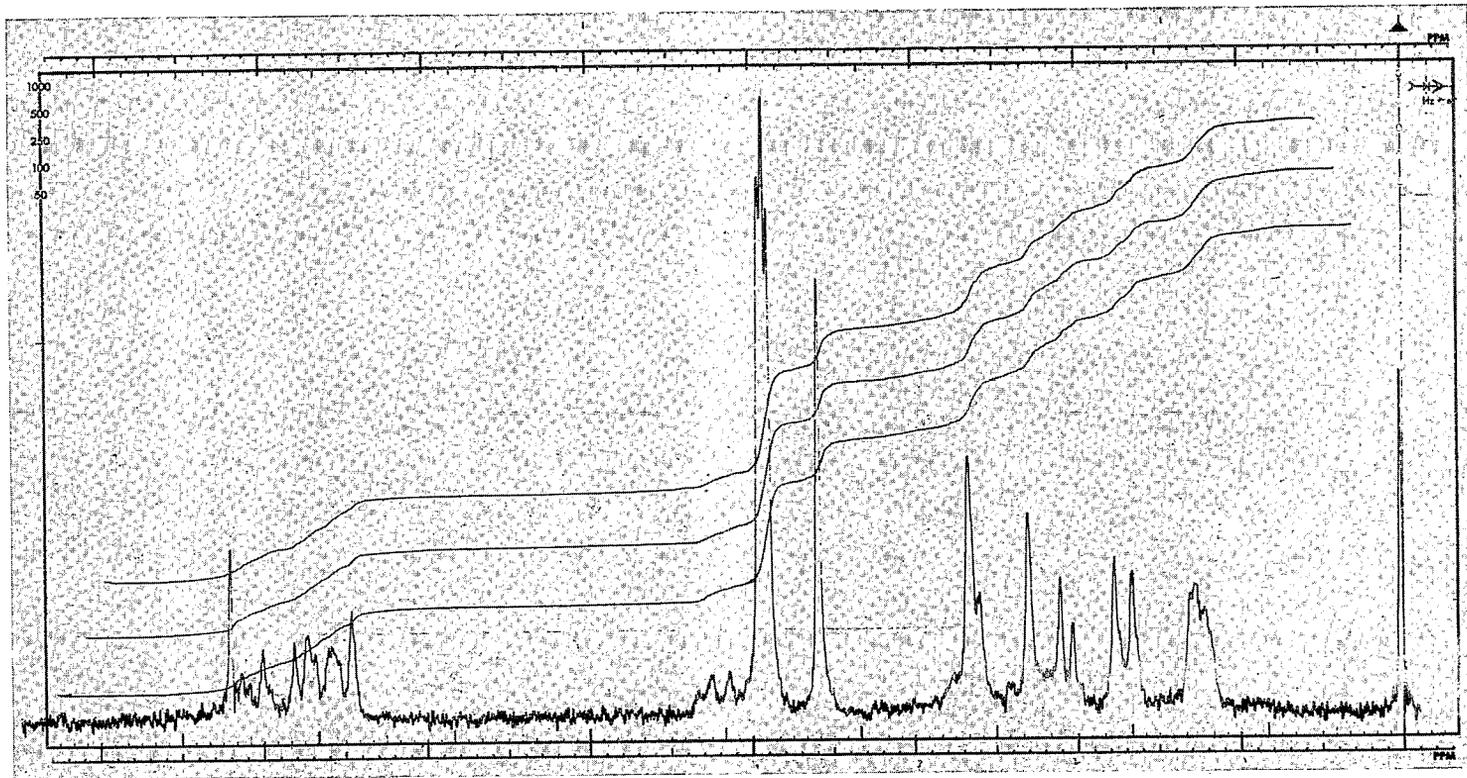


FIG. 2. — Spectre RMN de l'ancistrocladonine.

Le perchlorate d'ancistrocladonine a été préparé de même que l'iodométhylate.

L'acétylation dans les conditions habituelles (pyridine en milieu acétique) n'a pas donné de dérivé acétylé (pas d'augmentation de la masse moléculaire).

2) ANCISTROEALENSINE.

L'ancistroealensine est un alcaloïde monobasique de formule brute $C_{20}H_{20}O_4N$ (PM 419), qui ne cristallise pas à l'état de base dans les solvants usuels ; un seul sel cristallise : le perchlorate.

L'ancistroealensine représente 40 à 50 p. 100 des alcaloïdes totaux.

Le spectre de masse confirme la formule brute.

Les spectres U. V., I. R. et R. M. N. sont très proches de ceux de l'ancistrocladonine.

Le perchlorate d'ancistroealensine a été préparé de même que l'iodométhylate.

L'acétylation dans les conditions habituelles (pyridine en milieu acétique) donne naissance à l'acétylancistroealensine (PM 461).

Nous avons vu que la position taxinomique des Ancistrocladacées était incertaine.

L'étude chimique révèle la présence d'alcaloïdes. Or, aucune des familles dont on a rapproché les Ancistrocladacées ne renferment des alcaloïdes, sauf les Malpighiacées [2].

C. — PARTIE EXPÉRIMENTALE

— Les points de fusion ont été pris en tube capillaire.

— Les pouvoirs rotatoires, à l'aide d'un polarimètre électronique ZEISS à 578 nm, dans le méthanol.

— Les spectres U. V. ont été déterminés en solution dans l'éthanol à 96° pour spectrographie, à l'aide d'un spectrophotomètre UNICAM SP 800.

— Les spectres I. R. ont été effectués dans le tétrachlorure de carbone ou le bromure de potassium à l'aide d'un appareil UNICAM SP 1200 ou un INFRACORD PERKIN ELMER.

— Les spectres de Résonance magnétique nucléaire ont été mesurés par un appareil VARIAN A 60 en solution dans le $CDCl_3$. Les déplacements chimiques sont exprimés δ p. p. m., le tétraméthylsilane étant pris comme référence : δ p. p. m. = 0.

— Les spectres de masse ont été tracés à l'aide d'un spectromètre MSQ.

— Les microanalyses ont été effectuées par le laboratoire de microanalyse du C. N. R. S.

— Les chromatographies en couche mince ont été effectuées sur plaque de Kieselgel G MERCK préparé en milieu alcalin (avec une solution à 5 p. 100 de soude).

EXTRACTION DES ALCALOÏDES.

1) *Ecorces de tiges.*

500 g d'écorces sont pulvérisés grossièrement, puis alcalinisés par 200 ml d'ammoniaque diluée au demi. L'extraction est faite dans un SOXHLET par le benzène. La solution après concentration sous vide à 300 ml est extraite par l'eau acétique à 10 p. 100 jusqu'à ce que la réaction au réactif de MAYER soit négative.

La phase acétique est elle-même extraite par le chlorure de méthylène après alcalinisation par l'ammoniaque. Les phases organiques lavées à l'eau, séchées sur sulfate de sodium anhydre et distillées laissent un résidu de 20,5 g, soit un rendement de 4,1 p. 100.

2) *Ecorces de racines.*

500 grammes d'écorces sont pulvérisés grossièrement, puis alcalinisés par 200 ml d'ammoniaque diluée au demi. L'extraction est faite par le benzène dans un appareil type SOXHLET. La solution après concentration sous vide à 300 ml est extraite par l'eau acétique à 10 p. 100 jusqu'à réaction négative au réactif de MAYER. La phase acétique est elle-même épuisée par le chlorure de méthylène, après alcalinisation par l'ammoniaque. Les phases organiques lavées à l'eau, séchées sur sulfate de sodium anhydre et distillées laissent un résidu de 27,5 g, soit un rendement de 5,5 p. 100.

CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE.

15 g d'alcaloïdes totaux sont chromatographiés sur 750 g d'alumine II-III Merck.

Eluant	Fractions	Volume en ml par fraction	Poids en g résidu sec	C. C. M. solvant (chloroforme 98-méthanol-2, ammoniaque 0,25 v/v) rév. n° 1 Dragendorff
Benzène.....	1-14	250	0,146	non alcaloïdique
Benzène.....	15-18	250	0,096	1 tache Rf 0,60
Benzène-éther 1 %	19-23	250	0,417	1 tache Rf 0,60
Benzène-éther 5 %	24-29	250	1,007	2 taches Rf 0,60-0,45
Benzène-éther 5 %	30-35	250	1,082	2 taches Rf 0,60-0,45
Benzène-éther 5 %	36-59	250	2,452	1 tache Rf 0,45
Benzène-éther 50 %	60	1.000.	6,00	plusieurs taches dont une de Rf 0,45
Méthanol.....	61-62	2.000	2,50	d°

L'ANCISTROCLADONINE.

Produit correspondant aux fractions 15 à 18 ; c'est un solide pulvérulent, blanc, jaunissant à la lumière.

— F 82° C, spectre U. V., λ max en nm (log ϵ) : 235 (4,82), 290 (4,25), 305 (4,33), 320 (4,24), 335 (4,14).

— Spectre I. R. (dans KBr) : bandes à cm^{-1} 840, 1100, 1600, 2950, 3080.

— Spectre de masse :

Pics à m/e : 419 (M^+) ; 210.

— Perchlorate d'ancistrocladonine.

A 100 mg d'ancistrocladonine dissous dans une quantité suffisante de méthanol, on ajoute goutte à goutte une solution d'acide perchlorique N jusqu'à pH acide. Après 12 heures à $+ 4^\circ \text{C}$, il se forme des cristaux qui sont recristallisés dans le méthanol.

• F. 256 — 258°C .

• $\left[\alpha \right]_{578}^{20^\circ} = + 20^\circ$ ($c = 10\%$ dans le méthanol).

• Analyse élémentaire : pour $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_4\text{N}$, HClO_4 .

	<u>C</u>	<u>H</u>	<u>O</u>	<u>N</u>	<u>Cl</u>
calculé %	60,05	5,82	24,62	2,69	6,82
trouvé %	60,32	6,25	24,14	2,62	7,07

— Iodométhylate d'ancistrocladonine.

A 100 mg d'ancistrocladonine dissous dans l'acétone, on ajoute 4 gouttes d'iodure de méthyle, on chauffe au bain-marie à 30°C pendant 5 minutes avec un réfrigérant à air. On laisse le mélange 4 heures à la température du laboratoire, puis on le porte pendant 2 heures à $+ 4^\circ \text{C}$. L'iodométhylate précipite sous forme de gros cristaux.

— L'ANCISTROEALENSINE.

C'est le produit correspondant aux fractions 36-59 ; c'est un solide pulvérulent, blanc, jaunissant à la lumière — F. 84°C — spectre U. V. : λ max en nm (log ϵ) : 230 (4,77), 305 (4,17), 318 (4,10), 336 (3,94).

— Spectre I. R. dans le tétrachlorure de carbone :

Bandes à cm^{-1} 1090-1210-1320-1370-1470-2600-3430.

— Spectre R. M. N. :

4 méthoxy (signaux à δ p. p. m. 3,58-3,86-3,92-3,95) et 5 protons benzéniques (signaux entre δ p. p. m. 6,30-7,20).

— Spectre de masse :

Pics à m/e 419 (M^+), 202, 203, 406.

— Perchlorate d'ancistroealensine.

A 100 mg d'ancistroealensine dissous dans une quantité suffisante de méthanol, on ajoute goutte à goutte une solution d'acide perchlorique M jusqu'à pH acide. Après 12 heures à 4°C , il se forme des cristaux qui sont recristallisés dans le méthanol.

• F. = 132 — 135° .

• $\left[\alpha \right]_{578}^{20^\circ} = - 9^\circ$.

• Analyse élémentaire : pour $C_{26}H_{29}O_4N$, $HClO_4$.

	C	H	O	N	Cl
calculé %	60,05	5,82	24,62	2,69	6,82
trouvé %	57,68	5,65	25,60	2,13	8,49

— Iodométhylate d'ancistroealensine.

A 400 mg d'ancistroealensine solubilisés dans l'acétone, on ajoute XX gouttes d'iodure de méthyle. On chauffe au bain-marie à 30° pendant 5 mn avec réfrigérant à air. On laisse le mélange à la température du laboratoire pendant 4 h puis on porte à + 4° C pendant 12 h. L'iodométhylate précipite sous forme de fins cristaux.

— Acétylancistroealensine.

825 mg d'ancistroealensine sont mis en contact avec 10 ml de pyridine et 10 ml d'anhydride acétique et laissés 48 h. à la température du laboratoire. Après reprise par un mélange à parties égales de méthanol-chloroforme, puis évaporation, nous obtenons un résidu de 1,035 g. Ce résidu est chromatographié sur couche mince par un mélange contenant 97,5 % de chlorure de méthylène et 2,5 % de méthanol. On observe après révélation deux taches de Rf 0,60 et 0,20.

Le dérivé acétylé est séparé du dérivé non acétylé par chromatographie sur colonne de silice Merck (70-325 mesh). L'élution est faite par fractions de 10 ml par le benzène, le chlorure de méthylène, le méthanol et intermédiairement par les mélanges de ces solvants dans des proportions croissantes. L'acétylancistroealensine est éluee par le mélange chlorure de méthylène 98 %, méthanol 2 %.

L'acétylancistroealensine est un solide, résineux, incolore, jaunissant à la lumière.

F. 102-104° C. Spectre U. V. : λ max en nm (log ϵ), 230 (4,88), 270 (4,14), 305 (4,24), 320 (4,04), 336 (3,87).

Spectre de masse : Pics à m/e = 461 (M^+), 446, 419, 405, 85, 58.

Les spectres I. R. et R. M. N. confirment la fixation d'un groupement CH_3-CO .

EN RÉSUMÉ, dans les écorces de racines et de tiges d'*Ancistrocladus ealaensis* ont pu être caractérisés quatre alcaloïdes. Deux d'entre eux ont été isolés à l'état pur et paraissent être des substances nouvelles : l'ancistrocladonine en $C_{26}H_{29}O_4N$ et l'ancistroealensine en $C_{26}H_{29}O_4N$.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] GILG (E.). — *Ancistrocladaceae* in ENGLER (A.) et PRANTL (K.). — *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, 2^e éd., 21, p. 589. Engelmann éd., Leipzig., 1925.
- [2] HEGNAUER (R.). — *Chemotaxonomie der Pflanzen.*, V, p. 24 et 115. Birkhauser éd., Bâle, 1964.
- [3] HUTCHINSON (J.). — *Evolution and phylogeny of flowering plants.* Academic Press, London, 1969.
- [4] LEONARD (J.). — *Bull. Soc. Bot. Belg.*, 1949-1950, 82, p. 27-40.